

Poroshell 120 HILIC-Z カラムによる 有機酸分析

著者

Anne Mack
Agilent Technologies, Inc.

概要

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムで、10 種類の有機酸を 4 分でベースライン分離しました。使用したカラムは、2.1 × 100 mm、2.7 μm 表面多孔質粒子型で、リン酸緩衝液とアセトニトリル移動相によるイソクラティック溶出を用いて、Agilent 1290 Infinity LC での分離を実施しました。

はじめに

液体クロマトグラフィーには、表面多孔質粒子の LC カラムが広く使用されています。これらのカラムは全多孔質粒子カラムの同等製品と比べて、低圧で高効率です。これは主に、物質移動距離がより短く、カラムに充填されている粒子のサイズ分布がきわめて狭いためです。カラムの効率が低いほど、分析を高速化できるだけでなく、分解能と感度が向上し、より信頼性の高い結果が得られます。

表面多孔質粒子は、主に逆相分離に重点を置いて使用されてきました。表面多孔質粒子技術の完成度が高くなったため、親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC) など高度な化学およびクロマトグラフィー技術用のアプリケーションが使用できるようになっています。HILIC は、逆相モードでは保持や分離が困難なことが多い、極性対象化合物の分析に最適です。このアプリケーションノートでは、Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z、2.7 μm カラムの UHPLC 性能と、10 種類の有機酸のベースライン分離機能について説明します。図 1 に対象化合物を示しています。

実験方法

この研究には、低分散で構成された Agilent 1290 Infinity LC を使用しました。表 1 に詳細を示しています。表 2 は、使用したクロマトグラフィーメソッドを示しています。すべての化合物を個別の標準として注入しました。表 3 に濃度とサンプル溶媒を示します。

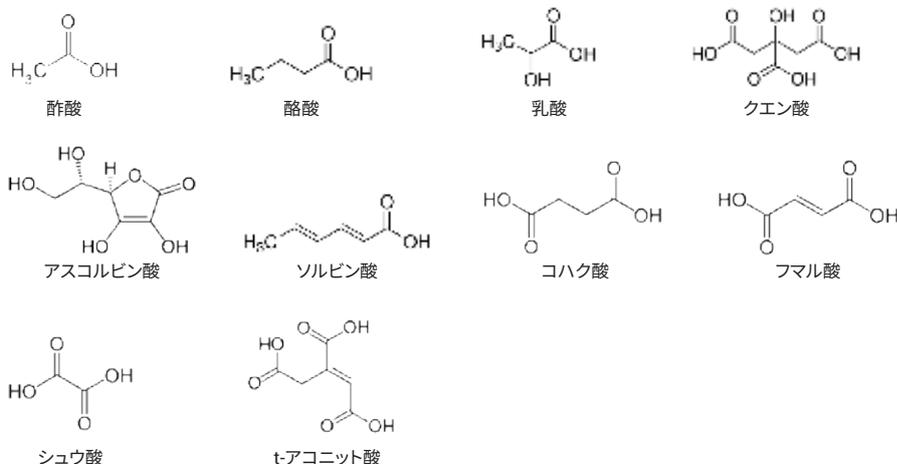


図 1. 対象化合物

表 1. LC システム構成

Agilent 1290 Infinity LC 構成	
Agilent G4220A バイナリポンプ	35 μL 溶媒ミキサー : Jet Weaver, 35 μL/100 μL (G4220-60006)
Agilent G4226A 高性能オートサンブラ	<ul style="list-style-type: none"> シートアセンブリ、超低分散、Agilent 1290 Infinity オートサンブラ G4226A 用 (G4226-87030) オートサンブラ → ヒーター : キャピラリー、ステンレス、0.075 × 220 mm、SV/SLV (5067-4784) バイアル、スクリュートップ、茶色、ラベル付、認定、2 mL、100 個 (5182-0716) キャップ、スクリュウ、青、PTFE/赤シリコンセパタム、100 個 (5182-0717) バイアルインサート、250 μL、ガラス、樹脂足付、100 個 (5181-1270)
Agilent G1316C カラム コンパートメント	<ul style="list-style-type: none"> 熱交換器、低分散、1.6 μL、ダブル (G1316-60005) ヒーター → カラム: InfinityLab クイックコネクタアセンブリ、105 mm、0.075 mm (5067-5961) カラム → フローセル: キャピラリー、ステンレス、0.075 × 220 mm、SV/SLV (5067-4784)
Agilent G4212A ダイオードアレイ検出器	超低分散 Max-Light カートリッジフローセル、10 mm (G4212-60038)
Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition リビジョン C.01.05 [35]	G4220A: B.06.53 [0013] G4226A: A.06.50 [003] G1316C: A.06.53 [002] G4212A: B.06.53 [0013]
Agilent LC カラム	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z、2.1 × 100 mm、2.7 μm (685775-924)

表 2. LC メソッドパラメータ

移動相	流量 (mL/min)	移動相の組成	注入量 (μL)	カラム コンパートメント (°C)	ダイオードアレイ 検出器
A) 30 mM リン酸ナトリウム + 0.075 % リン酸 (pH ~ 6.7)	0.5	イソクラティック溶出	0.1	30	214 nm、80 Hz
B) アセトニトリル		移動相の事前混合: 700 mL B + 300 mL A	サンプルの詳細に ついては、表 3 を 参照		

分析した 10 種類の有機酸は Sigma-Aldrich から購入しました。リン酸ナトリウムおよびリン酸も Sigma-Aldrich から購入しました。アセトニトリルは Honeywell 社 (Burdick and Jackson) から購入しました。水は、Milli-Q システム (Millipore 社) で精製し、0.2 μm フィルタでろ過したものを使用しました。

重要: リン酸塩はアセトニトリル濃度が高い溶液では溶解性が低く、水性リン酸緩衝液をアセトニトリルと混合すると沈殿することがあります。このため、通常、HILIC 分析でリン酸を使用することは適切ではありません。しかし、ダイオードアレイ検出器を用いて低波長で有機酸を適切に検出する場合、ギ酸と酢酸塩では大幅なベースラインノイズが発生するため、リン酸が必要でした。LC システム内に塩が沈殿するのを防ぐために、表 2 に従って移動相を事前混合することを強く推奨します。事前混合した移動相に対して、塩沈殿物の有無を調査して日常的にモニタリングする必要があります。このアプリケーションノートで指定した量を超える塩またはアセトニトリルにより移動相を調製すると、塩が沈殿してしまいます。移動相に高い柔軟性が必要な場合は、代替の検出器 (MSD、ELSD、RID など) をギ酸または酢

表 3. 各有機酸におけるサンプル前処理

有機酸	濃度 (mg/mL)	サンプル溶媒
酢酸	8.7	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
酪酸	7.9	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
乳酸	6.6	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
クエン酸	7.5	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
アスコルビン酸	8.3	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
ソルビン酸	7.1	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
コハク酸	8.2	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
フマル酸	7.4	CH ₃ CN/H ₂ O (8:5)
シュウ酸	7.9	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
t-アコニット酸	7.8	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)

酸緩衝液とともに使用します。これらの緩衝液を使用すると別の選択性を引き起こす場合があります。この際には追加のメソッド開発が必要になります。

結果と考察

図 2 のクロマトグラムは、Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムで 10 種類の有機酸がベースライン分離されたことを示しています。すべての化合物が、4 分でベースライン分離されました。

InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z では、堅牢なハイブリッド粒子に結合する画期的な両性イオン型固定相が採用され、最大 80 °C および最大 pH 12 まで安定しています。また、帯電性化合物において優れたピーク形状が得られ、幅広い極性にわたって分析対象物を分離できます。前述の HILIC-Z 相の機能は、この分析困難な有機酸の中 pH 分離に最適です。

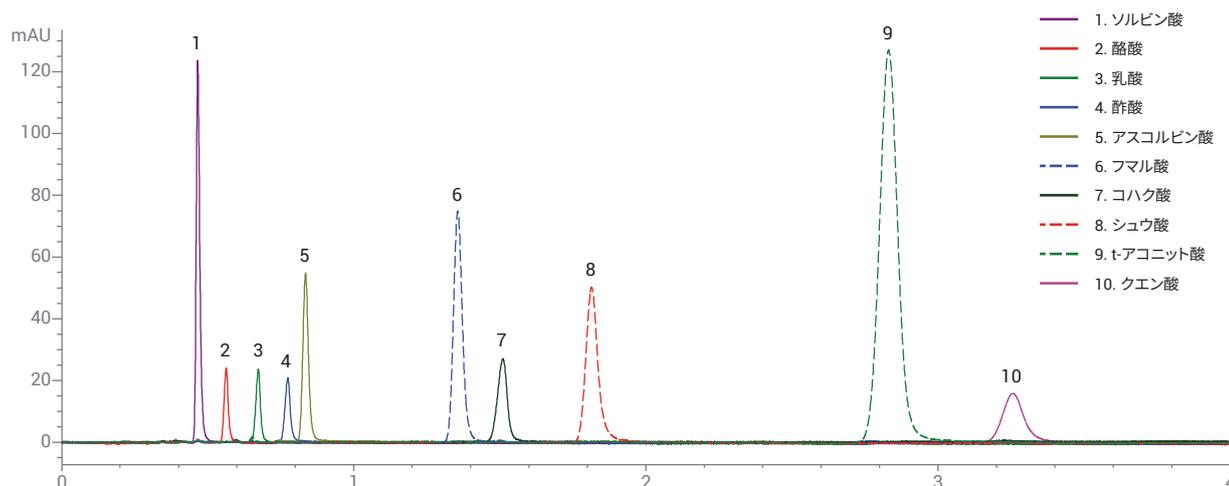


図 2. Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムによる有機酸の分離

結論

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムにより、有機酸の分離の堅牢なメソッドが実現します。すべての化合物において高い分離能と良好なピーク形状が得られます。

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おりません。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. 2018
Printed in Japan, January 30, 2018
5991-8985JAJP