

## HILIC カラムを使用した高極性化合物の事例紹介及び測定条件検討

○小川 直也

東海国立大学機構 名古屋大学全学技術センター

## 1.はじめに

LC-MS において最も一般的に用いられる分離モードは、固定相をオクタデシル基で修飾したシリカゲルを充填材とする ODS カラムを使用した逆相モードである。逆相モードでは、ODS カラムに主に疎水性相互作用を利用して溶質を保持し、親水性の高い物質から疎水性の高い物質の順で化合物を溶出させることができる。ただし、ODS カラムでは親水性の高い物質の保持が弱い為、例えばアミノ酸のような高極性化合物を誘導体化せずに測定することは難しい。発表者は農学部の機器分析室で勤務しており、アミノ酸、有機酸、糖等の高極性の生体関連化合物の分析依頼を受けることが多い。そのため、疎水性・イオン交換マルチモードカラムや、非誘導体化アミノ酸分析用カラム等の様々な親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) カラムを所有し、様々な分析に対応している。

本発表では HILIC カラムを使用した高極性化合物の測定について ODS カラムと比較すると共に、実際に行った測定の事例紹介や条件検討結果の報告を行う。

## 2.使用装置

- ・分離装置：超高速液体クロマトグラフ (Vanquish Horizon UHPLC System; Thermo Fisher)
- ・検出器：四重極-電場型フーリエ変換質量分析計 (Orbitrap Exploris 240; Thermo Fisher)

## 3.使用カラム (HILIC)

- ・非誘導体化アミノ酸分析用カラム：Intrada Amino Acid (3  $\mu\text{m}$ , 2  $\times$  100 mm; Imtakt)
- ・非誘導体化有機酸分析用カラム：Intrada Organic Acid (3  $\mu\text{m}$ , 2  $\times$  100 mm; Imtakt)
- ・アミドカラム：ACQUITY UPLC BEH Amide (1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1  $\times$  100 mm; Waters)

## 4.測定結果

ODS カラムでは分離が困難なアミノ酸、有機酸、糖といった高極性化合物を、Intrada Amino Acid, Intrada Organic Acid, ACQUITY UPLC BEH Amide の3種類の HILIC カラムを使用して測定した。その結果、アミノ酸分析用カラム Intrada Amino Acid は、アミノ酸分析に関しては、一般的なアミドカラム ACQUITY UPLC BEH Amide よりも、良好な分離性能を示した (図 1)。一方、糖の分析においては、アミドカラム ACQUITY UPLC BEH Amide の方が、アミノ酸分析用カラム Intrada Amino Acid よりも良好な分離性能を示した。このことから、高極性化合物の測定においては、検出対象とする化合物に応じて適切なカラムの選択が必要であることが改めて確認された。また、適切な分離には、先行研究と常に同一ではなく、適宜移動相の組成を微調整することが必要である場合があることを確認した。

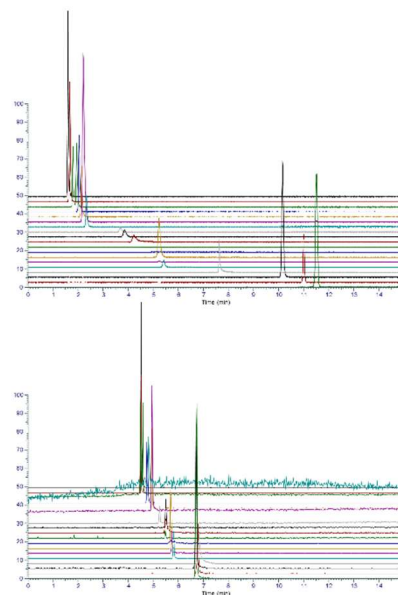


図 1 アミノ酸測定結果 (EIC)

(上：Intrada Amino Acid, 下：ACQUITY UPLC BEH Amide)