

# 一味違う！ 極性化合物のための 固相抽出剤！

極性化合物の前処理に最適な  
新規二足型逆相系固相抽出剤とHILIC型固相抽出剤の  
基本特性とその有用性について紹介いたします

2007/8/31 15:50-16:15 A-5会場  
於：アパホテル&リゾート 東京ベイ幕張 ホール

**ChromaNik** (株)クロマニックテクノロジーズ

**固相抽出剤における**

# *selectivity*

**(試料捕捉の選択性)**

1

**固相抽出法における注意すべき点は...**

- **コンディショニング・溶媒和**
  - 固相抽出剤の**活性化**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**, **固相抽出剤ブランク**を確認
- **試料負荷**
  - **調整した試料**から測定対象を固相抽出剤に**保持**させる
  - **保持条件** (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**
  - **溶出条件合うように**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

2

**水系試料に適した固相抽出剤は...**

- **捕捉力/保持力**
  - 測定対象に対して十分な**疎水性**を持つこと
    - 測定対象に対する**有効表面積の大きさ**が重要
    - 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
    - 適切な**親水基**を適量導入
    - 濡れ性を高くすると, **疎水基量**が減り, **保持**が小さくなる
- **保水性/湿潤性**
  - 適度な**保水性**があり, **容易に乾燥**しないこと
    - 適切な保水性を持つ**官能基**を適量導入
    - 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

3

**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, **コンディショニングのバラツキ**が減少
- **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
  - 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**
  - 固相抽出剤が乾燥し難いため, **利点と欠点**がある
    - 極性溶媒での**溶離**は問題ないが, **非水溶媒**で**バラツキ**が生じる
    - 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!!**

4

**ポリマー系固相抽出剤の変遷**

ポリスチレンゲル → 極性基の導入 → 保水基の導入

↓

極性基の導入 → 極性基の水和性増加 → 保水基の導入

5

**ChromaNik P's-phase adsorbent**

**十分な捕捉性と, 十分な濡れ性/保水性を併せ持つ!**

*P's-phase RPA*

極性基/保水基

疎水基

Base resin: DVB/acrylamide copolymer  
Pore size: 10.0nm, Specific surface area: 800 m<sup>2</sup>/g

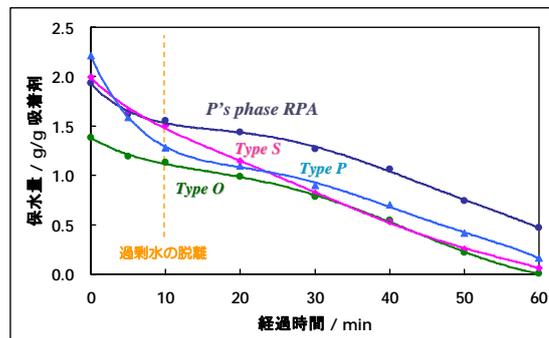
6

## ChromaNik P's-phase の特長

- 高疎水性基材に、濡れ性/保水性を示すアミド基の導入により捕捉性を大幅に向上
- 保水性/湿潤性の向上でコンディショニングによるバラツキを低減
- 水素結合性の向上で高極性含窒素化合物の捕捉・濃縮・クリーンアップに有効
- 従来の極性基導入型固相抽出剤とは異なる選択性
- シリンジ型/ルアー型からマイクロプレートまで多彩なフォーマット

7

## ポリマー系固相抽出剤の保水性比較



8

## 固相抽出剤の捕捉特性の評価

固相抽出剤をカラムに充填し、液体クロマトグラフィーを行い、測定対象の溶出時間を測定します。固相抽出法では評価できない捕捉力、選択性等を知ることができます。結果から、試料溶液の調整条件、洗浄液や溶出液の種類・組成の選定、回収率の推定も可能です。

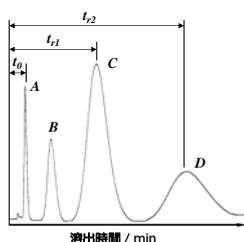


HPLC  
CH<sub>3</sub>OH or CH<sub>3</sub>CN  
in buffer solution

SPE adsorbent  
in HPLC column

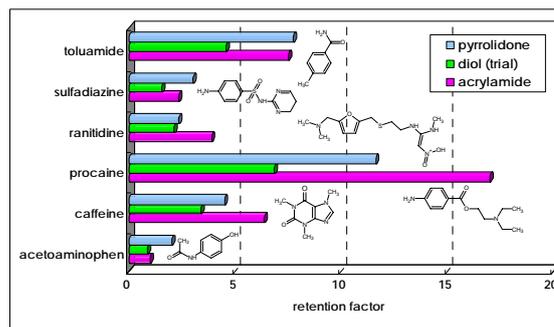
保持指数 (retention factor)

$$k_1 = \frac{t_{r1}}{t_0} - 1 \quad k_2 = \frac{t_{r2}}{t_0} - 1$$



9

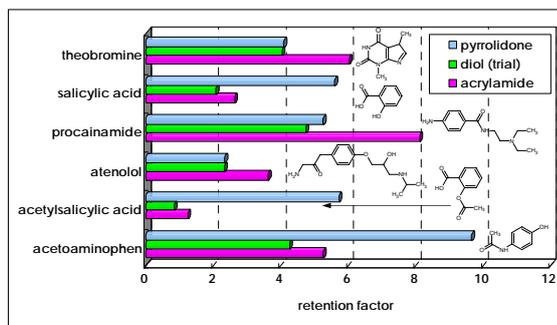
## 逆相型固相抽出剤における捕捉特性



Mobile phase: 40% CH<sub>3</sub>OH/acetate buffer (pH 7.0), Temperature: 40 °C

10

## 逆相型固相抽出剤における捕捉特性

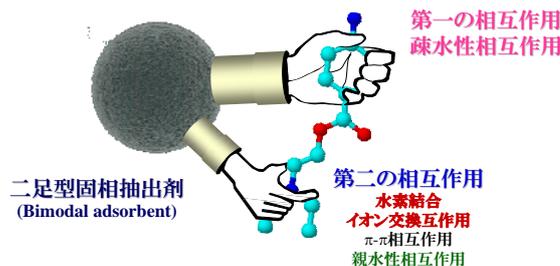


Mobile phase: 20% CH<sub>3</sub>OH/acetate buffer (pH 7.0), Temperature: 40 °C

11

## 逆相モードで高回収率が得られない...

極性化合物を確実に捕捉させるには第二の手が必要！



12

### ChromaNik *P's-phase* SAX, WAX, SCX

*P's-phase* SAX      *P's-phase* WAX      *P's-phase* SCX

Base resin: DVB/Acrylamide copolymer  
Pore size: 10.0 nm, Specific surface area: 650 m<sup>2</sup>/g

13

### 逆相陰イオン交換型における保持特性

Mobile phase: 40% CH<sub>3</sub>OH/acetate buffer (pH 7.0), Temperature: 40 °C

14

### 逆相陽イオン交換型における保持特性

Mobile phase: 20% CH<sub>3</sub>OH/acetate buffer (pH 7.0), Temperature: 40 °C

15

### 金属分析にも固相抽出法?!

*P's-phase* MCA      *P's-phase* MCM  
Hydrophobic PAC type chelate resin      Hydrophilic PAC type chelate resin  
Base resin: DVB/Acrylamide copolymer      Base resin: Methacrylate copolymer

長鎖アミノカルボン酸型キレート性官能基

16

### 長鎖アミノカルボン酸型のメリット

Metal-EDTA Chelate      Long chain PAC Chelate

自由度が高く EDTAライクな錯形成が可能!

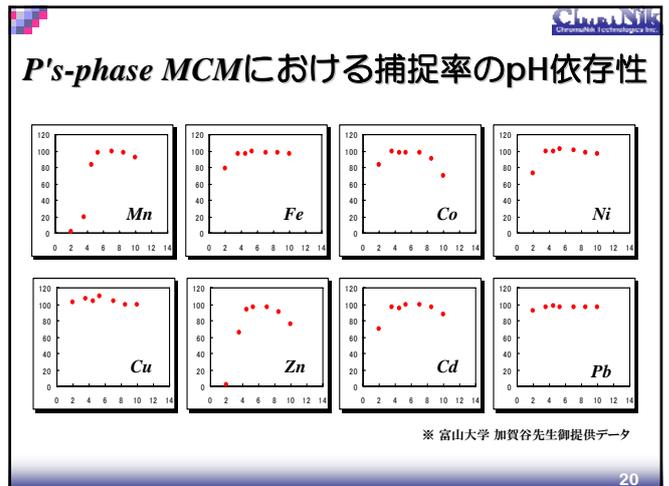
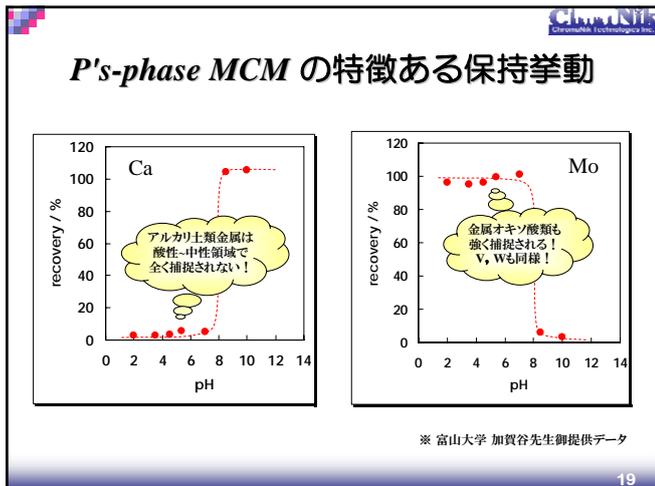
\* PAC: polyaminocarboxylic acid

17

### *P's-phase* MCA and MCM の特長

- 長鎖アミノカルボン酸の導入により広pH範囲で多数の金属元素を高度に捕捉
- 酸性域ではアルカリ金属、アルカリ土類金属の影響を受けず重金属元素の捕捉が可能
- Mo, W, V等の金属オキソ酸も捕捉可能
- 疎水性 (MCA) と親水性 (MCM) の異なる基材の2種を用意。MCAは疎水性有機物の除去も可能
- ICP, AA分析のマトリックス除去や金属元素の濃縮, IC分析の金属除去, 金属配位性化合物の前処理に有効

18



### ChromaNik P's-Phase series

タイプ	固相抽出剤	粒子径 [μm]	官能基量 [mmol/g]	主な用途
RPA	アミド基導入疎水性樹脂	70	—	疎水性化合物の濃縮・捕捉
SAX	強陰イオン交換基導入疎水性樹脂	70	0.5	陰イオン/疎水性化合物の濃縮・捕捉
WAX	弱陰イオン交換基導入疎水性樹脂	70	0.3	陰イオン/疎水性化合物の濃縮・捕捉
SCX	強陽イオン交換基導入疎水性樹脂	70	0.3	陽イオン/疎水性化合物の濃縮・捕捉
MCA	長鎖キレート性基導入疎水性樹脂	70	0.25 (Cu)	金属の濃縮・捕捉 疎水性物質の除去
MCM	長鎖キレート性基導入親水性樹脂	70	0.3 (Cu)	金属の濃縮・捕捉

21



### P's-phase Cartridge Format

- シリンジ型
  - 充填量：30 mg (1 mL type), 60, 150 mg (3 mL type)
- ルアー型
  - Type M：0.5 mL, Type L：0.8 mL, Type LL：1.6 mL
  - Type Mini (内容積：0.05 mL) は特注で対応可能
- Micro Plate 96-well 型
  - 充填量：30 mg

エンブティカートリッジも販売しております。お問合せ下さい！

23

### 逆相モードで前処理できない場合は...

- 固相抽出剤の変更/選択性の変更
  - 疎水基バランス, 二次効果の変更 ⇨ **P's-phase RPA**
- 複合モード固相抽出剤の利用
  - イオン交換をプラス ⇨ **P's-phase SAX, WAX, SCX**
- 親水性相互作用 (HILIC) の利用
  - 親水性化合物のみを捕捉 ⇨ **ZIC®-HILIC SPE**
- その他相互作用を利用
  - イオン交換, 配位子交換, アフィニティ等

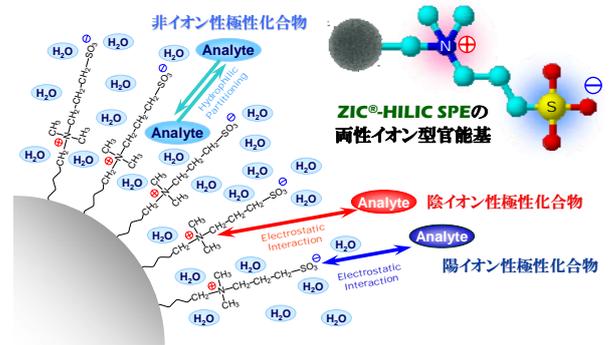
24

## 固相抽出におけるHILICモードの利点

- HILICモードとは！
  - 親水性固定相への親水性相互作用に基づいて捕捉
  - 逆相モードとは逆の捕捉特性を示し、親水性の高い化合物ほど強く捕捉
  - 溶離液には水/緩衝液を用いるため、RP-HPLCを用いる場合には、良好な分離と感度が得られる
- 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
  - "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
  - 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

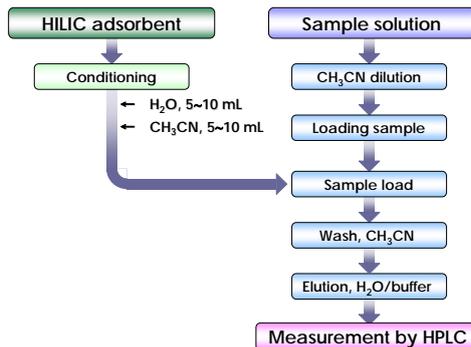
25

## ZIC®-HILIC SPEにおける保持機構



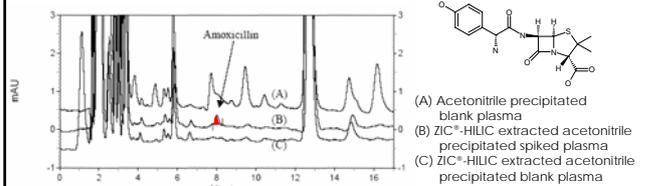
26

## HILIC型固相抽出剤の操作手順



27

## 干渉成分の除去：血漿中のAmoxicillin



### Separation Conditions

Column: Aquasil reversed-phase  
Eluent: Isocratic 93 % phosphate buffer (pH 2.5, 0.1 M), 7 % acetonitrile.  
Flow rate: 1.0 mL/min  
Injection: 85 µL  
Detection: UV at 230 nm

### Extraction Procedure

Precipitate plasma with acetonitrile (1.5 mL to 0.1 mL)  
Centrifuge and load supernatant on ZIC®-HILIC SPE 1 mL 100 mg pre-conditioned with acetonitrile (2 mL)  
Wash with acetonitrile and dry gently  
Elute with water (400 µL)

28

## 満足行く結果が得られない時には...

- 固相抽出剤の変更/選択性の変更
  - 固相の疎水基バランス、二次効果相互作用の変更
  - 水素結合性/含窒素選択性固相 ⇒ P's-phase RPA
- イオン性化合物の捕捉性向上
  - イオン交換/水素結合性を加味した逆相固相に変更
  - 逆相イオン交換型固相 ⇒ P's-phase SAX, WAX, SCX
- 親水性相互作用 (HILIC) モードの利用
  - 逆相モードと逆の捕捉特性を持つ固相に変更
  - 高親水性/高水和性固相 ⇒ ZIC-HILIC SPE
- 最後の手段はオリジナル固相の作成
  - イオン交換、配位子交換、アフィニティ等
  - エンブティカートリッジも販売しています ⇒ 巴製作所製

29

## ご清聴有難う御座いました

機クロマニックテクノロジーズは、  
分離剤の新たな機能を追究し、  
新規なHPLC用固定相や固相抽出剤をはじめ  
種々の分離剤を開発しています。  
本講演が皆様のお仕事のご参考にできれば幸いです。

