

ODSカラムの耐久性 ～pHによる劣化のメカニズム

近年のODS(C18)カラムは耐久性が高くなり使いやすくなりました。使用可能なpH範囲は、ODS基とエンドキャッピング基の結合状態に依存します。ここではエンドキャッピング法の異なる **L-column2 ODS** と **L-column ODS**、各メーカーのカラムでpHによるカラム劣化の度合いを比較しました。

酸性移動相での耐久性

酸性移動相では、加水分解によりODS基やエンドキャッピング基が外れやすくなります。ODS基が外れれば保持時間は減少し、エンドキャッピング基が外れれば吸着しやすい塩基性化合物のピークはテーリングし理論段数が低下します。分析温度が高いとカラム劣化は促進され、耐久性の差が顕著にあらわれます。ここではpH1以下、90°Cで加速耐久性試験にてカラムを比較しました (Table 1)。

Table 1 比較カラム一覧

カラム名	C%	エンドキャッピングの方法
L-column2 ODS	17%	新規エンドキャッピング
L-column ODS	17%	高温気相エンドキャッピング
Brand D-1	15%	高エンドキャッピング
Brand F-2	15%	※
Brand H-1	※	フルエンドキャップ

※カタログに記載なし

中性化合物はODS基が減少することで、保持時間が減少していきます。さらに劣化が進むと分離能が低下します (Fig.1, Fig.2)。

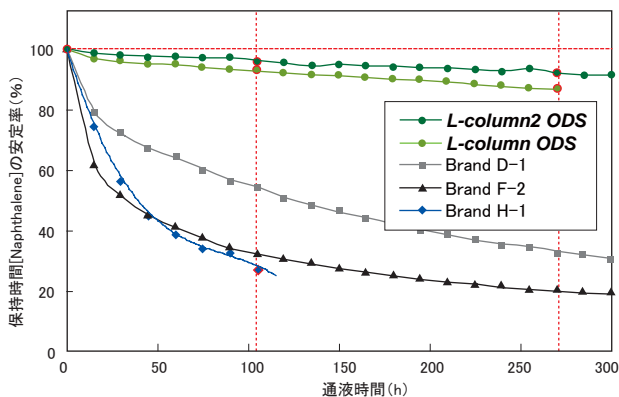
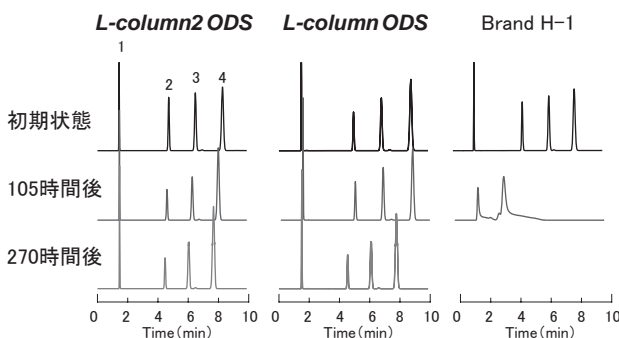


Fig.1 中性化合物の保持時間の安定率



[Analytical conditions]
Column: 4.6 × 150 mm (C18, 5 μm)
Mobile phase: CH₃CN/H₂O (60/40)
Flow rate: 1 mL/min Temp: 40°C Detection: UV 254 nm
Sample: 1. Uracyl 2. Benzene 3. Toluene 4. Naphthalene

Fig.2 中性化合物の保持挙動とピーク形状の変化

塩基性化合物は、エンドキャッピング基が外れてシラノール基が生成することで、シラノール基との吸着が大きくなりピークはテーリングし理論段数の低下が起こります (Fig.3, Fig.4)。

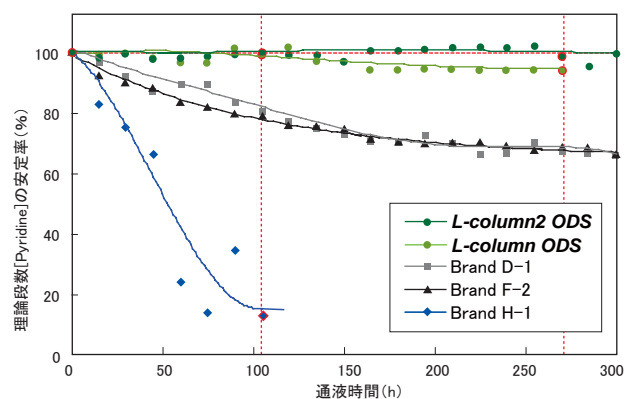
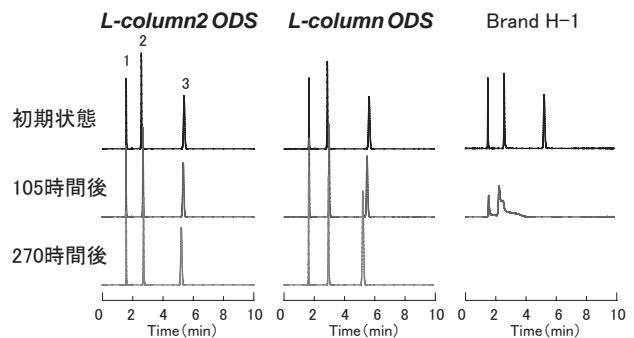


Fig.3 塩基性化合物の理論段数の安定率



[Analytical conditions]
Column: 4.6 × 150 mm (C18, 5 μm)
Mobile phase: CH₃CN/25 mM Phosphate buffer pH7 (30/70)
Flow rate: 1 mL/min Temp: 40°C Detection: UV 254 nm
Sample: 1. Uracyl 2. Pyridine 3. Phenol

Fig.4 塩基性化合物の保持挙動とピーク形状の変化

これは各メーカーによる製造方法により、ODS基とエンドキャッピング基の被覆密度と結合強度の差によって生じます。

酸性移動相は、解離性化合物の分析によく使用されるので、高耐久性のカラムを選択することが再現性よくデータを得るポイントとなります。

[Durability test conditions (Fig.1, Fig.2, Fig.3, Fig.4)]
Column: 4.6 × 150 mm (C18, 5 μm)
Mobile phase: 2% TFA in CH₃OH/2% TFA in H₂O (10/90)
Flow rate: 1 mL/min Temp: 90°C

塩基性移動相での耐久性

ODSカラムの基材であるシリカゲルはアルカリ性移動相で溶解するので、**L-column2 ODS** 及び **L-column ODS** では、これを抑制するために、シリカゲル表面の修飾密度を高くして、シリカゲル表面を被覆しています。
pH10、50°Cの加速耐久性試験においてカラムを比較すると、その差はあきらかです。

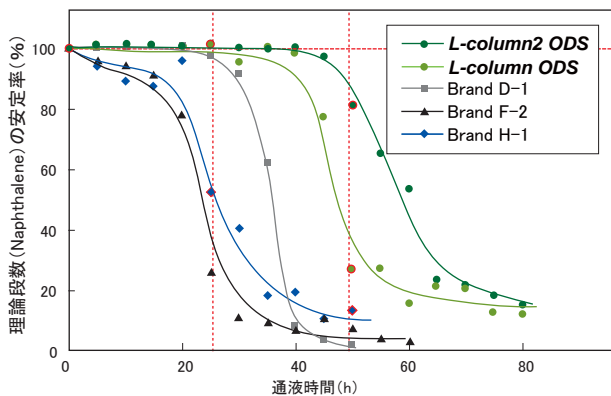
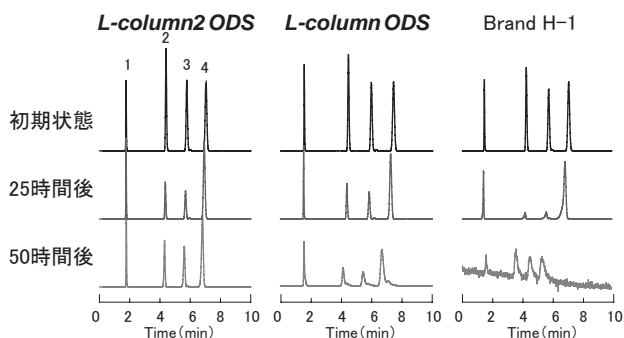


Fig.5 中性化合物の理論段数の変化



[Analytical conditions]
Column: 4.6 × 150 mm (C18, 5 μm)
Mobile phase: CH₃CN/H₂O (60/40)
Flow rate: 1 mL/min Temp: 40°C Detection: UV 254 nm
Sample: 1. Uracil 2. Benzene 3. Toluene 4. Naphthalene

Fig.6 中性化合物の保持挙動とピーク形状の変化

アルカリ性移動相では、基材シリカゲルの溶解が促進されるので、性能低下は急激にあらわれます (Fig.5)。シリカゲルが溶解すると、カラム先端に隙間ができ、(このような現象をトップオフといいます)ピークはリーディングするか、ピーク割れしてしまいます (Fig.6)。

またシリカゲルの溶解に伴う修飾基の離脱により保持時間が減少します (Fig.7)。

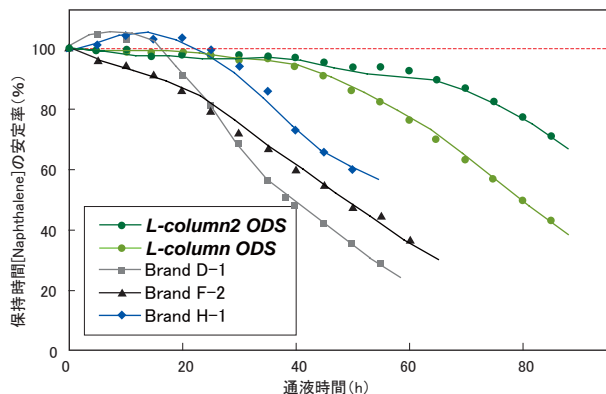


Fig.7 中性化合物の保持時間の変化

アルカリ性移動相では修飾基の結合密度で耐久性に差が生じ、それは酸性移動相より顕著にあらわれます。酸性では **L-column ODS** と **L-column2 ODS** はほぼ同等の耐久性でしたが、アルカリ性移動相ではシリカゲル表面をほぼ完全に被覆する新規エンドキャッピング法の効果により、**L-column2 ODS** が抜群の耐久性を有します。

[Durability test conditions (Fig.5, Fig.6, Fig.7)]
Column: 4.6 × 150 mm (C18, 5 μm)
Mobile phase: 50 mM TEA in CH₃OH/50 mM TEA in H₂O (10/90)
Flow rate: 1 mL/min Temp: 50°C

「カラム劣化」と言っても様々な原因によって生じます。使用方法や試料由来の劣化は、条件を検討すれば劣化を抑制することができますが、修飾基が離脱すること及びシリカゲルの溶解による劣化の速さは、充填剤の合成方法により異なります。

広いpH範囲で耐久性のあるカラムは、分析メソッドを開発する際にも経済的にも非常に有利なカラムです。高耐久性はカラムの選択における重要なファクターといえます。

リーフレット内容に関するお問い合わせは、最寄の代理店又は東京事業所クロマト技術部までご連絡ください

CERI 一般財団法人 化学物質評価研究機構
Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan
<http://www.cerij.or.jp>



東京事業所 クロマト技術部
e-mail chromato@cerij.jp

TEL 0480-37-2601 FAX 0480-37-2521
〒345-0043 埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野1600番地