

HPLC 逆相系充填剤から 水が抜ける



竹内 豊英

はじめに

オクタデシル基がシリカゲル担体に化学結合したいわゆる ODS (または C18) の登場により、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の分離性能は格段に改善されたといっても過言ではないであろう。移動相を工夫すれば、ODS を固定相として用いることにより、イオン性物質から無極性有機化合物まで広範囲にわたる試料成分を分析対象とすることができる。しかし、このような多才な ODS にも、残念ながら欠点があることが指摘されてきた。有機溶媒の濃度が低い水系移動相を用いると、試料成分の保持時間が安定しないという点である。これまで、これは化学結合している ODS 基が寝込むからだと言われてきた。ところが、どうもそうではないということが明らかになってきた。充填剤の細孔から移動相が抜けるというらしい。

水系移動相を用いるときの問題点

逆相 HPLC において、有機溶媒をまったく含まない移動相や数%程度含む移動相を用いると、試料成分の保持時間が測定とともに減少していくことがよく観察される。例えば、平均細孔径 10.4 nm の ODS 充填剤を用いて 40℃ で水を移動相として連続送液しながらチミンの保持時間を調べてみると、送液後 1 時間後から 19 時間後にかけて 16% 減少し、72 時間連続送液後、しばらく送液を停止して再び測定するとさらに 58% の保持の減少が観察されている¹⁾。これらの問題点は、ODS に限らず、アルキル鎖長の短い充填剤、例えばトリメチルシリル基を化学結合した充填剤についても観察され、結合相が寝込むということだけでは納得のいく説明ができないことになる。

確かに水が抜ける

アセトニトリル/水 (70 : 30) 移動相を ODS カラム (150 × 4.6 mm) に送液し、充分平衡になった後、10 mM のリン酸ナトリウム水溶液 (pH 7.0) を 1 時間送液した。その後、送液用ポンプを止め、圧力が大気圧になった後直ちに密栓をして重量を測定したところ、62.3 g であった²⁾。次に、乾燥しないよ

うに注意し、大気圧下で 10 時間放置後に重量を測定すると 61.8 g となり、0.5 g の重量減少が観察された。これは、開放後に移動相が抜けたためである。150 × 4.6 mm の管の内容積は 2.5 mL であり、これほどの水がいったどこから抜けたのであろうか。

充填剤の細孔から水が抜ける

多孔体の孔径を測定する手段として水銀圧入法がある。この測定原理は、多孔体に対して非反応性でかつ濡れない液体が細孔に浸透する際に必要な圧力 (p) が孔径 (r) に反比例することに基づいている。式で示すと次のようになる。

$$Pr = -2\gamma \cos \theta \dots\dots\dots (1)$$

ここで、 γ は水銀の表面張力、 θ は固体表面と水銀間の接触角である。シリカゲルの場合、接触角は 90 度より大きいので、圧力をかけないと水銀は細孔に入らないことになる。言い換えれば、圧力を下げると水銀が細孔から抜けることになる。ODS が化学結合したシリカゲル表面は疎水性であり、水に対して接触角が 90 度を超えることになる。すなわち、圧力がかけられていないと孔から水が抜けてしまうことになる。そのイメージを図 1 に示す³⁾。ODS の細孔体積は、0.6~0.8 mL/g 程度であり、上記 0.5 g の重量減少が細孔から抜け出したことによるとしても矛盾は生じない。

充填剤の改良による解決

これまで、逆相 HPLC において水組成の高い移動相を用いた際に観察される保持時間の変化を極力抑えるために、種々改良がなされてきた。これらをまとめると以下のようになる。

- (1) アミド基やカルバメート基などの極性部位が近接するアルキル基を化学結合する。
- (2) 極性基によるエンドキャッピング。
- (3) アルキル基の結合密度を下げる。

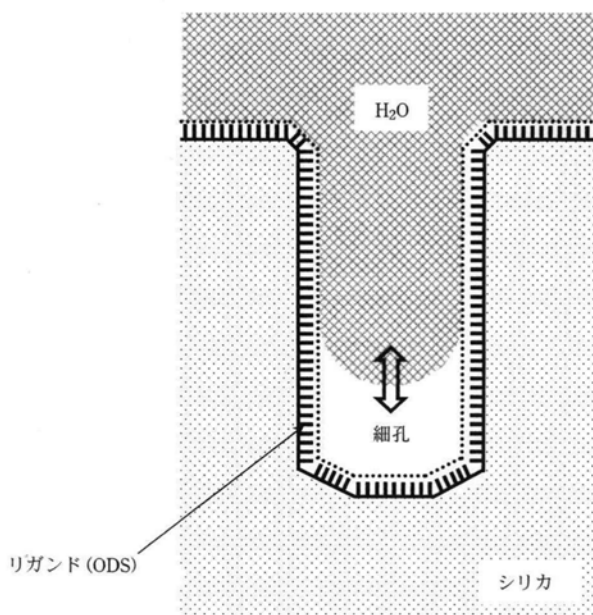


図 1 ODS 充填剤細孔から水が抜けるイメージ

(4) 長鎖アルキル基 (C30 など) の結合。

(5) 孔径の大きな (20 nm 以上) シリカゲルの利用。

これらの解決策は、いずれも充填剤表面の極性を高める作用があり、その結果、細孔から水が抜けにくくなっていると考えても良さそうである。

背圧をかけることによる解決

式(1)は、圧力をかければ水を ODS 充填剤細孔に導入できることを意味している。すなわち、いったん細孔から移動相が抜けたとしても改めて圧力をかければ水組成の高い移動相を細孔に導入できることになる。例えば、カラム出口に抵抗管を取り付け 30 MPa 程度の背圧をかけることにより保持時間を回復することができることが示されている⁴⁾。これは、ほんの数秒かけるだけで充分であり、いったん細孔が移動相により満たされれば、5 MPa 程度の背圧を常時カラム出口にかけることにより保持時間が安定するという。

まとめ

逆相 HPLC における水組成の高い移動相を用いたときの保持時間の不安定な現象は、充填剤細孔から移動相が抜け出ることにより有効な固定相量が減少することに基づいていることが

明らかになりつつある。移動相は、カラム下流側から徐々に抜け出していくことが考えられ、これを簡便に回復するにはカラム出口側に背圧をかけることにより達成できる。計算化学的にも移動相が水の場合は、ODS 基に水が接近しにくいことが示されている⁵⁾。

文 献

- 1) 長江徳和, 榎並敏行: 分析化学, **49**, 887 (2000).
- 2) 長江徳和, 榎並敏行: *Chromatography*, **22**, 33 (2001).
- 3) N. Nagae, T. Enami, S. Doshi: *LC GC N. Am.*, **20**, 964 (2002).
- 4) T. Enami, N. Nagae: *Amer. Lab.*, in press.
- 5) K. Ban, Y. Saito, K. Jinno: *Anal. Sci.*, **20**, 1403 (2004).



竹内豊英 (Toyohide TAKEUCHI)

岐阜大学工学部応用化学科 (〒501-1193 岐阜市柳戸 1-1)。名古屋大学大学院工学研究科博士課程前期課程修了。工学博士 (名古屋大学)。<現在の研究テーマ>液体クロマトグラフィーの高性能化。<趣味>スポーツ。

E-mail: takeuchi@apchem.gifu-u.ac.jp

新刊紹介

第3版 明日の環境と人間

——地球をまもる科学の知恵——

川合真一郎・山本義和 著

本書の初版は1993年に発刊され、現在、文系・理系の学部を含めて40数大学において、環境化学関連の講義のテキストとして使われているという。1. 人間と環境, 2. 地球規模の環境問題, 3. 国内の環境問題, 4. 環境中における汚染物質の運命, 5. 環境汚染物質の生体への影響, 6. 環境保全, 参考図書から構成されている。「まえがき」によれば、著者はこの本を執筆するに当たって、「環境問題の全体像を探りつつ、具体的なデータを重視して環境問題の現状を自然科学のみならず社会科学的な視点を取り入れて理解し、この地球上で人類がその知恵を十分に生かして進むべき道を冷静に探求する」ことを目的としたという。実際、本書は地域公害から地球規模の環境問題まで、その全体を概観する本として適しているが、後半の有機汚染物質の生体 (魚類から人間まで) への影響が非常に詳しく書かれていて、環境中の有機汚染に著者の関心が高いことがうかがわれる。これも、著者のお二人が水産学科の出身であることからうなずける。著者自身による研究成果を含めて、用いられているデータや参考図書に最近のものが多く、環境問題に関

心がある者としては、手元において置きたい一冊である。

(ISBN 4-7598-0967-8・A5判・270ページ・2,400円+税・
2004年刊・化学同人)

実用的な英語科学論文の作成法

河本 修・Chester Alexander, Jr. 著

本書は、若い研究者が英語論文を作成する上で手助けになるように、応用物理の論文誌からピックアップした約1500の例文を載せている。これらの例文に対して、約900の見出しの語または語句の索引が付けられている。引用された例文は材料科学関連のものが多く、当該分野の用語を分析化学の専門用語に置き換えるだけで、かなりの内容を英語で表現できるのではないと思われる。本書の最大の特徴は、例文が緒言、理論、実験法、結果、考察、終章というように、論文の各セクションで使用する表現が本書の各章に分類されて収載されていることである。確かに、セクションごとに使用する表現はおおよそ決まっており、入れ替わることは珍しい。利用者は目次を利用して、ほしい例文をすぐに見つけることができるであろう。ただ、利用者にとって、複数の言葉から目的とする表現にふさわしい言葉を選ぶことは、かなり慣れてこないといわずかしい。その意味では、同義語・類義語の共通性、微妙な意味の違いについても触れてもらおうと、さらに頼れる一冊になるであろう。周りに英語論文作成で頭を悩ませている者がいるので、さっそく奨めることにする。

(ISBN 4-254-10193-7・A5判・255ページ・3,800円+税・
2004年刊・朝倉書店)