

分析困難な極性化合物を 確実に分析

親水性相互作用液体クロマトグラフィー（HILIC）用
Agilent InfinityLab Poroshell 120 カラム、ZORBAX カラム、Polaris カラム



堅牢性と信頼性に優れた HILIC ワークフローを構築

親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC) が普及しつつあります。HILIC では、標準的な LC システムと一般的な逆相溶媒を使用して、低分子極性対象化合物を保持し、分離することができます。この技法の利点は、逆相メソッドよりも極性対象化合物の保持力が高いことと、セットアップが簡単な MS 対応溶出液を使用できることです。MS モードで優れたイオン化と感度を達成できる理由はここにあります。

1



サンプル前処理は、あらゆる分析を実施するうえで非常に重要な出発点です。単純ろ過、保持型液液抽出 (SLE)、キャッチアンドリリースクリーンアップ、QuEChERS や固相抽出 (SPE) といった方法を問わず、アジレントは、受賞歴のある Captiva EMR-Lipid から信頼性の高い Bond Elut SPE キットや QuEChERS キットまで、サンプル前処理のニーズに適した高品質な製品を提供しています。

2



InfinityLab LC シリーズではルーチン分析から最先端の研究まで幅広いアプリケーションに対応した HPLC および UHPLC ソリューションを取り揃えており、お客様のアプリケーションや予算に応じてお選びいただけます。

4



The InfinityLab Poroshell 120 ポートフォリオでは、極性対象物の LC/MS 分析で極めて高い分離効率と堅牢性、再現性のあるクロマトグラフィーを実現する最新の 3 種の HILIC 充填剤を提供しています。金属表面と分析対象化合物との相互作用にお悩みなら、お使いのシステムの金属表面を不活性化できる、アジレントの InfinityLab ピークシャープナー (不活性化添加剤) をお使いください。アジレントの超高純度 LC/MS 溶媒なら、MS バックグラウンドを最小化できます。

3



Agilent InfinityLab 消耗品をご活用いただければ、HILIC アプリケーションにおけるスループットの向上と機器のダウンタイムの最小化が可能です

- Stay Safe キャップを使用すれば、有害な溶媒の蒸発を防ぐことができ、移動相の濃度の一貫性も保てます
- 使いやすく操作性に優れた接続が特徴のクイックコネクティブフィッティングとクイックターンフィッティング
- ろ過アセンブリとインラインフィルタで緩衝液を加えた移動相から粒子を取り除き、カラム寿命の延長を実現
- 高スループットアプリケーション対応のウェルプレート
- トレーサビリティ機能の向上と簡単に実行できる文書化を実現する、カラム ID タグ、重水素ランプおよび RFID を組み込んだフローセルなどのスマートな消耗品

HILIC カラムの選択方法

アジレントでは、最新の HILIC 分離用に設計された幅広いカラムをご提供しています。HILIC モードには、保持力と分離を向上させる「イオン性相互作用」、「双極子-双極子親水性相互作用」、「水素結合」の 3 つの主要な親水性相互作用があります。複数の固定相をスクリーニングして適切な固定相を特定することが推奨されますが、分析対象物の機能グループや、その機能グループとカラムに発生しうる相互作用を考慮することで、適切な HILIC カラムを選択できます。

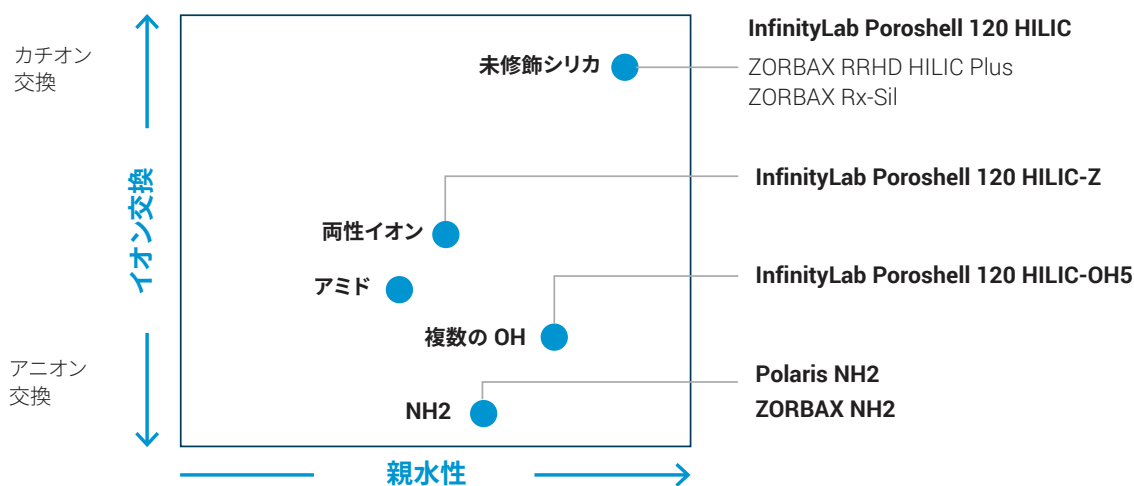


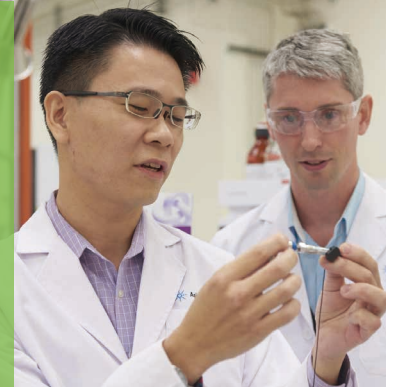
図 1. さまざまな Agilent HILIC カラムの親水性とイオン交換機能の定量マップ。Ibrahim et al., J.Chrom.A, 1260, (2012) に従って測定されたデータ

お客様の HILIC 分離に最適な移動相を見極めるには

移動相は 2 番目に重要な要素であり、これによって HILIC における選択性が変わってきます。強度の水性移動相の場合には、しばしば緩衝化して保持機構を慎重に選択・管理し、pH の微妙な変化によってピークの広がりや選択性のばらつきが生じないようにする必要があります。一様に緩衝化したアセトニトリルも、弱度の有機移動相として最もよく用いられます。

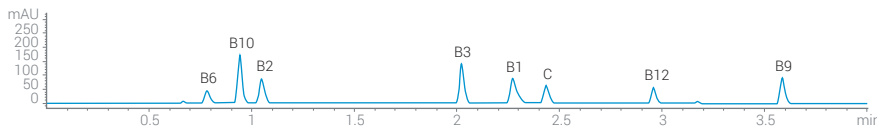
一般的留意点	代表的な緩衝液濃度：5 ~ 30 mM。最も一般的な濃度：10 ~ 20 mM リン酸緩衝液は 高 % ACN での溶解度が低いため使用を避けること	
	緩衝液と pH	最適な固定相
塩基性化合物	ギ酸アンモニウム、pH 3 酢酸アンモニウム、pH 4 ~ 5	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX HILIC Plus
酸性化合物と塩基性化合物との混合物	酢酸アンモニウム、pH 約 7	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX HILIC Plus
酸性化合物	ギ酸アンモニウム、pH 9 ~ 10	Poroshell 120 HILIC-Z
糖	水酸化アンモニウム、pH 10 ~ 11	Poroshell 120 HILIC-Z

信頼性と再現性に優れた 高速クロマトグラフィーを可能にする Poroshell 120 HILIC カラム

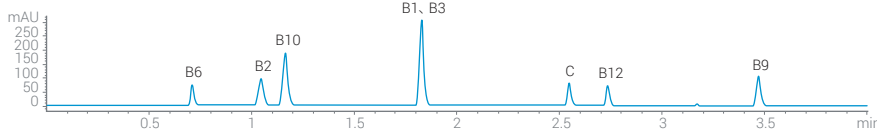


アジレントの最新の HILIC 製品をご紹介します。アジレントは、未修飾シリカ (HILIC)、ポリヒドロキシフルクタン (HILIC-OH5)、両性イオン (HILIC-Z) の3つの独自のオーソゴナルな HILIC 相をご提供します。InfinityLab Poroshell カラムでの堅牢かつ再現性の高い HILIC 分離により、分析困難で多くの場合 MS 非対応のイオンペアクロマトグラフィーや順相アプリケーションからの切り替えが可能になります。

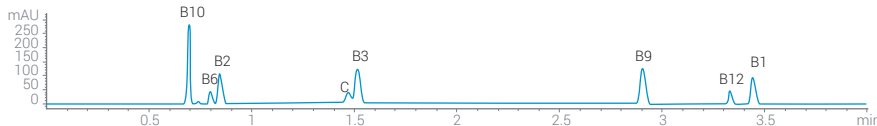
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 2.1 x 100 mm, 2.7 μm



InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 2.1 x 100 mm, 2.7 μm



InfinityLab Poroshell 120 HILIC 2.1 x 100 mm, 2.7 μm



条件:

移動相: A: 100 mM 酢酸アンモニウム + 0.5 % 酢酸 (pH 約 4.6) 水溶液
B: CH₃CN
0.5 mL/min, 87 % B で 1 分間、4 分で 87 ~ 50 % B、その後 3 分間再平衡

流量: 注入量 1 μL、40 °C

温度: 40 °C

検出器: UV 検出 260 nm、80 Hz

サンプル: 水溶性ビタミン

図 2. InfinityLab HILIC-Z カラムと HILIC-OH5 カラムでは、極性化合物の分離において広範囲にわたり異なる選択性が得られます。このクロマトグラムは、水溶性ビタミンの分離結果です。同じメソッド条件を使用して HILIC 結合相による選択性の違いを示しています。メソッド条件を変更することで、各カラムの分離性能を最適化することができます。

表 1. HILIC アプリケーションに推奨される、Poroshell 120 ポートフォリオの代表的カラム

カラム名	固定相	粒子径とカラムサイズ	圧力範囲	推奨アプリケーション
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z	両性イオン	粒子径: 1.9、2.7、4 μm カラム内径: 2.1、3、4.6 mm カラム長: 50、100、150、250 mm	1300 bar (1.9 μm) 600 bar (2.7、4 μm)	HILIC メソッド開発の出発点。高 pH 範囲。 PEEK ライナ付きタイプもお選びいただけます。
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5	ポリヒドロキシフルクタン相	粒子径: 2.7 μm カラム内径: 2.1、4.6 mm カラム長: 50、100、150 mm	400 bar (2.7 μm)	イオン交換を低減する異なる選択性もありますが、強い水素結合の性質があります。
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	未修飾シリカ	粒子径: 1.9、2.7、4 μm カラム内径: 2.1、3、4.6 mm カラム長: 50、100、150、250 mm	1300 bar (1.9 μm) 600 bar (2.7、4 μm)	極めて似た化合物を含まないシンプルなサンプル。 超低ブリード。

高帯電性化合物の保持と分離

InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムは、Poroshel 120 粒子に結合した画期的な両性イオン型固定相を備えています。このカラムには次のような利点があります。

- PEEK ライニングカラムオプションにより、分析困難な化合物でも卓越したピーク形状と回収率を達成
- 35 °C で最大 pH 12 の高 pH 安定性、pH 7 で最高 80 °C の温度安定性
- MS に適した緩衝液に適応（塩濃度 10 mM 未満）

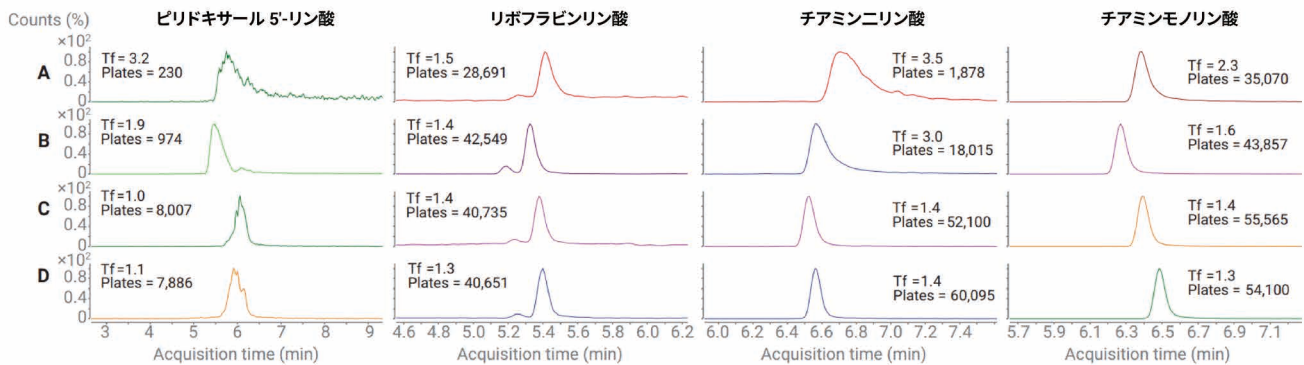


図 3. リン酸代謝物と金属配管の相互作用の検討。A) システム洗浄前、B) システム洗浄後、HILIC-Z カラム、C) システム洗浄後、HILIC-Z カラム、不活性化剤を追加、D) システム洗浄後、HILIC-Z PEEK ライナ付きカラム、不活性化剤を追加

異なる選択性で極性化合物を分離

異なる選択性で極性化合物を分離：Poroshel 120 粒子に結合したポリヒドロキシフルクタン相を備えた InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5：

- 極性化合物に対する優れた保持力を有しつつ、高速かつ効率的に極性化合物を分離
- Poroshell 120 HILIC および HILIC-Z 結合相とは異なる選択性が得られる

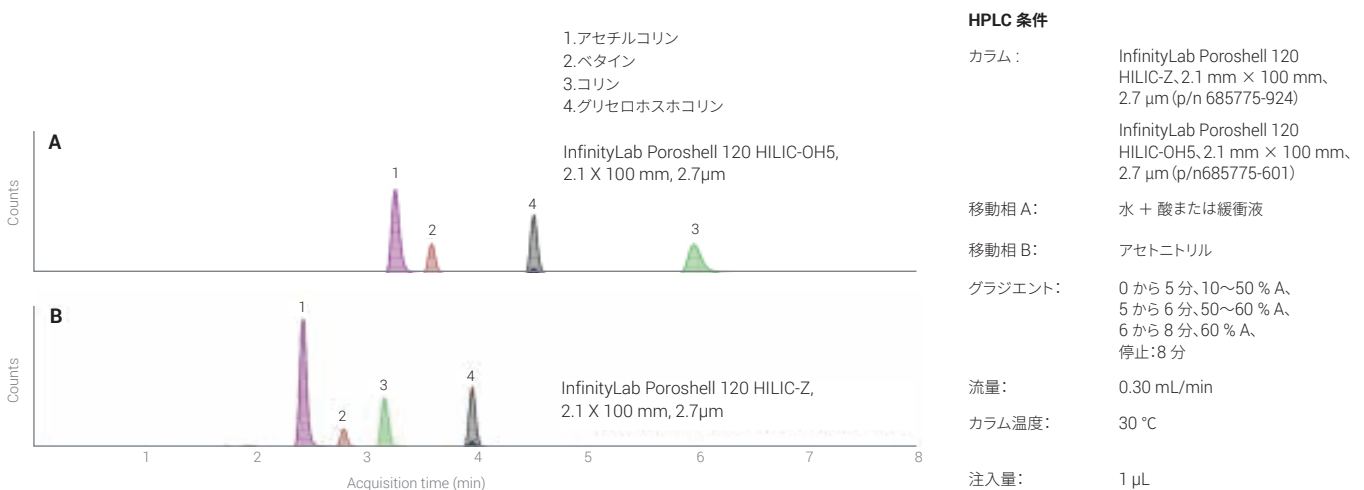


図 4. LC/MS/MS による Poroshell 120 HILIC-OH 5 および HILIC-Z でのコリン代謝物の分析

信頼性の高い、HILIC 分離向け 全多孔質カラム



Agilent ZORBAX カラムおよび Polaris HILIC カラムは親水性相互作用液体クロマトグラフィー（HILIC）向けに設計されたものであり、従来の全多孔質カラムに代わる、HILIC メソッド開発における新たな選択肢です。

従来の未修飾シリカ（Hilic Plus および Rx-Sil）相や堅牢性と信頼性に優れたアミノ相（Polaris NH2）からお選びいただけます。

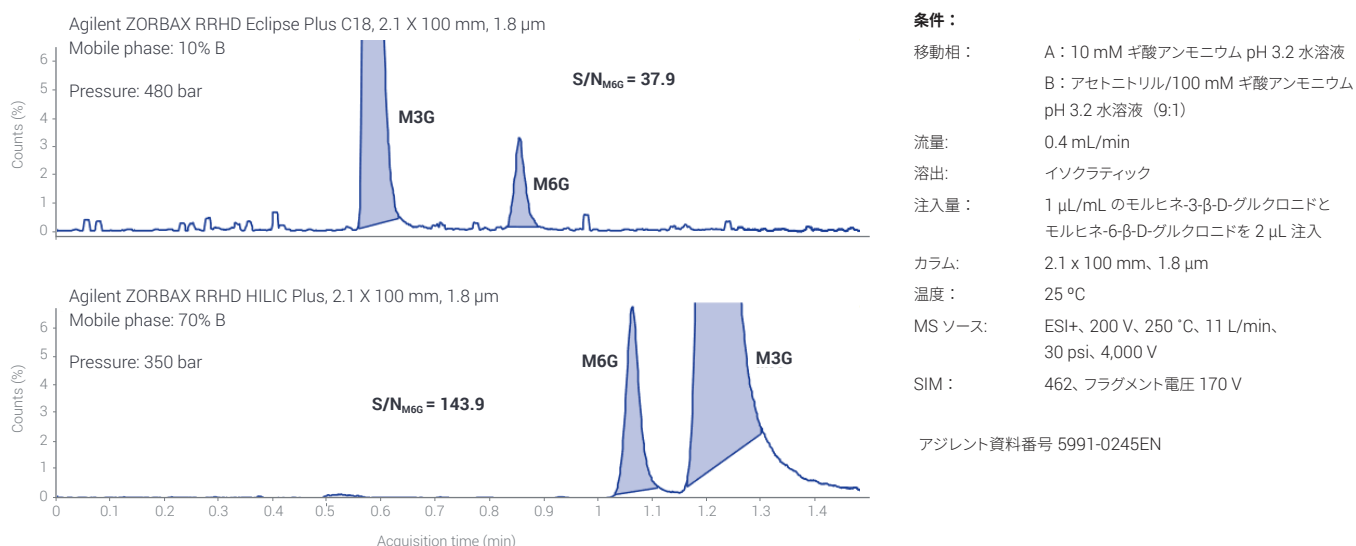


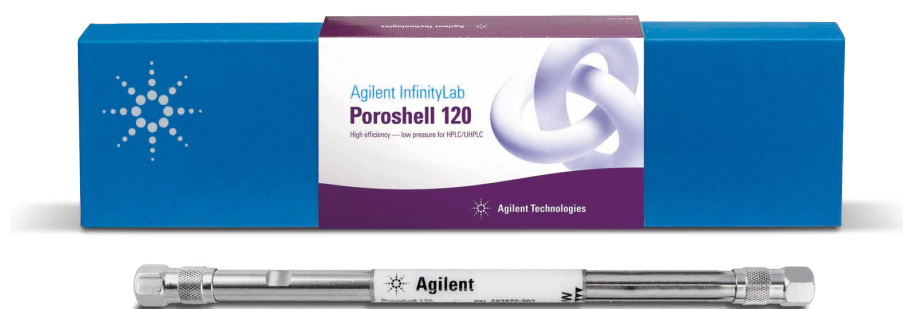
図 5. ZORBAX RRHD HILIC Plus による RP モードと HILIC モードの比較。HILIC モードの場合、RPLC に比べ、ESI-MS イオン源での噴霧や脱溶媒がより効率的に行えるため、ベースラインノイズの発生が抑えられ、より強度の高い MS シグナルも得られるうえ、感度も向上します。

表 2. HILIC モードでの使用が推奨される、代表的な ZORBAX カラムと Polaris カラム

カラム名	固定相	粒子径とカラムサイズ	圧力範囲	アプリケーション
ZORBAX HILIC Plus	未修飾シリカ	粒子径: 1.8, 3.5 μm カラム内径: 2.1, 4.6 mm カラム長: 50, 100 mm	1200 bar (1.8 μm) 400 bar (3.5 μm)	複雑でないサンプル向けのユニバーサル未修飾シリカ。
ZORBAX Rx-Sil	未修飾シリカ	粒子径: 1.8, 5 μm カラム内径: 2.1, 3, 4.6 mm カラム長: 各種 (50~250 mm)	600 bar (1.8 μm) 400 bar (5 μm)	保持力に優れ、異なる選択性を有する未修飾シリカ材。
Polaris NH2	アミノ	粒子径: 3, 5 μm カラム内径: 2.1, 4.6 mm カラム長: 50, 150, 250 mm	400 bar (3 μm) 400 bar (5 μm)	酸性化合物向けの、弱アニオン交換特性を持つ異なる選択肢。

「Poroshell 120 HILIC-Z 導入以前は、他社製の先行製品で頻繁に問題が発生していました。ピーク形状不良や RT シフトが珍しくありませんでした。HILIC-Z で社内メソッドを開発した途端、ピーク形状が一気に改善し、より安定した RT を得られるようになりました。さらに、ピークがシャープになり、分析対象物の分離とマトリックス干渉も改善したため、より低い定量下限を達成できるようになりました。このカラムで極性農薬を分析する際に、分析担当者は、これまでよりずっと作業が楽になり、信頼して分析を行えるようになったのです。」

– Elisa Platjouw 氏
Eurofins Netherlands の分析科学者



アジレントの HILIC カラムに適した代表的アプリケーション

アプリケーション	分野	使用カラム	アプリケーションノートタイトル	資料番号
RP-LC と HILIC との比較	すべての分野	複数	極性分子の保持と分離 – HILIC カラムと逆相 LC カラムの使い分けに関する考察	5994-1137JAJP
HILIC メソッド開発のビギナーズガイド	すべての分野	Poroshell 120 HILIC Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC-Z	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
LC/MS/MS 分析に用いられる HILIC の概要	すべての分野	Poroshell 120 HILIC-Z ZORBAX RRHD HILIC Plus	Application of Novel HILIC Column configurations to improve LC/ESI/MS sensitivity of metabolites.	ASMS 2018 ポスター WP-536
複雑なマトリックス中の非誘導体化アミノ酸	食品と農業	Poroshell 120 HILIC-Z	Analysis of amino acids in animal feed matrices using the Ultivo Triple Quadrupole LC/MS System.	5994-0586EN
水溶性ビタミン	食品と農業	Poroshell 120 HILIC-OH5	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 カラムでの水溶性ビタミンの分析	5991-8780JAJP
ヌクレオチドの分離	バイオ医薬品	Poroshell 120 HILIC-Z (PEEK ライナ)	不活性な流路でのヌクレオチドの HPLC-DAD 分析	5994-0680JAJP

上記以外のアプリケーションノートは、[Agilent LC Application ファインダー](#)で検索いただけます。

信頼性と効率、絶え間ない革新が生み出す最高の結果

Agilent InfinityLab の LC 機器、カラム、消耗品を利用すれば、確かな品質と堅牢な分析結果を得られます。しかし、アジレントがお約束するのはそれだけではありません。Agilent InfinityLab ファミリーのすべてのコンポーネントは、組み合わせて使用することでワークフローを継続的に改善できるように独自に設計されており、効率の向上によって、より多くの分析を実行し、運用コストを削減することができます。

Agilent
InfinityLab

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

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. 2020

Printed in Japan, December 8, 2020

5994-2798JAJP

DE.1032986111

 **Agilent**
Trusted Answers