

InfinityLab ピークシャープナーユーザーガイド

InfinityLab ピークシャープナー (不活性化添加剤) は機器の全体的な感度を高め、前処理時間を短縮し、システムのスループットを向上させる独自の移動相添加剤です。この添加剤はアジレントのカラムで十分にテストされており、ステンレスと相互作用する分析対象物のピーク形状と回収率を大幅に向上させます。

使用方法

- この添加剤を使用する前に 0.5 % リン酸を用いてシステムを洗浄します。手順については、後述の 0.5 % リン酸による洗浄のセクションを参照してください。
- 有機溶媒を含むバッファを作成するため、まず、指定された pH で高濃度バッファ水溶液を作成します。後述の「例」セクションを参照してください。
- 水系溶媒 1 L に InfinityLab ピークシャープナー 1 mL を追加します。
- 水を 10 % 以上含み pH レベル 7 を超える有機溶媒 1 L に、InfinityLab ピークシャープナー 1 mL を追加します。後述の「安全上のご注意」の 1 を参照してください。

安全上のご注意

- アセトニトリルが 90 % を超える pH 7 未満の有機溶媒は溶媒重合が起こりやすく、チェックバルブに問題が生じる可能性があります。これらの条件で本添加剤を導入すると、溶媒重合のリスクが高まります。
- InfinityLab ピークシャープナーの濃度は 5 μM 以下としてください。添加剤濃度が 5 μM を超えると、イオン化抑制が生じる可能性があります。

例

- 移動相原液の作成:**まず 100 mM 酢酸アンモニウム原液の水溶液を作成し、水酸化アンモニウムで pH 9 に調整します。移動相 A は原液 100 mL を水 900 mL で希釈して作成します。移動相 B は原液 100 mL をアセトニトリル (ACN) 900 mL で希釈して作成します。両方の移動相溶媒の最終濃度は 10 mM の酢酸アンモニウムです。
- HILIC-LC/MS を用いた代謝物の分析の最適な LC/MS 条件を表 1 および 2 に示します。

表 1. 代謝物の分析に最適な LC 条件

| | |
|----------------|--|
| カラム | Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z、PEEK ライナ付、2.1 \times 150 mm (P/N 673775-924) |
| 移動相 A | 10 mM 酢酸アンモニウム、pH 9.0 水溶液 + 5 μM ピークシャープナー |
| 移動相 B | 10 mM 酢酸アンモニウム、pH 9.0 ACN 水溶液 + 5 μM ピークシャープナー |
| グラジエント | 時間 (分) %B |
| | 0 90 |
| | 2 90 |
| | 12 60 |
| | 15 60 |
| | 16 90 |
| 24 90 | |
| 流量 | 0.25 mL/min |
| カラム温度 | 30 $^{\circ}\text{C}$ |
| 注入量 | 1 μL |
| 合計分析時間 | 25 分 |

表 2. 代謝物の分析に最適な 6545 Q-TOF MS 条件

| | |
|------------|--|
| イオン化モード | ESI ネガティブ |
| ガス温度 | 200 $^{\circ}\text{C}$ |
| ガス流 | 10 L/min |
| ネブライザ | 40 psi |
| シースガス温度 | 300 $^{\circ}\text{C}$ |
| シースガス流量 | 12 L/min |
| キャピラリー電圧 | 3,000 V |
| ノズル電圧 | 0 V |
| フラグメンタ電圧 | 125 V |
| スキマー電圧 | 65 V |
| Oct RF Vpp | 750 V |
| 取り込みパラメータ | データを 2 GHz 拡張ダイナミックレンジで取り込み MS 質量範囲: 50 ~ 1,000 m/z |

- 図 1 は上述のメソッドを用いて取得した代謝物の標準 (5 ng/ μL サンプル、注入量 1 μL) の代表的なクロマトグラムを示しています。

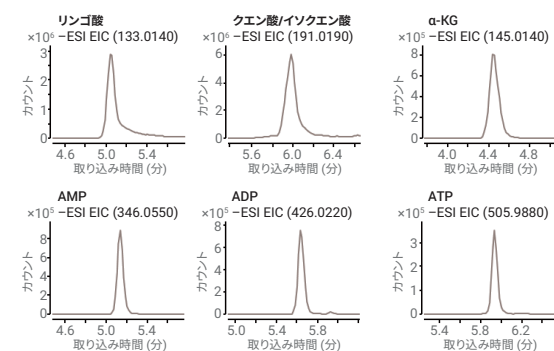


図 1. 代謝物の標準の代表的なクロマトグラム

- 詳細については、『親水性相互作用クロマトグラフィーのメソッド開発およびトラブルシューティング』(5991-9271JAJP) をご覧ください。

保管に関する注意事項

- 未開封のピークシャープナーは室温で保管できます。
- 細菌の繁殖を抑えるため、開栓済みのボトルは冷蔵庫で保管してください。

0.5 % リン酸による洗浄の手順

手作業時間: 30 分

合計前処理時間: 3 時間 + 一晚 (約 15 時間)

質量分析システム内にリン酸が入らないようにしてください。

- イオン源を安全に取り扱うことができるように MS を設定します。これは通常はイオン源のクリーニング時に使用する設定と同じです。後述の「注意事項」セクションを参照してください。
- 流量を 0 mL/min に変更し、溶媒を純水に切り替えます。
- システムを Purge On (パージオン) に設定して廃液に直接流すか、インレットキャピラリーを HPLC カラムから取り外して適切な廃液容器内に置きます。後述の「注意事項」セクションを参照してください。
- LC ポンプを 5 mL/min の水で 5 分間パージします。
- システムを Purge Off (パージオフ) に設定するか、液流を停止して HILIC カラムを再び取り付けます。
- カラムの直径が 4.6 mm および 3.0 mm の場合は流量を 0.5 mL/min に、カラムの直径が 2.1 mm の場合は流量を 0.25 mL/min に設定します。システムおよびカラムを 30 分間運転します。
- 流量を 0 mL/min に変更し、溶媒を 0.5 % リン酸 (ACN 90 %/水 10 % の溶液) に切り替えます。
- MS またはその他のネプライザが搭載された検出器を使用している場合は、スプレーニードルを取り外し、スプレーの端を下に向けて適切な廃液容器内に置き、インレットキャピラリーを再び取り付けます。後述の「注意事項」セクションを参照してください。
- システムを Purge On (パージオン) に設定して廃液に直接流すか、インレットキャピラリーを HPLC カラムから取り外して適切な廃液容器内に置きます。
- LC ポンプを 5 mL/min の 0.5 % リン酸で 5 分間パージします。
- システムを Purge Off (パージオフ) に設定するか、液流を停止して HILIC カラムを再び取り付けます。
- 0.5 % リン酸の流量を 0.1 mL/min に設定して、一晚 (12 時間以上) 運転します。
- 流量を 0 mL/min に変更し、溶媒を純水に切り替えます。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

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, July 1, 2018
5991-9516JAJP
DE44235.8741319444

- システムを Purge On (パージオン) に設定して廃液に直接流すか、インレットキャピラリーを HPLC カラムから取り外して適切な廃液容器内に置きます。
- 5 mL/min の水で 5 分間パージします。
- キャピラリーアウトレットから出る LC 廃液の pH が 4.5 を超えるまで、真水を用いてこのパージを繰り返します。
- システムを Purge Off (パージオフ) に設定するか、液流を停止して HILIC カラムを再び取り付けます。
- カラムの直径が 4.6 mm および 3.0 mm の場合は流量を 0.5 mL/min に、カラムの直径が 2.1 mm の場合は流量を 0.25 mL/min に設定します。システムおよびカラムを 1 時間運転します。
- 流量を 0 mL/min に変更し、溶媒を目的の移動相に切り替えます。
- システムを Purge On (パージオン) に設定して廃液に直接流すか、インレットキャピラリーを HPLC カラムから取り外して適切な廃液容器内に置きます。
- 5 mL/min の移動相で 5 分間パージします。
- システムを Purge Off (パージオフ) に設定するか、液流を停止して HILIC カラムを再び取り付けます。
- カラムの直径が 4.6 mm および 3.0 mm の場合は移動相の流量を 0.5 mL/min に、カラムの直径が 2.1 mm の場合は移動相の流量を 0.25 mL/min に設定します。システムおよびカラムを 1 時間運転します。
- ネプライザを MS に再接続し、分析を続行します。

注意事項

- イオン源の適切な取り扱い方法について疑問がある場合は、MS メーカーのテクニカルサポートにお問い合わせください。
- 廃液容器は清潔で空になっており、溶媒に対応し、廃液溶媒をこぼさずに収容できる十分な大きさのものである必要があります。一般的に大型のガラス製ビーカーや溶媒ボトルが推奨されます。
- 溶媒や廃液に ESI ニードル、キャピラリー、その他のコンポーネントを浸さないでください。容器は定期的に空にしてください。
- ネプライザニードルが簡単に外れない場合は、キャピラリーの端を MS システムに接続するときと同じ手順に従ってください。ただし、ニードル内で混合が生じる可能性があります。
- 流路内 (HPLC システム、キャピラリー、カラム、検出器) はできるだけ不動態化してください。
- 溶媒および HPLC コンポーネントの取り扱い時は常に適切な安全対策を取ってください。
- 質量分析システム内にリン酸が入らないようにしてください。