

## MaxPeak HPS テクノロジーを採用した MaxPeak Premier カラムと PEEK 被覆カラム ハードウェアの比較

---

Maureen DeLoffi

Waters Corporation

本書はアプリケーションブリーフであり、詳細な実験方法のセクションは含まれていません。

---

### 要約

陰イオン性または電子が豊富な分析種は、液体クロマトグラフィー（LC）分析において、ステンレススチールなどの電子不足の金属表面への吸着による分析種の損失により、不良なピーク形状やシグナル強度の低下を示すことがよくあります<sup>1</sup>。最近では、分析種の損失を防ぐために PEEK（ポリエーテルエーテルケトン）製の代替のカラムハードウェアや PEEK 被覆のステンレススチール製カラムが使用されています。ただし、PEEK 材質を使用するカラムでは、従来のステンレススチール製ハードウェアよりもプレート効率が低く、カラム間のばらつきが大きいなど、その他の望ましくない問題もたらされる場合があります。

MaxPeak Premier クラスのカラムは、MaxPeak High Performance Surfaces（HPS）ハードウェアを備えているため、金属に吸着しやすい分析種の分析をより容易に行うことができます。MaxPeak High Performance Surfaces は、金属と分析種間の相互作用や非特異的吸着に関連するサンプル損失を低減する効果的なバリアとして機能します。

このアプリケーションブリーフでは、MaxPeak HPS カラムハードウェアと、2つの異なるベンダーの PEEK 被覆のステンレススチール製ハードウェアを比較しました。質の高い分離を行う上で、PEEK 被覆のステンレススチール製ハードウェアと比較した場合の MaxPeak HPS カラムハードウェアの利点について紹介します。

### アプリケーションのメリット

---

- より優れたカラム効率
- ピーク形状の改善
- カラムの背圧の低減
- より一貫したカラム間の再現性
- 優れた分析種の回収率

---

## はじめに

金属表面への分析種の吸着は、クロマトグラフィーにおける長年にわたる課題となっています。従来、その緩和策として、表面の不動態化処理、移動相添加剤の使用、不活性ハードウェア材料の採用などが行われてきました。このようなアプローチは、ある程度は成功していますが、欠点があります。強酸による表面の不動態化処理や、サンプルおよび/またはマトリックスでのコンディショニングはいずれも時間がかかる上に、強酸を使用する必要があるため、カラムの寿命に悪影響を及ぼします<sup>2</sup>。キレート化剤などの移動相添加剤は、分析種の金属への吸着を防げますが、イオン化抑制などの欠点や溶解性の問題があります。また、有効性を保つためには、一貫して使用する必要があります<sup>3</sup>。

従来のステンレススチール製カラムより生体不活性が優れた代替品として、現在ではチタン製ハードウェアを採用したカラムが市販されています。チタンは耐腐食性があり、一部の化合物に対しては不活性ですが、金属性により分析種の吸着やサンプルの損失を引き起こす可能性もあります<sup>4</sup>。

また、すべての金属表面を非反応性材料に置換した PEEK カラムまたは PEEK 被覆のステンレススチール製カラムも市販されています。PEEK のみでは高圧での使用に耐えられませんが、この制約は PEEK 被覆のステンレススチールを使用することで軽減できます。ただし、PEEK のその他の制約が残されたままであり、PEEK 材質はステンレススチールと比較するとサイズのばらつきが大きく、フリットの透過性が低く、一部の溶媒には適合しません。

この試験では、MaxPeak HPS ハードウェアと 2 つの異なるベンダーの PEEK 被覆のステンレススチール製ハードウェアについて、充填剤ベッドの効率とカラム間再現性の差を検討します。この比較に用いた MaxPeak High Performance Surfaces は、有機/無機ハイブリッド表面テクノロジーであり、金属表面と分析種との相互作用に対してバリアとして作用することが示されています<sup>5</sup>。いずれのタイプのハードウェアも、金属への吸着による分析種の損失を軽減するのに有効ですが、MaxPeak HPS ハードウェアには、優れた充填剤ベッドの質により、明確な利点が示されています。

---

## 結果および考察

単一のバッチの BEH C<sub>18</sub>、2.5 μm 固定相を MaxPeak HPS カラムハードウェアに充填した充填剤ベッドの効率と、同一の充填剤を 2 つの異なるベンダーの PEEK 被覆のステンレススチールハードウェアに充填したものと比較しました。充填プロセスは、この試験のすべてのカラムについて最適化しています。表 1 では、カラム効率の結果を比較します。表 1 に示した平均値から、PEEK 被覆のハードウェアは、MaxPeak HPS ハードウェアと較べて効率が 20 ~ 25% 低いことがわかります。すべてのカラムが同様に充填されているにもかかわらず、カラムの背圧は、PEEK 被覆のハードウェアの方が MaxPeak HPS ハードウェアより約 25% 高いことがわかりました。また、MaxPeak HPS ハードウェアで得られたピークの対称性が最も優れていました。

## A PEEK 被覆カラム、ベンダー A

カラムのシリアル番号	USP プレート	RPH	USP テーリング	kPrime	PSI
01912101930J01	9378	2.29	1.229	3.72	1516
01912101930J02	8127	2.64	1.256	3.73	1578
01912101930J03	9453	2.27	1.225	3.77	1597
01912101930J04	8465	2.54	1.286	3.80	1642
01912101930J05	8885	2.42	1.245	3.79	1598
<b>平均</b>	<b>8862</b>	<b>2.43</b>	<b>1.25</b>	<b>3.76</b>	<b>1586</b>
<b>標準偏差</b>	<b>573</b>	<b>0.16</b>	<b>0.02</b>	<b>0.04</b>	<b>46</b>
<b>%RSD</b>	<b>6.5</b>	<b>6.5</b>	<b>2.0</b>	<b>0.9</b>	<b>2.9</b>

## B PEEK 被覆カラム、ベンダー B

カラムのシリアル番号	USP プレート	RPH	USP テーリング	kPrime	PSI
01912102050K06	9527	2.25	1.168	3.72	1583
01912102050K07	9308	2.31	1.144	3.62	1498
01912102050K08	9713	2.21	1.152	3.68	1561
01912102050K09	8594	2.50	1.238	3.68	1589
01912102050K10	9375	2.29	1.196	3.69	1613
<b>平均</b>	<b>9303</b>	<b>2.31</b>	<b>1.18</b>	<b>3.68</b>	<b>1569</b>
<b>標準偏差</b>	<b>426</b>	<b>0.11</b>	<b>0.04</b>	<b>0.04</b>	<b>44</b>
<b>%RSD</b>	<b>4.6</b>	<b>4.8</b>	<b>3.2</b>	<b>1.0</b>	<b>2.8</b>

## C MaxPeak HPS カラム

カラムのシリアル番号	USP プレート	RPH	USP テーリング	kPrime	PSI
01912102050K01	11607	1.85	1.115	3.57	1261
01912102050K02	12215	1.76	1.066	3.59	1281
01912102050K03	12301	1.74	1.059	3.59	1268
01912102050K04	11794	1.82	1.064	3.61	1287
01912102050K05	11782	1.82	1.066	3.60	1284
<b>平均</b>	<b>11940</b>	<b>1.80</b>	<b>1.07</b>	<b>3.59</b>	<b>1276</b>
<b>標準偏差</b>	<b>301</b>	<b>0.05</b>	<b>0.02</b>	<b>0.01</b>	<b>11</b>
<b>%RSD</b>	<b>2.5</b>	<b>2.2</b>	<b>2.5</b>	<b>0.4</b>	<b>0.9</b>

表 1. (A) ベンダー A の PEEK 被覆カラム、(B) ベンダー B の PEEK 被覆カラム、(C) MaxPeak HPS カラムハード

---

ウェアに、*BEH C<sub>18</sub>*、2.5  $\mu\text{m}$  充前剤をそれぞれ充填して、75% アセトニトリル、30 °C、0.30 mL/分、254 nm UV 検出を用いて行ったオクタノフェノンのアイソクラティック分離におけるカラム効率の結果。分析は、固定ループサンプルマネージャーで構成した *ACQUITY UPLC* クロマトグラフに搭載した 2.1  $\times$  50 mm カラムを用いて行いました。

さらに、カラム間再現性を検討するために、MaxPeak HPS カラムとベンダー A および B の PEEK 被覆ハードウェアを比較しました。それぞれの種類のハードウェアについてカラムを 5 本ずつ充填しました。計 15 本のカラムは、すべて同一の充填プロセスを用いて充填し、同一の条件下で試験しました。図 1 に、それぞれの種類のハードウェアで得られたクロマトグラムを示します。3 種類のカラムでの保持時間に大きな差が見られました。PEEK 被覆ハードウェアの保持時間のばらつきが大きいのは、PEEK 材質とステンレスのサイズ許容が困難であること、および充填時の圧力下における 2 種類のハードウェアの挙動の違いが原因と考えられます。

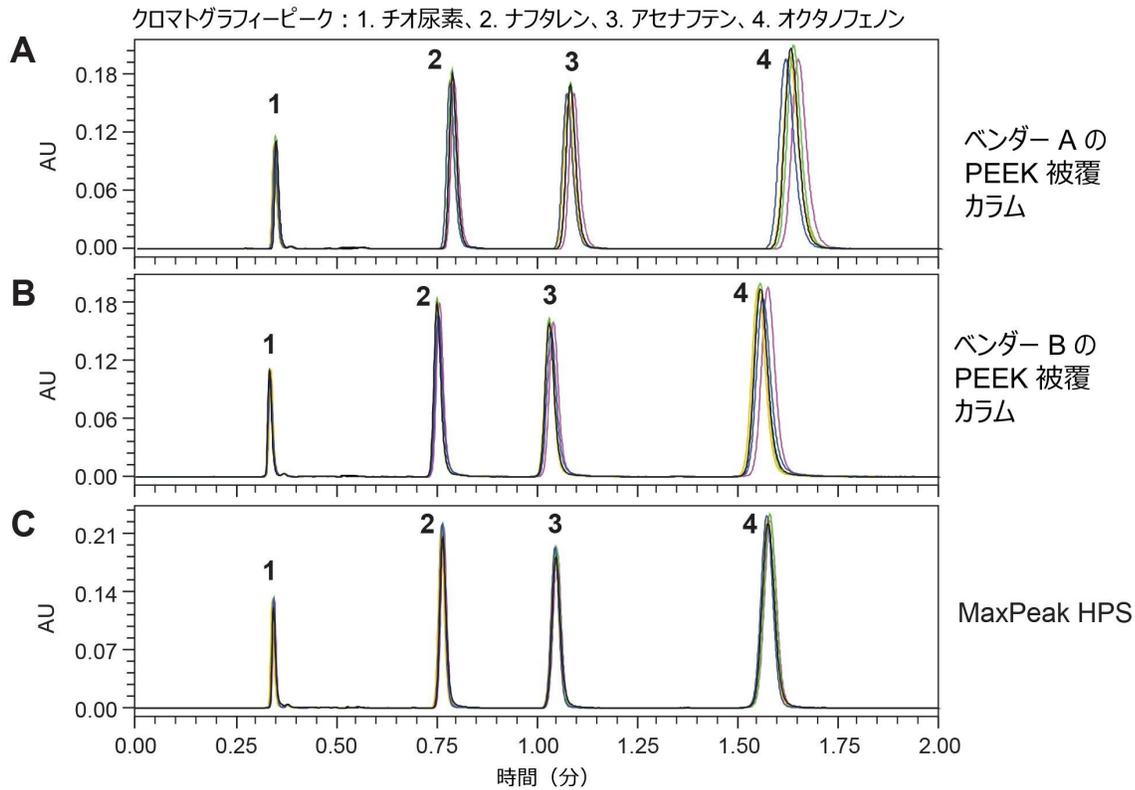


図 1. (A) Bender A の PEEK 被覆ハードウェア、(B) Bender B の PEEK 被覆ハードウェア、および (C) MaxPeak HPS ハードウェアに充填した  $N = 5$  のカラムのクロマトグラム。分析は、ACQUITY UPLC クロマトグラフィー装置と、 $C_{18}$ 、 $2.5 \mu\text{m}$  固定相を充填した  $2.1 \times 50 \text{ mm}$  カラムで行いました。アイソクラティック分離の条件は、流速  $0.30 \text{ mL/分}$ 、カラム温度  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、75% アセトニトリル、 $254 \text{ nm}$  の UV 検出、注入量  $1 \mu\text{L}$  を用いました。

充填の前に、精度校正済みの一組のピンゲージを使用して各カラムハードウェアの内径を測定し、小数第 5 位で四捨五入したインチ数を測定しました。カラムチューブの両端を測定し、その平均値を用いて各カラムの内径を表しています。次に、カラムの各ハードウェアについて、正確な長さを  $50 \text{ mm}$  と仮定して、カラム容量を計算しました。図 2 に、3 種類のハードウェアのそれぞれについて計算したカラム容量を  $V_0$  保持時間に対してプロットしたグラフを示します。MaxPeak HPS ハードウェアでは、カラム容量と  $V_0$  保持時間は良好な線形回帰を示していますが、いずれのベンダーの PEEK 被覆ハードウェアにおいても、このような傾向は見られません。これにより、PEEK 被覆ハードウェアの内径がカラムの全長に沿って均一でないと理論付けることができ、その結果、流れているカラムでの線速度に差が生じます。

## $V_0$ 保持時間対カラム容量

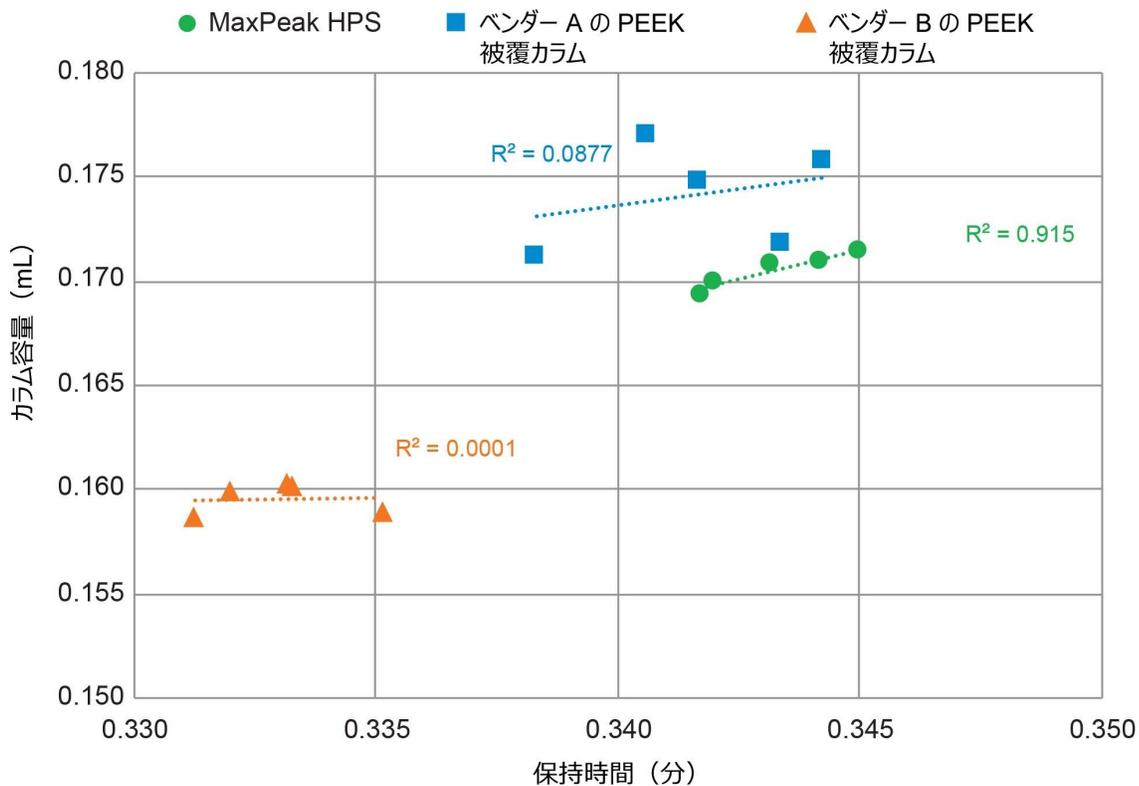


図 2. 2.5  $\mu\text{m}$ 、 $C_{18}$  固定相を充填した MaxPeak HPS、ベンダー A の PEEK 被覆カラムハードウェア、ベンダー B の PEEK 被覆カラムハードウェアの  $2.1 \times 50 \text{ mm}$  のカラムにおける  $V_0$  保持時間（チオ尿素）とカラム容量の計算値の比較。カラム容量は、各カラムチューブの内径の測定値から計算しました。分析は ACQUITY UPLC クロマトグラフを用いて行いました。アイソクラティック分離の条件は、流速  $0.30 \text{ mL/分}$ 、カラム温度  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、75% アセトニトリルの移動相、 $254 \text{ nm}$  の UV 検出、注入量  $1 \mu\text{L}$  を用いました。

## 結論

MaxPeak High Performance Surfaces (HPS) テクノロジーを採用した MaxPeak Premier カラムにより、金属に吸着しやすい分析種の回収率、分離能、ピーク形状が大幅に向上しています。MaxPeak HPS の有機/無機ハイブリッドテクノロジーにより、分析種の金属への吸着に対するバリアが提供され、陰イオン性または電子の豊富な分析種の回収率が向上します。この点は PEEK 被覆ステンレススチール製カラムハードウェアにも当てはまる場合がありますが、カラム

効率とピーク形状の悪化、カラム背圧の上昇などの犠牲が伴い、MaxPeak HPS ハードウェアよりもカラム間のばらつきが大きくなります。

MaxPeak HPS テクノロジーを採用した MaxPeak Premier カラムでは、金属の影響を受けやすい分析種の回収率が優れており、市販の不活性カラム製品の非常に高いカラム効率とカラム間再現性を兼ね備えたメリットがもたらされます。

---

## 参考文献

1. Lauber, M.; *et al.* Low Adsorption HPLC Columns Based on MaxPeak High Performance Surfaces. Waters White Paper, 720006930EN <<https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=135074404&lid=135074403>> , 2020.
2. Gjerde, D. T.; Hanna, C. P.; Hoang, L.; Hornby, D. DNA Chromatography. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.: 2002.
3. Lough, J.; Mills, M. J.; Maltas, J. Analyte Adsorption in Liquid Chromatography Valve Injectors for Samples in Non-eluting Solvents. *J. Chromatogr. A.* 1996, 726, 67–75.
4. DeLoffi, M.; Nguyen, J. M.; Izzo, G. Improved Chromatographic Performance with an ACQUITY Premier Peptide C<sub>18</sub> Column Versus a Titanium-Lined C<sub>18</sub> Column Technology. Waters Application Note, 720007022 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/improved-chromatographic-performance-with-a-premier-peptide-c18-column-versus-a-titanium-lined-c18-column-technology.html>> , 2020.
5. Birdsall, R.; *et al.* Increasing Chromatographic Performance of Acidic Peptides in RPLC-MS-based Assays with ACQUITY Premier Featuring MaxPeak HPS Technology. Waters Application Note, 720007003 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/increasing-chromatographic-performance-of-acidic-peptides-in-rplc-ms-based-assays-with-acquity-premier-featuring-maxpeak-hps-technology.html>> , 2020.

---

## ソリューション提供製品

ACQUITY Premier システム <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

ACQUITY UPLC チューナブル UV 検出器 <<https://www.waters.com/514228>>

[Empower クロマトグラフィーデータシステム <https://www.waters.com/10190669>](https://www.waters.com/10190669)

[MaxPeak Premier カラム <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135074078>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135074078)

720007210JA、2021 年 3 月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#)   [プライバシー](#)   [商標](#)   [サイトマップ](#)   [キャリア](#)   [クッキー](#)   [クッキー](#)  
[環境設定](#)