

2006分析展

通常のメソッドに+α! 固相抽出・HILIC・ジルコニアの 上手な使い方をお教えします!

固相抽出のために特別に設計された前処理カートリッジ,
極性化合物が分離可能なHILICカラム,
高温・耐アルカリ性に優れたジルコニアカラム。
充填剤の特性を最大限に引き出す上手な使い方を基礎から応用まで!

株式会社 クロマニックテクノロジーズ

ChromaNik

2006/09/01

JAIMA 2006 (株)クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

1

ChromaNik

HPLC分析における [Second Choice]

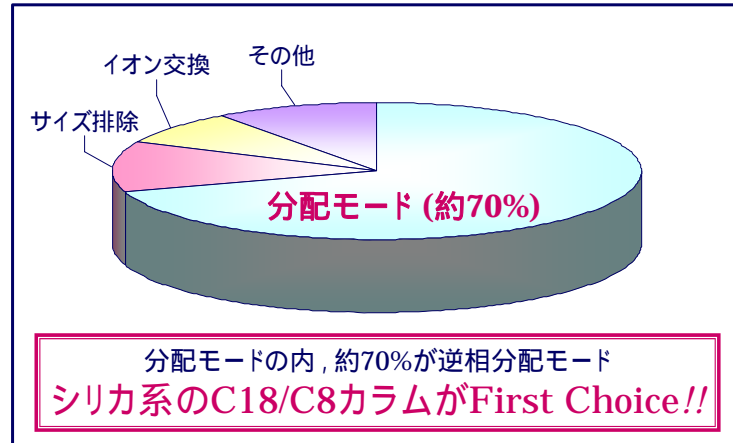
分離ができない!
さあ困った! 次の手は?

2

2006/09/01

JAIMA 2006 (株)クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

主要なHPLC分離モードの使用比率



3

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

First Choice (極性基を持つ化合物の場合)

- カラム
 - C18 (ODS), 5 μm , 150 x 4.6 mm i.d.
 - 一官能 (モノファンクション) 型, フルエンドキャッピング
- 移動相
 - 各メーカーの技術資料から類似化合物の条件検索
 - H_2O - CH_3OH 溶解度試験: 析出点より 5%溶解し易い組成
 - グラジエントができれば, 有機溶媒 20% 80%まで20 min
 - イオン性化合物の場合は 25 mMリン酸緩衝液を添加
 - 酸: pH4.5 (KH_2PO_4), 塩基: pH 6.8 ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{PO}_4=1/1$)
- 試料
 - 移動相で溶解, あるいは移動相で希釈
 - 0.45 μm のメンブランフィルタでろ過後, 5 ~ 10 μL を注入

4

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

とりあえず, HPLC分析を試してみたけど...

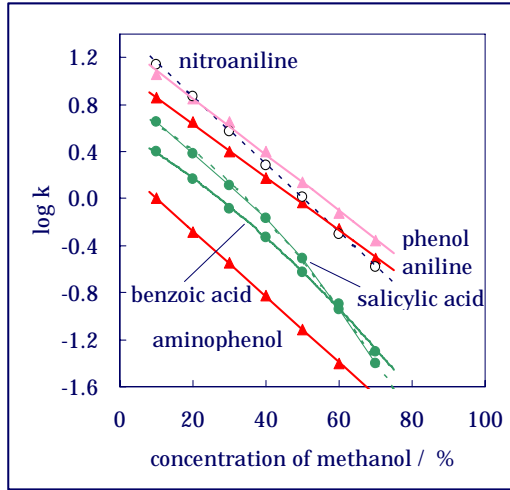
- 分離ができな～い!!
 - 分離度が足りない
 - カラムに保持されない
 - 共存成分と重なっている
- 検出ができな～い!!
 - 共存成分が重なっている
 - 検出器に反応しない (ここでは省略)

⇒ **分離の改善**

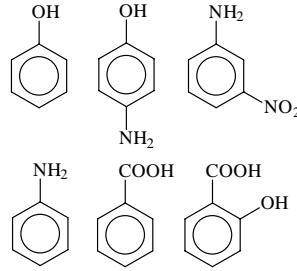
まずは, 測定条件を変えて分離の改善を...

- 保持を変化させましょう
 - 保持指数 k を変える
 - 変更する条件: 移動相組成, 温度
- 選択性を変化させましょう
 - 分離度 R_s を変える
 - 変更する条件: 移動相の種類, 移動相pH, 温度
- 分解能を変化させましょう
 - 理論段数 N , 理論段高さ H を変える
 - 変更する条件: 流速, 粘度, 温度, カラム長さ, 粒子径

有機溶媒濃度を変えてみると...

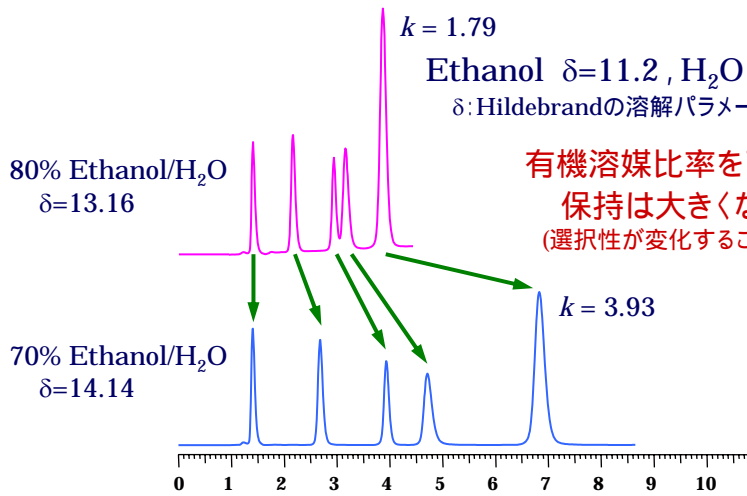


有機溶媒濃度を変えると
保持変化する！



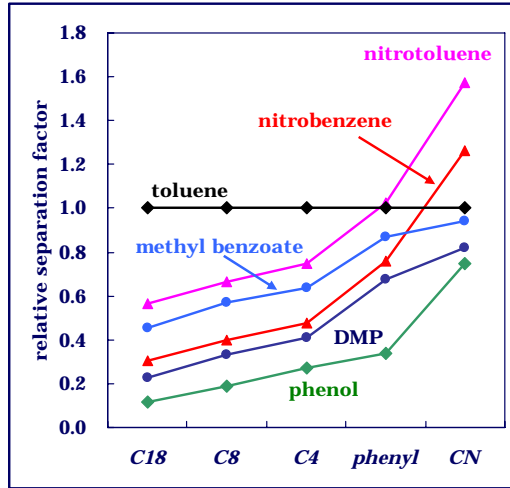
カラム: ODS-シリカ, 5 μm
 150 mm x 4.6 mm I.d.
 移動相: CH₃OH/0.05M PBS
 流量: 1.0 mL/min

有機溶媒濃度を変えてみると...

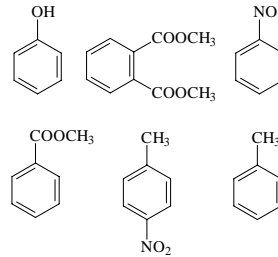


有機溶媒比率を下げると
保持は大きくなる！
(選択性が変化することもある)

固定相の種類を変えてみると...



固定相を変えると
選択性が変化する!



カラム: 化学結合型シリカ, 5 μ m
 移動相: CH₃OH/H₂O = 55/45
 流量: 1.0 mL/min
 温度: 40 °C

9

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

移動相溶媒の種類を変えてみると...

63% 2-Propanol

$\delta=14.20$

$\delta_d=6.87$

Propanol

$\delta=10.2$

$\delta_d=7.2, \delta_o=2.5$

80% Methanol

$\delta=14.52$

$\delta_d=6.22$

Methanol

$\delta=12.9$

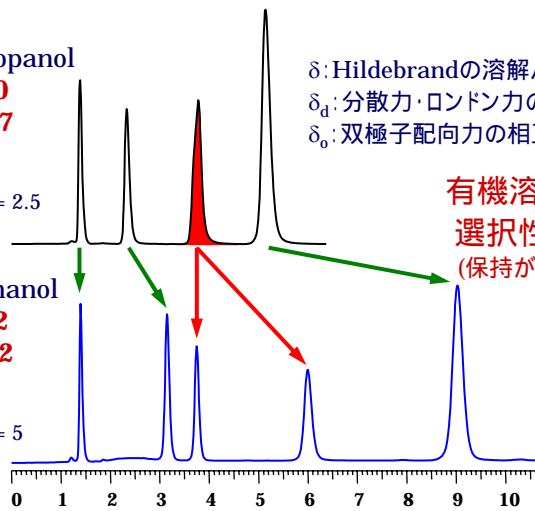
$\delta_d=6.2, \delta_o=5$

δ : Hildebrandの溶解パラメータ

δ_d : 分散力・ロンドン力の相互作用

δ_o : 双極子配向力の相互作用

有機溶媒種を変えると
選択性が変化する!
(保持が変化することもある)

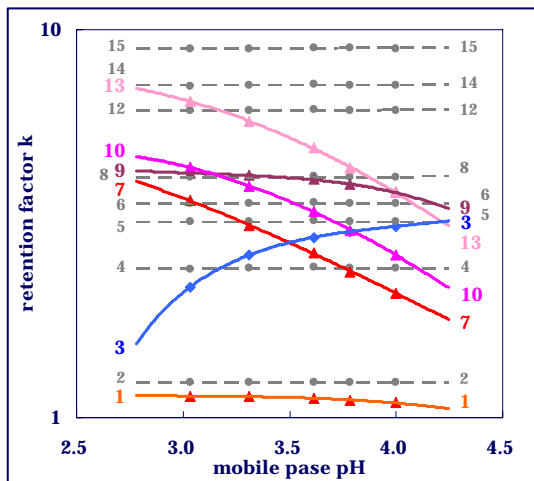


10

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

移動相pHを変えてみると...



pHを高くすると...

酸性物質

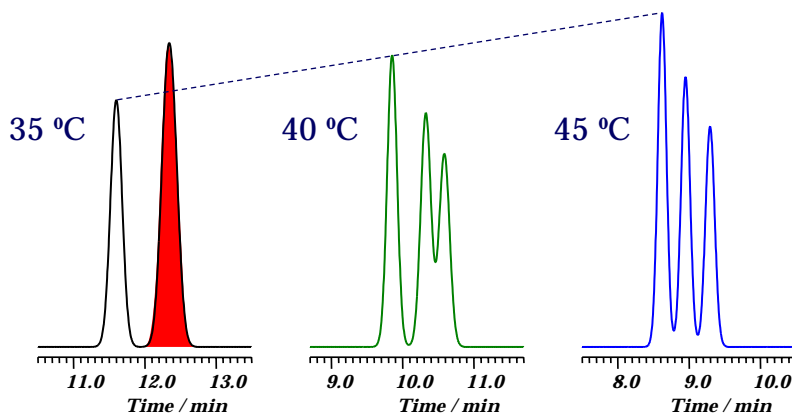
解離が促進され、見掛けの疎水性が低下する
⇒ 保持が減少

塩基性物質

解離が抑制され、見掛けの疎水性が増加する
⇒ 保持が増加

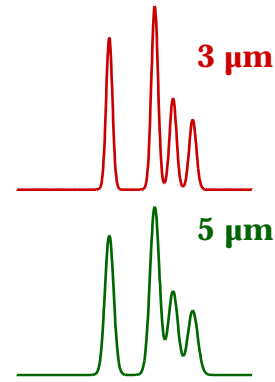
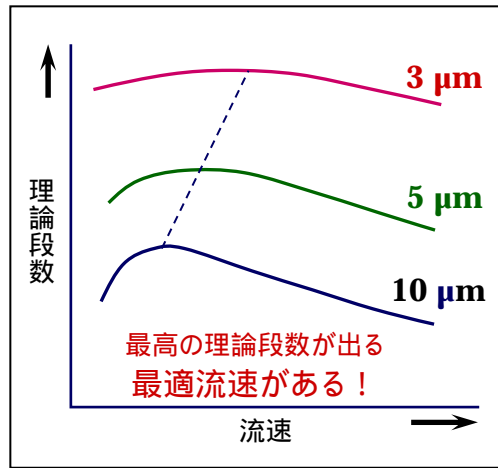
カラム : ODSシリカ, 5 μ m
150mm x 4.6mm I.d.
移動相 : CH₃CN/25mM PBS=55/45
流量 : 1.0mL/min
温度 : 40 °C
試料 : 農薬類

測定温度を変えてみると...



測定温度を高くすると理論段数が高くなる！
(保持指数は小さくなる。選択性が変化することもある)

粒子径, 移動相流速を変えてみると...



粒子径を小さくすると
理論段数は高くなる!

13

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

満足行く結果が得られな~い!!

Second Choice

- ① 逆相モードのまま選択性を大幅改善
ZirChrom[®] HPLC Column
- ② C18で保持の小さい成分の分離の改善
ZIC[®]-HILIC HPLC Column
- ③ やっぱり, 前処理?! 夾雑成分の除去
ChromaNik SPE Adsorbents

14

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

Second Choice ①

逆相モードのままです選択性を大幅改善

ZirChrom[®] HPLC Column

もっと過激な条件が使えるとしたら...

- 強酸性移動相 (pH1) が使用できたら...
 - 酸性物質の解離は抑えられるので、疎水性物質と同様に取り扱い可能になる
- 強アルカリ性移動相 (pH14) が使用できたら...
 - 塩基性物質の解離は抑えられるので、疎水性物質と同様に取り扱い可能になる
- 高温で使用できたら...
 - 拡散係数が大きくなり理論段数が向上し、分析時間も短くなる
 - 移動相の粘度が小さくなるので、いろんな種類の溶媒を使用でき、選択性改善の範囲が拡大する

HPLC用固定相の特性比較

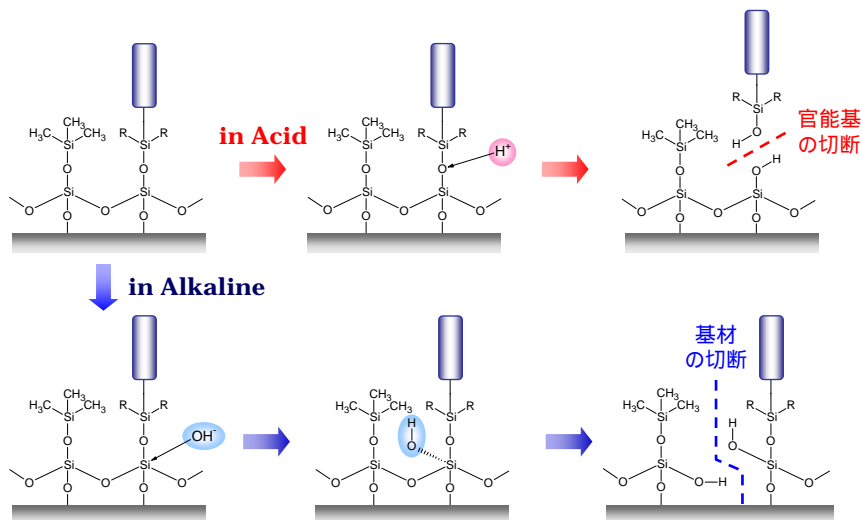
	無機系			ポリマー系	
	Silica	Titania	Zirconia	PS **	PMA **
機械的強度				~	~
使用可能 pH範囲 *	2 ~ 10 (3 ~ 8)	1 ~ 12 (2 ~ 10)	1 ~ 12 (2 ~ 10)	1 ~ 14 (2 ~ 12)	2 ~ 12 (3 ~ 10)
使用可能 最高温度 *	~ 50 °C (~ 40 °C)	~ 200 °C (~ 60 °C)	~ 200 °C (~ 60 °C)	~ 140 °C (~ 60 °C)	~ 100 °C (~ 60 °C)
等イオン点	2.0 ~ 2.5	6.5 ~ 7.0	6.0 ~ 6.5	-	-
特異的な相互作用	イオン交換 吸着	イオン交換 Lewis acid	イオン交換 Lewis acid	π-π 相互作用	親水性 相互作用
細孔調整の容易さ					
化学修飾の容易さ					

* 官能基・導入方法によって異なる。 ** PS: ポリスチレン系ポリマー, PMA: ポリメタクリレート系ポリマー

17

2006/09/01 JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

酸性/アルカリ性下でのシリカゲルの分解



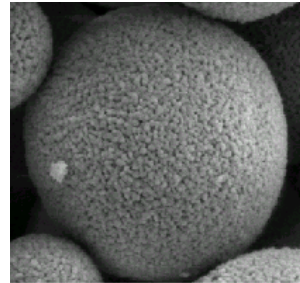
18

2006/09/01 JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

球状多孔性ジルコニア粒子と物性



2 μm



1 μm

Column	Unit	Silica		Zirconia
Pore size	nm	12	30	30
Specific surface area	m ² /g	250~350	75~100	22
Packing weight/column*	g/col.	1.4	1.3	5.5
Surface area/column*	m ² /col.	350~490	98~130	120

* Column size: 150 x 4.6 mm I.D.

19

2006/09/01

JAIMA 2006 株式会社クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

ジルコニア基材HPLC固定相 ZirChrom[®]

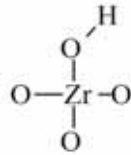
- ジルコニアの主な長所
 - 化学的安定性が高い (pH 1 ~ 14)
 - 熱的安定性が高い (~ 200 °C)
 - 機械的安定性が高く、膨潤/収縮しない
- 高い化学的安定性
 - 測定対象に最も適した条件で分離可能
 - 高イオン性物質を単純なイオン抑制法で分離可能
 - イオンペア剤が不要なためシンプルな条件設定が可能
- 高い熱的安定性
 - 分離平衡が速やかになり、シャープなピークが得られる
 - 保持容量が小さくなり、ハイスループット分離が可能

20

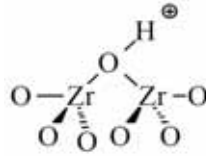
2006/09/01

JAIMA 2006 株式会社クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

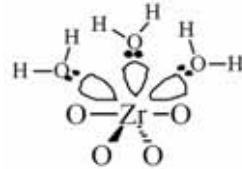
ジルコニアの表面化学



a) Brønsted acid site
(cation exchange)



b) Brønsted base site
(anion exchange)



c) Lewis acid site
(ligand exchange)

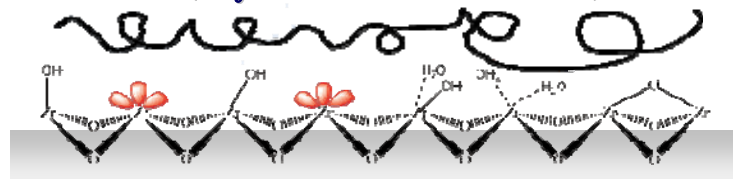
Brønsted acidと**Brønsted base**は、**イオン交換作用**を生み出します。酸性溶液中では陽イオン交換，塩基性溶液中では陰イオン交換体となり，等イオン点はpH 6付近にあります。

Lewis acidは、**表面に多量に存在し**、**配位子交換作用**を生み出します。移動相中の成分がこれらのサイトに化学吸着して層を形成し，配位子交換が行われます。但し，化合物によっては，不可逆吸着する恐れもあります。

ジルコニア表面の不活性化技術

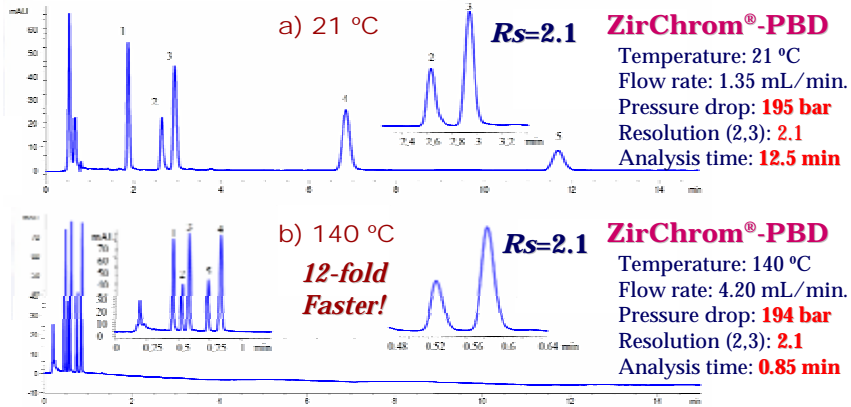
- Lewis acid siteはHPLCにおいては有利ではない
 - 等イオン点でも，リン酸，有機酸，フッ化物イオン等が吸着
- ジルコニア表面のポリマーコート
 - 不活性ポリマーコーティングでLewis acidの影響を低減
 - 疎水性ポリマーのコーティング層は逆相固定相
 - 全pH範囲で，高温（～200 °C）での分離が可能

ZirChrom[®]-PBD (Polybutadiene coated Zirconia)



抗ヒスタミン剤の高温・高速分離

1=Doxylamine, 2=Methapyrilene, 3=Chlorpheniramine, 4=Triprolidine, 5=Meclizine



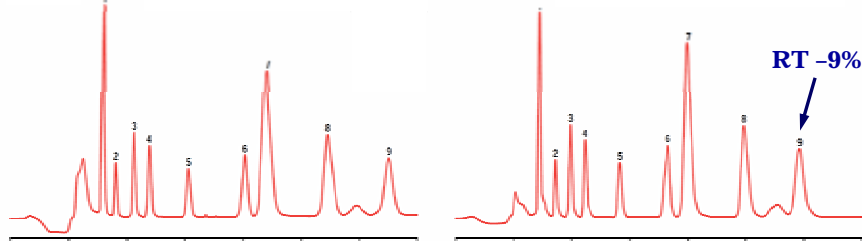
Mobile Phase, a) 20.5/79.5 ACN/50mM Tetramethylammonium hydroxide, pH 12.2;
 b) 26.5/73.5 ACN/50mM Tetramethylammonium hydroxide, pH 12.2;
 Injection volume, a) 0.2 µL, b) 0.5 µL; detection, UV @ 254 nm

23

2006/09/01 JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

高pH条件 (pH12) 下での長期安定性

a) Before (Initial Injection) **b) After (15,000 column volumes)**
37,393 mL = 623 Hour



LC CONDITIONS

ZirChrom®-PBD, 150 x 4.6 mm, Mobile phase: 28/72 ACN/20 mM Potassium phosphate, pH 12.0
 Flow rate: 1.0 mL/min, Injection volume: 5 µL, Temperature: 30 °C, Detection: UV @ 254 nm

ANALYTES: β-Blockers

1 - Labetalol, 2 - Atenolol, 3 - Acebutolol, 4 - Metoprolol, 5 - Oxeprenolol, 6 - Lidocaine,
 7 - Quinidine, 8 - Alprenolol, 9 - Propranolol

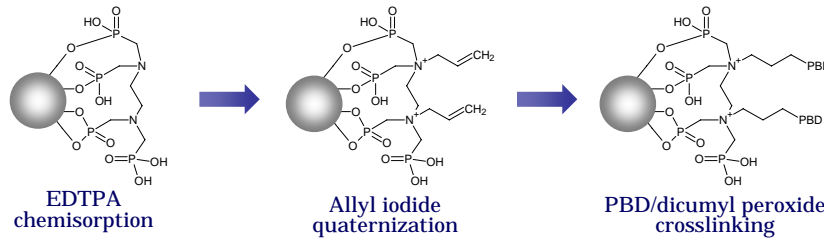
24

2006/09/01 JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

Lewis acid不活性化カラム ZirChrom®-MS

- Lewis acidを極限まで不活性化してあります
- 塩基性物質の分離に特長ある選択性を示します
- 広範囲pHで使用可能です (pH 1 ~ 10)
 - EDTPA*を移動相に添加することでpH 12まで使用可能です
- 室温でも対称性良好なピーク形状を示します

* EDTPA : Ethylenediamine N,N,N',N'-tetra(methylenephosphonic acid)

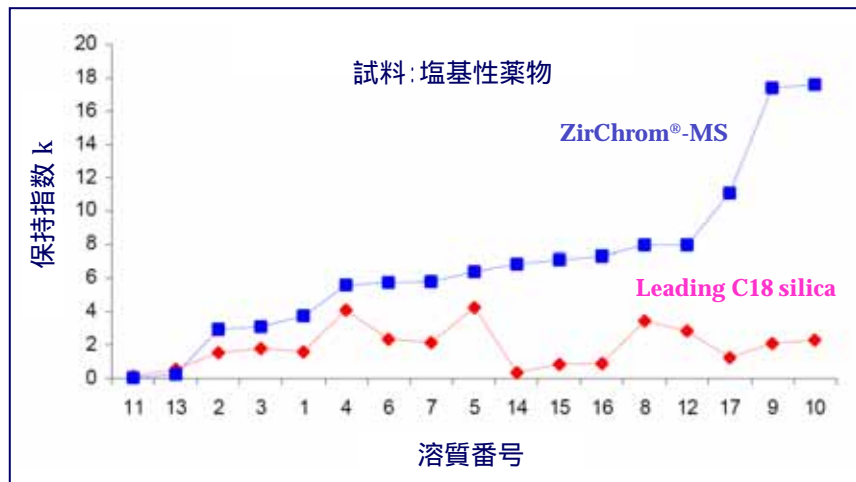


25

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジーズ 新技術説明会

ZirChrom®-MSと市販C₁₈との保持比較

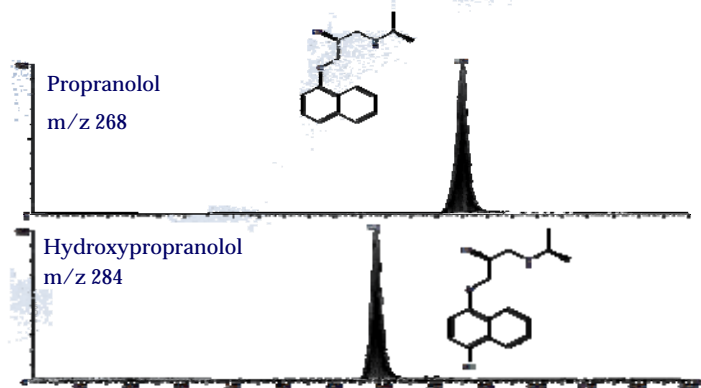


26

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジーズ 新技術説明会

HPLC-MSによる塩基性医薬品の測定



LC Conditions: Column, ZirChrom®-MS, 5 x 2.1 mm i.d. (3 μm). Mobile phases channel C=10mM ammonium acetate at pH 5, channel D=10mM ammonium acetate at pH 5:acetonitrile (10:90, v/v) . Linear gradient 5% D to 100% D in 6 min, hold 100% 6-7.4 min, 100 to 5% D 7.4-8.1min, hold 5% D 8.1-13.0 min. Flow rate, 0.2mL/min, Waters/Micromass ZQ single quadrupole interfaced with the LC using an electrospray ionization (ESI) interface. Positive ion mode (XIC) from full scan acquisitions from m/z 120-700. Temperature, 35 °C. Solute concentrations = 10 μg/mL, 2μL injections.

27

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジーズ 新技術説明会

Second Choice ①: ZirChrom® column

- 高安定性カラムを用いることで、測定対象に最も合った条件で分離を行うことが可能です
- 強酸、強アルカリ条件を用いることで、単純なイオン抑制法で逆相分離が可能です
- 高温条件を用いることで、分解能の向上と同時に高速分離も可能となります
- ジルコニア基材逆相カラムは、Lewis acid・イオン交換相互作用により、C18シリカとは異なる選択性を示します
- 中性化合物は、C18シリカ類似の保持挙動を示します
- 塩基性薬物の分離改善には - **ZirChrom® column !!**

28

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジーズ 新技術説明会

Second Choice ②

C18で保持の小さい成分の分離の改善
ZIC[®]-HILIC HPLC Column

親水性化合物だけを保持することができたら...

- 逆相モードと溶出順序が逆転できたら...
 - C18には保持されない、あるいは保持し難い親水性化合物の分離が可能になる
 - 疎水性化合物がカラム内に残存して、性能が劣化するようなことはなくなる
- それも、単純な分配モードで分離ができたら...
 - 水 - 有機溶媒系で親水性化合物の分離が可能になる
 - イオン抑制法のような強酸/強アルカリを使用しないでよい
 - イオンペア剤を用いないのでLC-MSと結合し易くなる
 - イオン交換のような厳密で煩雑な緩衝液調整から開放される

順相モード (NP) vs. 逆相モード (RP)

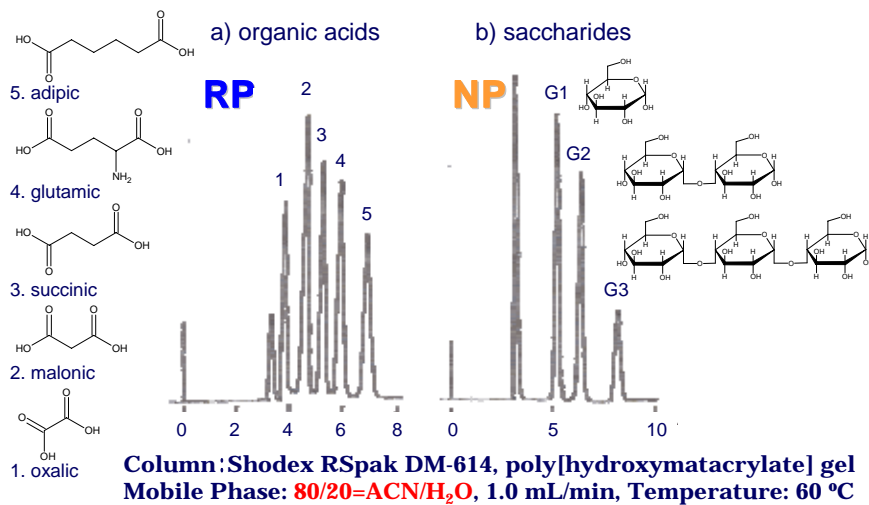
	順相 (NP)	逆相 (RP)
固定相の極性	高極性 (親水性)	低極性 (疎水性)
移動相の極性	低極性 (疎水性)	高極性 (親水性)
溶質の溶出順	低極性から	高極性から
溶媒極性と保持挙動		

31

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

親水性樹脂を用いたときの変な挙動...



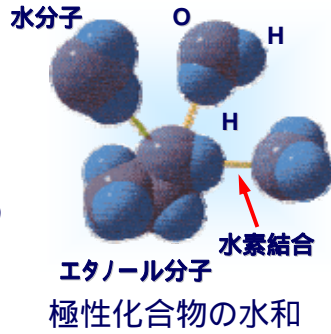
32

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

親水性固定相における順相分配

親水性官能基の周りには水分子が多数集まり、水素結合によって、繋がって水層（水和層）を形成します。水に溶解易い化合物ほど、この水和層に取り込まれます。この水和相への取込まれ易さ（分配）の差を利用して親水性化合物を分離します。

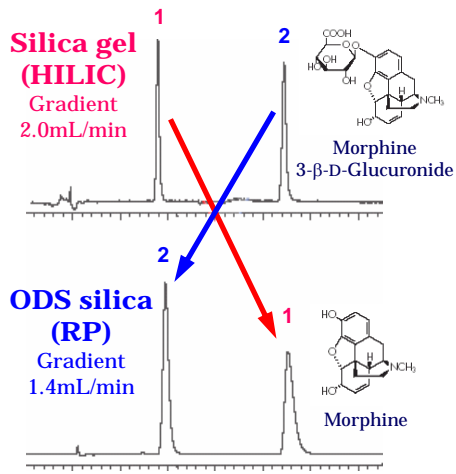
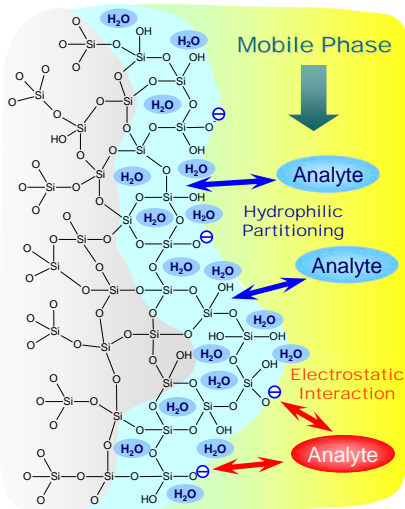


親水性相互作用クロマトグラフィー: HILIC

Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography



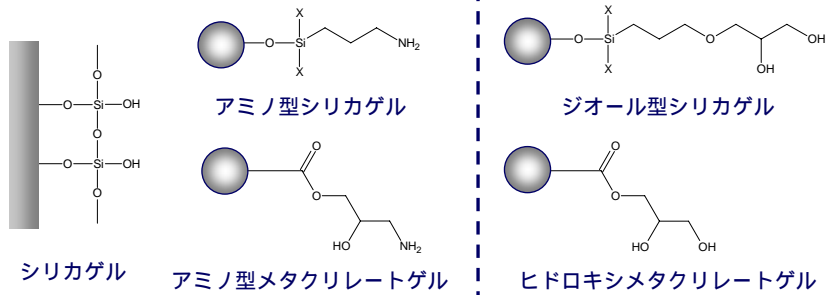
Silica-HILICにおける保持機構



日本ウォーターズ試薬料を基に作成



極性基 (親水基) を持つ固定相



荷電型

- ・水和層は比較的強い
- ・明確なイオン相互作用を持つ
- ・高濃度緩衝液が必要
- ・選択性が優れる

中性型 (無電荷型)

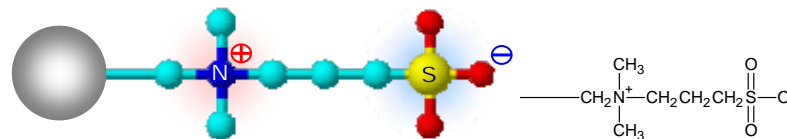
- ・水和層が弱い
- ・イオン相互作用は弱い/ない
- ・低塩濃度での分離が可能
- ・選択性は乏しい

35

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

ZIC[®]-HILIC/*p*HILICの官能基構造



ZIC[®]-HILICのスルホベタイン構造は、
Chaotropic理論に基づき設計された官能基です。
 表層に強く安定した水和層を形成できるため、
 HILICモードに最も適した化学構造です。

カオトロピックイオン (Chaotropic ions)

Anion: $\text{Br}_3\text{CCOO}^- > \text{Cl}_3\text{CCOO}^- > \text{SCN}^-$, guanidinium $> \text{I}^-$, ClO_4^-
 $> \text{Cl}_2\text{CHCOO}^- > \text{NO}_3^-$, $\text{Br}^- > \text{Cl}^- > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{F}^- > \text{SO}_4^{2-}$

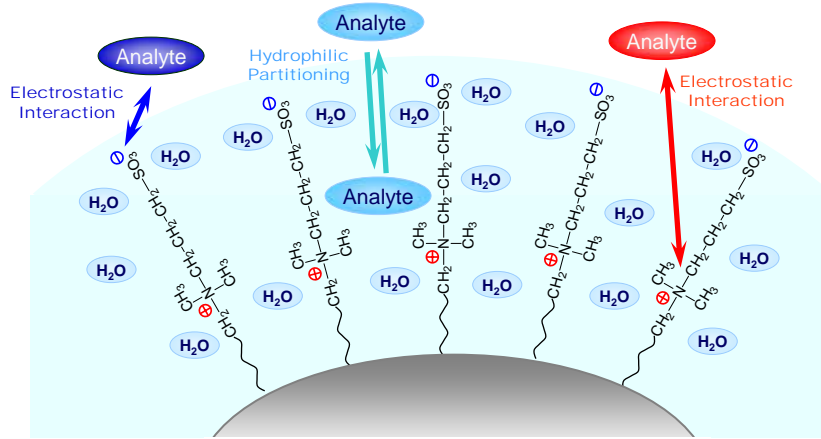
Cation: $\text{Ba}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Li}^+ > \text{Cs}^+$, Na^+ , K^+ , $\text{Rb}^+ > \text{NH}_4^+ > (\text{CH}_3)_4\text{N}^+$

36

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

ZIC®-HILIC/pHILICの保持機構

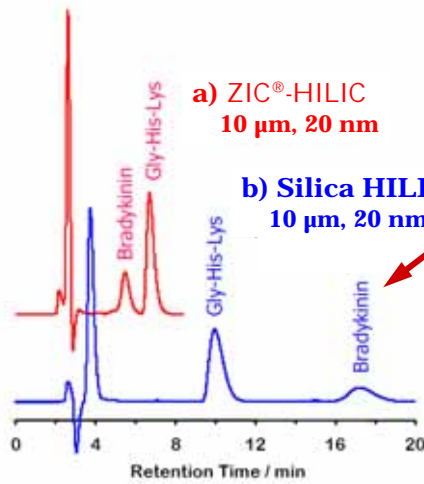


37

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

HILICシリカとの保持比較- ペプチドの分離



イオン交換相互作用に基づいて保持される。イオン強度を高くしないと良好なピークとならない。

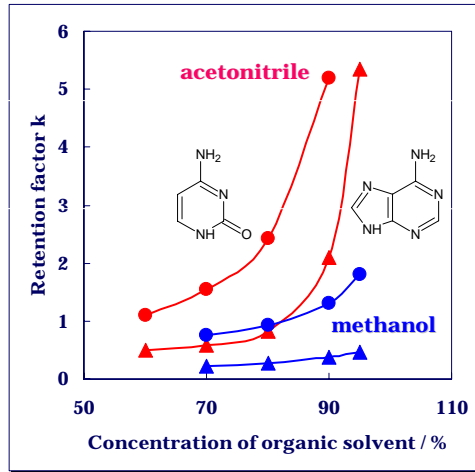
カラム:
ZIC®-HILIC, 100 x 4.6 mm, 10 μm
溶離液:
50/50= ACN/50 mM AcONH₄, pH 6.7
流速: 0.5 mL/min
検出: UV @ 214 nm

38

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

アセトニトリルおよびメタノール濃度と保持指数



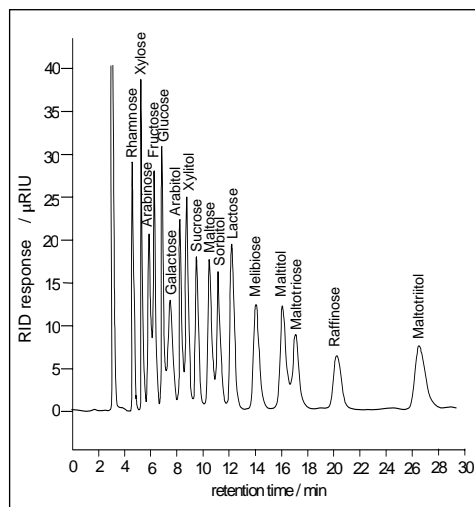
HILICにおける溶媒強度

THF < acetone < ACN
< IPA < ethanol < water

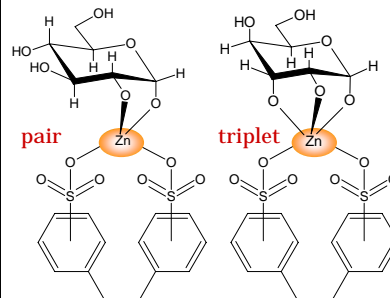
Column; ZIC®-HILIC 150 x 4.6 mm
Mobile phase: 10 mM formic acid

Legend:
(circles) cytosine
(triangles) adenine

身近にあります, HILICモード! 糖の分離



金属と糖との配位



カラム: Sulfonated Polystyrene gel
Zn form, 6 μm, 150 x 6.0 mm I.d.
移動相: CH₃CN/H₂O
流量: 1.0 mL/min
試料: Saccharides

Second Choice ②: ZIC®-HILIC column

- HILICモードを用いることで、溶出順序を逆転できます
 - 一般に、HILICの保持挙動は逆相モードとは逆になります
- HILICモードを用いることで、C18に保持され難い高極性化合物の分離を行うことが可能です
- Chaotropic理論に基づき設計されたスルホベタイン型官能基は、その強い水和力により安定した水和層を形成しますので、再現性の良い安定した分離が行えます
- 静電的相互作用が低いため低イオン強度の移動相で分離が行えますので、LC-MSへの適用が容易です
- 極性化合物の分離改善には - ZIC®-HILIC column

Second Choice ③

やっぱり、前処理?! 夾雑成分の除去
ChromaNik SPE Adsorbents

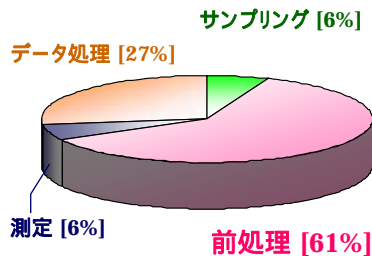
前処理とは？

測定が行いやすいように、
共存成分が測定対象の妨害とならないように、
さらに、測定機器に影響を与えないように、
測定を行う前に試料を処理すること

- 測定妨害物質の除去
- 測定対象成分の濃縮 / 精製
- カラムや分析機器の保護と劣化の防止
- 測定操作や手順の簡易化
- 特異性, 精度, 信頼性, 感度などの向上

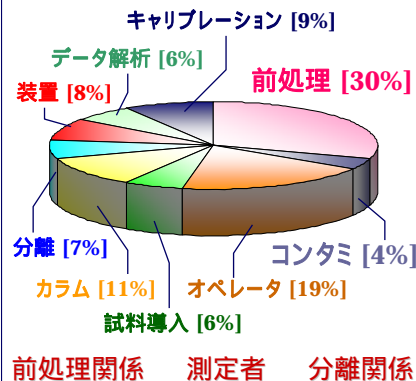
前処理は本当に必要か？

分析工程と所要時間



分析に関わる時間の半分以上は
前処理に費やされています!!

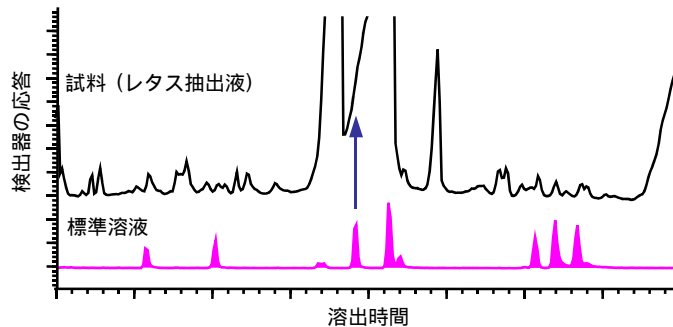
分析工程とエラーの発生



『環境測定 絵とき基本用語』, YAN環境測定技術委員会編, オーム社, 2000年, p.45から引用, 一部加筆

十分な試料前処理を行わないと...

- 分離だけに頼っていても、信頼性の確保は難しい!!!
 - 複雑な混合物では、分離と検出そして前処理との融合が必須
 - 分離や特異性には限界があるので、やはり前処理は必要です



『環境測定 絵とき基本用語』, YAN環境測定技術委員会編, オーム社, 2000年, p.45から引用, 一部加筆

45

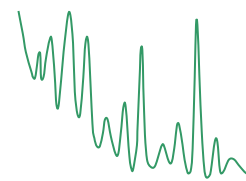
2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

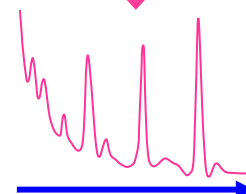
固相抽出 (SPE) 法を利用すると...

- 高回収率, 高精度, 迅速性, 簡便性, 安全性, 低コスト
- 溶媒低減, 自動化が容易, フィールドサンプリングが可能
- 使用溶媒の制限が少なく適用範囲が広い
 - 液-液抽出は水溶性溶媒が使用不可
- 抽出の選択性を容易に変化させることが可能
 - 異なるモードの組み合わせが可能

【液-液抽出】



【固相抽出】

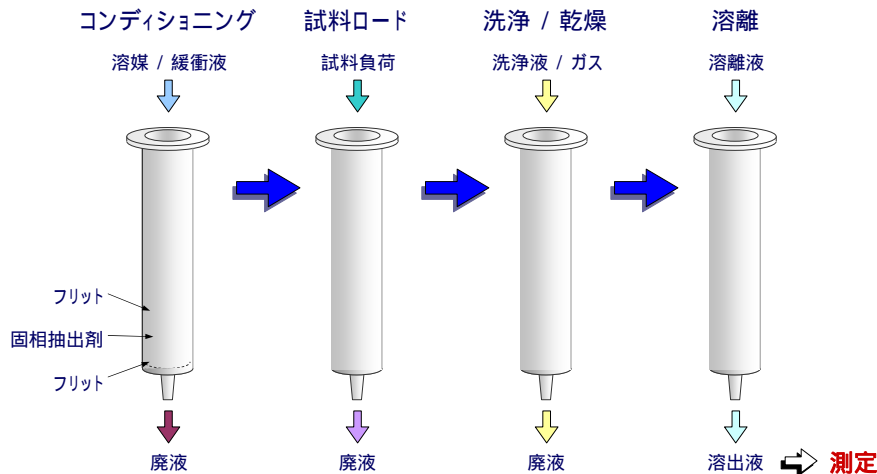


46

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

固相抽出法の基本的手順



47

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

固相抽出法における注意すべきポイントは...

- **コンディショニング・溶媒和**
 - 固相抽出剤を**活性化**させると同時に固相抽出剤の**洗浄**を行う
 - 溶媒置換による**バラツキ**, 固相抽出剤の**ブランク**を確認する
- **試料負荷**
 - **調整した**試料溶液から測定対象を固相抽出剤に**保持**させる
 - 保持条件 (試料液性, 流量等), 容器等への**吸着**を確認する
- **固相抽出剤の洗浄**
 - 固相抽出剤に**吸着付着した不要物**を洗い流す
 - 塩類等の**除去率**, 目的物の**漏出が無い**ことを確認する
- **固相抽出剤の脱水・乾燥**
 - **溶出条件適合**するように固相抽出剤の水分除去・乾燥を行う
 - **実際に溶出**を行い**回収率・バラツキ**を確認する

48

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニックテクノロジーズ 新技術説明会

水系試料の前処理に適した固相抽出剤は...

- 保持力
 - 測定対象に対して十分な疎水性を持つこと
 - 疎水性が強すぎると溶離液量が多くなる
- 濡れ性
 - 水との濡れ性があり、細孔内部まで浸透すること
 - 濡れ性を高くする(親水基量を増加する)と、疎水基量が減り、保持が小さくなる
- 保水性
 - 適度な保水性があり、容易に乾燥しないこと
 - 保水性が高すぎると、非水系溶離剤での溶離が不完全になる
 - 溶離液中に水が入り込み、溶出液の濃縮が困難になる

固相抽出剤に濡れ性・保水性があると...

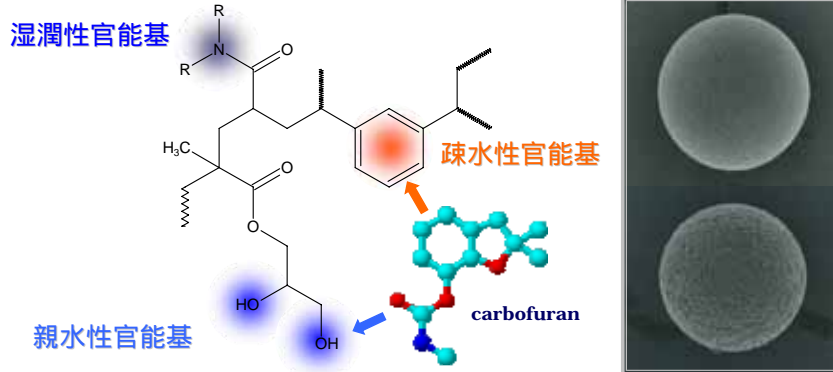
- コンディショニング・溶媒和
 - 乾燥し難くなり、コンディショニングのバラツキが小さくなる
- 試料負荷・保持
 - 試料溶液が細孔内部まで浸透し、捕捉有効表面積が増加する
 - 対象成分の極性基が親水性相互作用によりマスクされ、疎水性相互作用的保持力を増加させる
- 溶離・溶出
 - 固相抽出剤が完全に乾燥しないため、利点と欠点がある
 - 極性溶媒での溶離が安定しているが、非水系溶媒でバラツキが生じ易い
 - 溶出液中に水が残るため、溶出液の気化濃縮に時間がかかる

疎水性/親水性 (濡れ性・保水性) のバランスが重要!!

ChromaNik SPE-RP (試作品/参考出展)

湿潤性を最適化した疎水性ポリマー系固相抽出剤

WBC Technology により設計された *Wetting Balanced Copolymer*



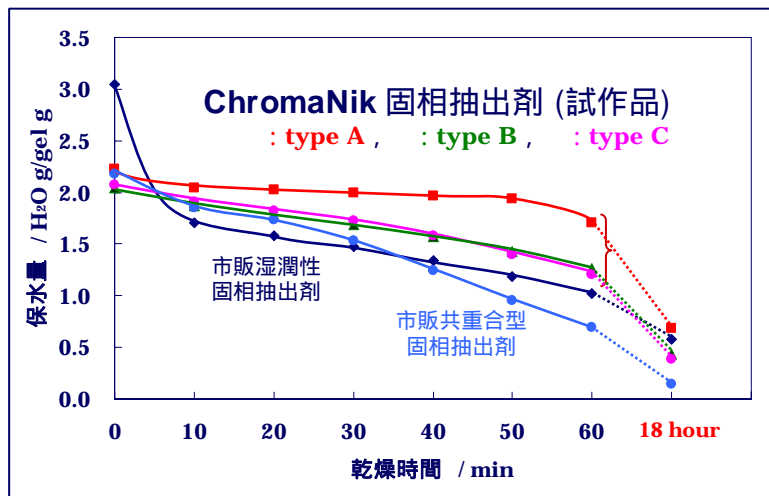
51

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジーズ 新技術説明会



試作逆相型固相抽出剤の保水性



52

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジーズ 新技術説明会



逆相モードでクリーンアップできない場合は...

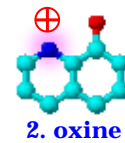
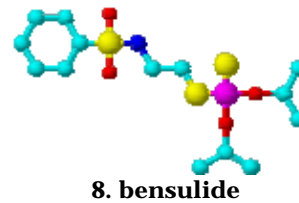
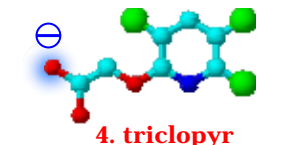
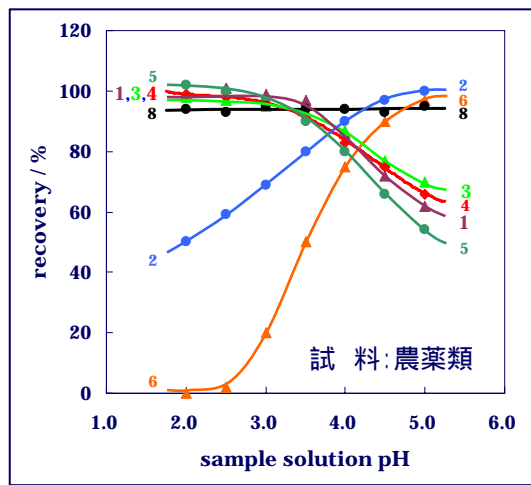
- 固相抽出剤の変更
 - 疎水基の種類, 基材の変更
- 複合モードの利用
 - 逆相 + イオン交換 (イオン性官能基を持つ化合物)
- HILICモードの利用
 - 親水性相互作用 (逆相モードで保持されない化合物)
- イオン交換モードの利用
 - 明確なイオン性を示す化合物
- その他
 - 配位子交換, 錯形成, アフィニティ等のモードを検討する

53

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

試料pHが変わると回収率が変化する?!



54

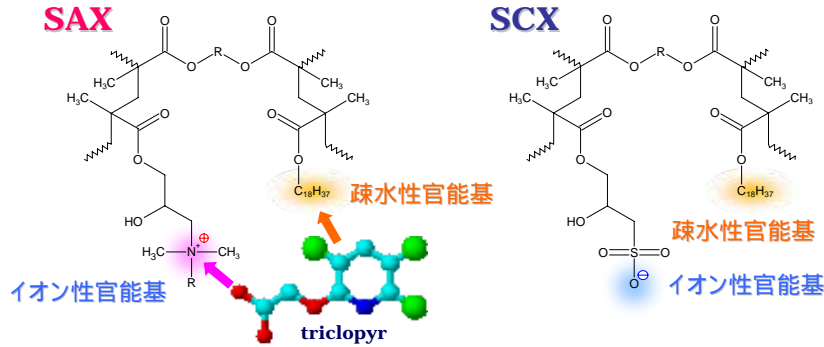
2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

ChromaNik SPE-RP/Ex (試作品/参考出展)

極性化合物用複合モード型ポリマー系固相抽出剤

疎水性基材に親水基/イオン性基を導入した *Bimodal Copolymer*

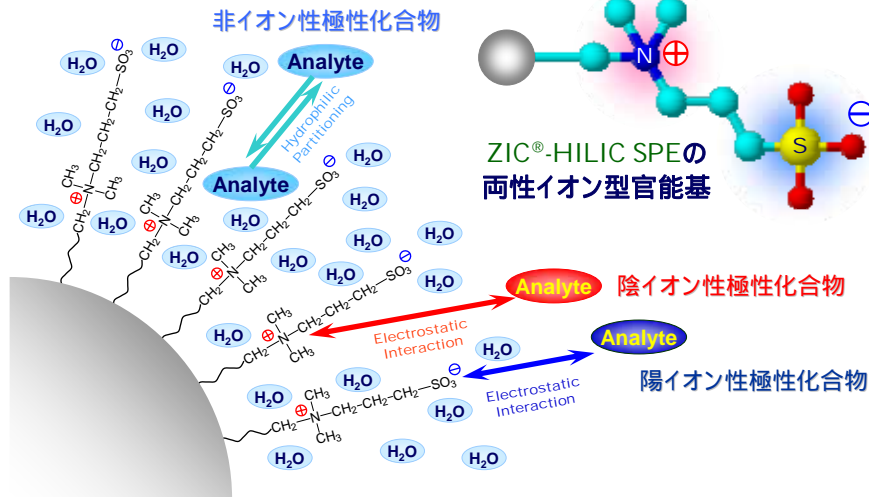


第92回食品衛生学会にて発表予定: 2006年10月26日~27日 中部大学 (春日井市)

固相抽出におけるHILICモードの利点は...

- HILICモードは、逆相モードと異なる選択性
 - 逆相モードとは逆の保持特性を示しますので、極性化合物の前処理に有用です
 - 溶離液には水を用いますので、RP-HPLCを用いる場合には、良好な分離と感度を得られます
 - 逆相型SPEの溶出液の精製や液性調整にも利用可能です
- ZIC®-HILICの高水和性両性イオン型官能基
 - *Chaotropic*理論に基づき設計された官能基を導入しています
 - "*Anti-Chaotropic*" スルホベタイン型官能基は、非常に安定した強い水和層を形成します
 - ZIC®-HILIC SPEの親水性相互作用は、共存成分の影響を受け難いため、極性化合物の前処理に最適です

ZIC®-HILIC SPE における保持機構



57

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

Second Choice ③: SPEによる前処理

- やっぱり, 前処理は必要です
 - 前処理すれば, 分離のリスクが低減し, 信頼性が向上します
- まず, 逆相モードの固相抽出剤でトライしましょう
 - 固相抽出剤は疎水性と親水性/保水性のバランスが重要です
 - ChromaNikにご相談下さい
- Bimodalモードを用いることで, 捕捉特性を改善できます
 - イオン性化合物の場合には, 逆相 + イオン交換を試みましょう
 - ChromaNikにご相談下さい
- HILICモードの使用で, 高極性化合物を捕捉できます
 - 逆相モードとは反対の捕捉特性を示します
 - 高極性化合物のクリーンアップには - ZIC®-HILIC SPE

58

2006/09/01

JAIMA 2006 ㈱クロマニクテクノロジー 新技術説明会

Second Choice 分離の改善

- **First Choice** は、C18カラム
 - First Trial Conditionでの分離結果を見て、分離を改善する
- **Second Choice ① 高安定性固定相の使用**
 - 測定対象に最も合った条件で分離を改善
 - 特に、塩基性薬物の分離改善には - **ZirChrom® column !!**
- **Second Choice ② HILICモードの使用**
 - C18に保持され難い高極性化合物の分離を改善
 - 極性化合物の分離改善には - **ZIC®-HILIC column**
- **Second Choice ③ WBC固相抽出剤の使用**
 - 疎水性/湿潤性バランスの取れた固相抽出剤で回収率の向上
 - 前処理で困ったら - **ChromaNik SPE, ZIC®-HILIC SPE**

分離剤の新たな機能を創造する

ChromaNik Technologies Inc.

ご清聴ありがとうございました