

親水性相互作用液体クロマトグラフィーによる 金属、ハロゲン化物、無機イオンの分析

著者

Anne Mack, Adam Bivens
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC) を用いて、さまざまな無機イオンを分離する方法について説明します。従来、このような高極性化合物の分析に使用されるのは、イオン交換 (IEX) やイオンクロマトグラフィー (IC) などの特殊なメソッドに限定されていました。現在では、Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムや InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 カラムなど高度な HILIC 相ケミストリが開発されたことにより、標準的な HPLC と水/アセトニトリルグラジエントにより、イオン種を保持して分析することが可能になりました。

はじめに

無機イオンの分析は多数のラボにおける主要な機能ですが、逆相クロマトグラフィーで達成するのは容易ではありません。これは、比較的非極性な相ケミストリにおいては高極性イオンが適切に保持されないためです。長年にわたって使用されてきたのはイオン交換 (IEX) およびイオンクロマトグラフィー (IC) ですが、これらのオプションは分析時間が長く、機器要件が特殊です。

現在では、高度な親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC) 相ケミストリが開発されたことにより、無機イオンなどのさまざまな高極性化合物の分析が可能になっています。また HILIC には、IEX や IC メソッドと比較して次のような独自のメリットもあります。

- 陽イオン、陰イオン、および中性化合物を 1 回の注入で同時に分析できます。
- 強い酸性またはアルカリ性の添加剤が含まれていない標準の水/アセトニトリル溶離液を使用します。
- システムには、再生器、抑制器、溶離液ジェネレーターは必要ありません。
- HILIC では、ポリマー樹脂の代わりに高効率のシリカベースメディアを使用できます。

これらのメリットに加えて、Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z および Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 では 2.7 μm 表面多孔質粒子を使用し、背圧を高くしなくても UHPLC レベルの効率および分離能が実現します。

実験方法

試薬および薬品

試薬はすべて、ACS グレード以上のものを使用しました。HPLC グレードのアセトニトリルは Honeywell (マスキーゴン、ミシガン州、米国) から購入しました。純水は、EMD Millipore Milli-Q Integral System (ダルムシュタット、ドイツ) を使用しました。試薬グレードのギ酸 (FA、p/n G2453-85060) は Agilent Technologies から入手しました。

ギ酸アンモニウムおよび無機イオン標準は Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) から購入しました。

実験器具と材料

- エッペンドルフピペットおよびリピーター
- Agilent InfinityLab 溶媒ボトル、茶色、1,000 mL (p/n 9301-6526)
- Agilent InfinityLab セーフティキャップ、GL45、3 ポート、ベントバルブ x 1 (p/n 5043-1219)
- バイアル、スクリュートップ、茶色、ラベル付、認定、2 mL、100 個 (p/n 5182-0716)
- Agilent 圧着スクリュューキャップ、PTFE/赤シリコンセプタム (p/n 5190-7024)
- Agilent バイアルインサート、250 μL 、不活性ガラス、樹脂足付 (p/n 5181-8872)
- Agilent InfinityLab クイックコネクトおよびクイックターンフィッティング (p/n 5067-5957 および p/n 5067-5966)
- 低分散キット (p/n 5067-5963)

装置構成

この研究では、Agilent 1260 バイナリ LC システムと Agilent G4218A ELSD を使用しました。システムでの分散を最小限にするために、すべての接続キャピラリーの長さを短くし、内径は 0.12 mm にしました。システムのコントロールとデータ処理には、Agilent OpenLab ソフトウェアを使用しました。

サンプル前処理

無機イオンは塩として分析して水中に溶解し、それ以上のサンプル前処理は行わず個別に注入しました。

移動相前処理

ギ酸アンモニウムを目的の濃度になるように計量し、水と混合しました。次にギ酸を用いて、溶離液を pH 3 に調整しました。HPLC グレードのアセトニトリルを使用しましたが、それ以上の前処理は行っていません。

注: ギ酸アンモニウムバッファは時間が経過すると品質が低下する可能性があるため、溶離液を 1 L 以下の容量に混合し、頻繁に交換することを推奨します。

塩標準溶液

塩	濃度
塩化カルシウム	2.4 mmol/L (0.4 mg/mL)
臭化リチウム	5.0 mmol/L (0.4 mg/mL)
塩化マグネシウム	3.0 mmol/L (0.3 mg/mL)
臭素酸カリウム	2.1 mmol/L (0.3 mg/mL)
ヨウ化カリウム	2.7 mmol/L (0.5 mg/mL)
リン酸カリウム	2.5 mmol/L (0.3 mg/mL)
臭化ナトリウム	3.4 mmol/L (0.3 mg/mL)
塩化ナトリウム	3.4 mmol/L (0.4 mg/mL)

注: 不溶性塩 (例えば、リン酸カルシウム) の形成を防ぐため、塩混合物では溶解性を考慮する必要があります。

分析条件

パラメータ	設定値
HPLC	
カラム	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1 mm \times 100 mm, 2.7 μm (p/n 685775-924) Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, 2.1 mm \times 100 mm, 2.7 μm (p/n 685775-601) Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC, 2.1 mm \times 100 mm, 2.7 μm (p/n 695775-901T)
流量	0.40 mL/min
カラム温度	30 °C
注入量	1 μL
移動相 A	100 mM ギ酸アンモニウム水溶液、pH = 3
移動相 B	アセトニトリル
ELSD	
温度	40 °C
圧力	3.5 psi
データレート	30 Hz

選択性の比較

3 つの InfinityLab Poroshell 120 HILIC カラムではそれぞれ、無機イオンに対する選択性が大きく異なっています。

表 1. Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC カラム間の無機イオン濃度とリテンションタイム

分析対象物*	濃度	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z リテンションタイム	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 リテンションタイム	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC リテンションタイム
塩化物 (Cl ⁻)	6.0 mmol/L (0.21 mg/mL)	4.37	3.62	0.97
塩素酸 (ClO ₃ ⁻)	3.4 mmol/L (0.28 mg/mL)	1.08	0.89	0.62
臭化物 (Br ⁻)	5.0 mmol/L (0.40 mg/mL)	2.26	1.55	0.69
臭素酸塩 (BrO ₃ ⁻)	2.1 mmol/L (0.27 mg/mL)	2.66	2.27	0.86
ヨウ化物 (I ⁻)	2.7 mmol/L (0.34 mg/mL)	0.94	0.75	0.56
リン酸 (H ₂ PO ₄ ⁻)	2.5 mmol/L (0.24 mg/mL)	8.40	8.79	6.05
リチウム (Li ⁺)	5.0 mmol/L (0.034 mg/mL)	6.34	5.26	3.39
ナトリウム (Na ⁺)	3.4 mmol/L (0.078 mg/mL)	6.15	6.65	4.21
カリウム (K ⁺)	2.7 mmol/L (0.11 mg/mL)	5.35	9.40	4.55
マグネシウム (Mg ²⁺)	3.0 mmol/L (0.072 mg/mL)	10.20	8.09	6.19
カルシウム (Ca ²⁺)	2.4 mmol/L (0.096 mg/mL)	10.73	8.55	6.48

*注意: 同じ陽イオンまたは陰イオンを含む塩に対しては最高濃度を使用しました。

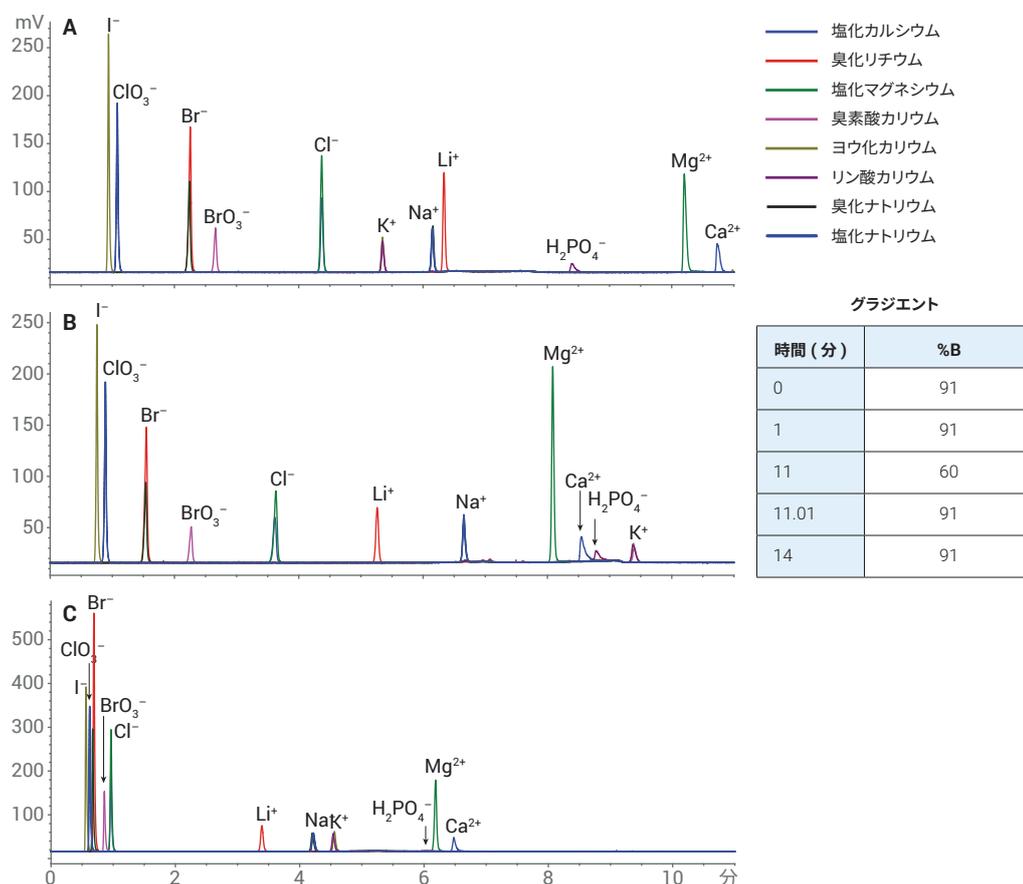


図 1. Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z (A)、HILIC-OH5 (B)、および HILIC (C) カラム間の選択性の比較

グラジエントの最適化

このメソッドを 2 部分のグラジエントを使用し、さらに最適化することにより、速度、ピーク形状、および重要なペアの分離能力が一段と向上します。

最適なグラジエント: Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z	
時間 (分)	%B
0	91
1	91
6	80
11	20
11.01	91
14	91

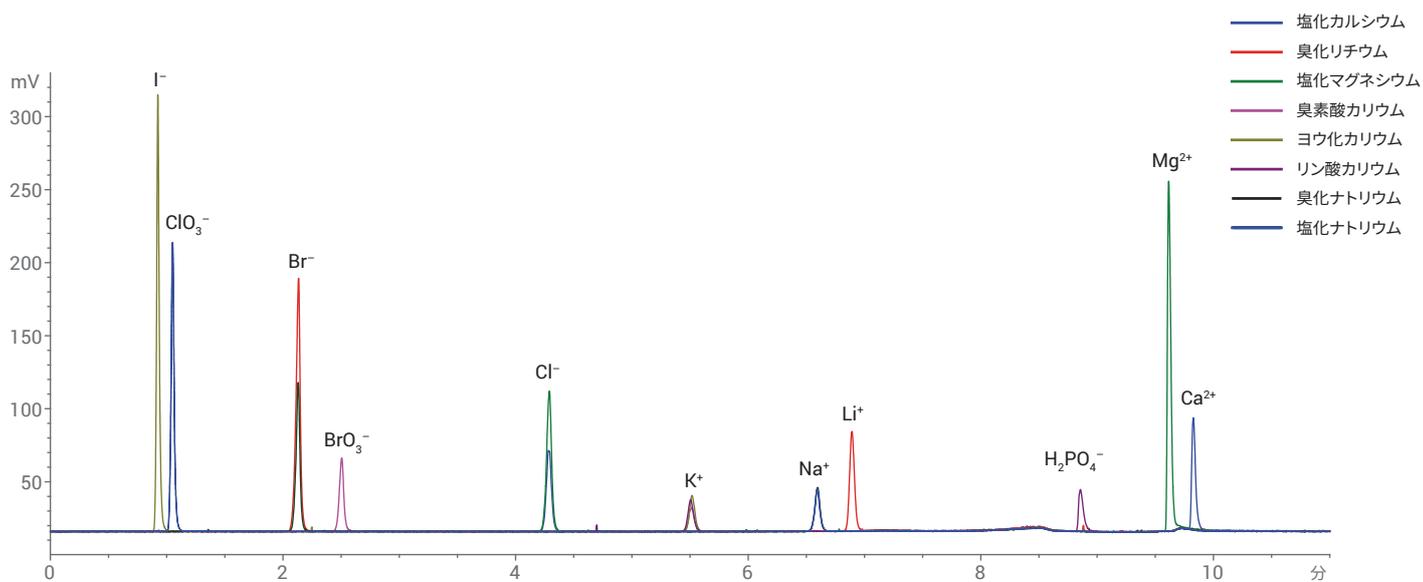


図 2. Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムにおける最適化した無機イオンの分離

結論

無機イオン分離用の HILIC メソッドを最適化し、対象とするさまざまな陽イオンと陰イオンを迅速に分離しました。フルクタン結合の Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 と両性結合の Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムでは、互いに選択性が異なります。

InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z と InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 カラムはいずれも、シリカベースの HILIC カラムと比較して多数のイオン (特に陰イオン) の保持と分離の能力が大幅に向上しました。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに
変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2017
Printed in Japan, December 1, 2017
5991-8602JAJP

