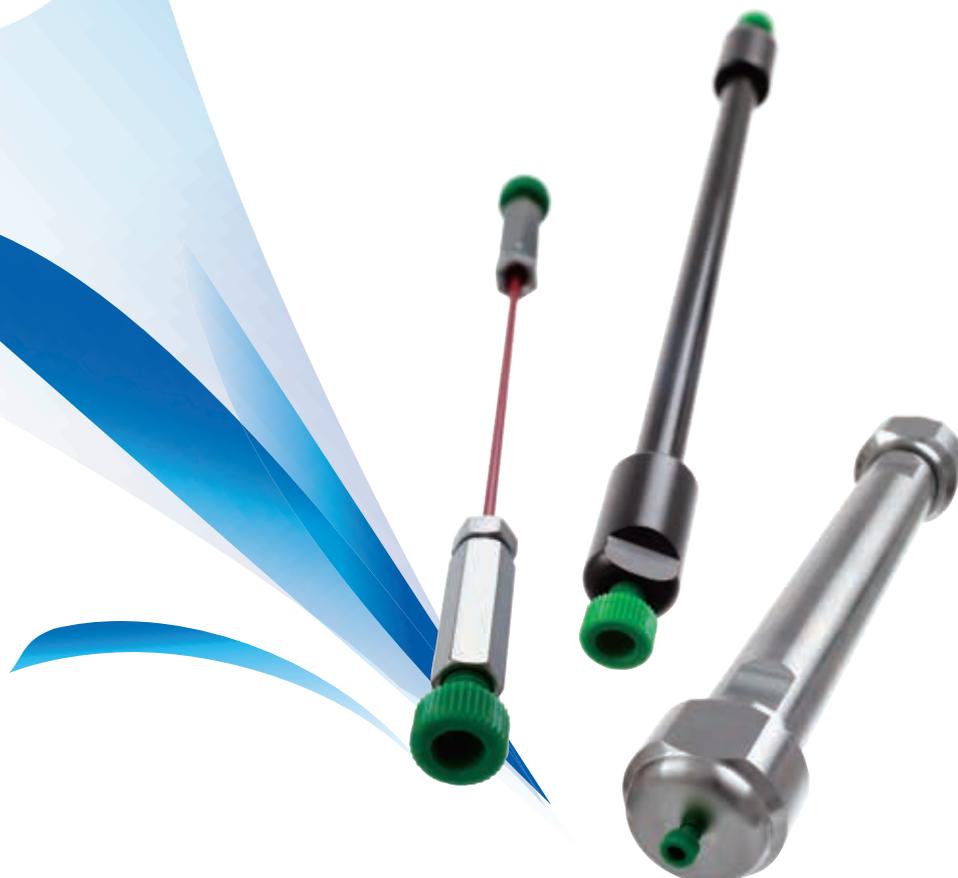


ZIC[®]-HILIC ガイドブック

ZIC-HILIC を初めてご使用になる方へ

付録：アプリケーションデータ

- ZIC-HILIC/ZIC-*p*HILIC 各種化合物の分析例
- ZIC-cHILIC 各種化合物の分析例
- コロナ CAD による無機イオンの分析例



ZIC[®]-HILIC ガイドブック

ZIC-HILIC を初めてご使用になる方へ

目次

はじめに p.2

▼ ZIC-HILIC を初めてご使用になる方へ

| | |
|----------------------|-----|
| 1. なぜ HILIC モードか？ | p.3 |
| 2. 装置 | p.3 |
| 3. 分離の原理 | p.3 |
| 4. カラムケア | p.5 |
| 5. 移動相 | p.6 |
| 6. インジェクタ | p.7 |
| 7. 試料前処理の注意点 | p.8 |
| 8. ZIC-HILIC シリーズの特徴 | p.9 |

▼ 付録 : アプリケーションデータ

| | |
|------------------------------------|------|
| • ZIC-HILIC と ZIC-pHILIC 各種化合物の分析例 | p.11 |
| • ZIC-cHILIC 各種化合物の分析例 | p.25 |
| • コロナ CAD による無機イオンの分析例 | p.30 |



はじめに

本資料は、親水性相互作用液体クロマトグラフィ（Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography: HILIC）に関するものです。HILIC は、非常に極性の高い親水性化合物の分離に最適な分離手法です。ここでは、HILIC の基礎的理論とともに、この分離モードを用いる際の注意事項に関する記述も記述してあります。また、本資料の後半部分では、Merck SeQuant 社製の両性イオン型 ZIC-HILIC シリーズ（図 1 参照）の紹介と、種々の親水性化合物へのアプリケーション例についても記述してあります。本資料をお読みになることにより、HILIC に関してご理解を深くしていただけることと思います。

| 仕様 | ZIC-HILIC | ZIC-pHILIC | ZIC-cHILIC |
|---------|--|---|--|
| 修飾基 | <chem>C[N+](C)(C)CCCS(=O)(=O)[O-]</chem> | <chem>C[N+](C)(C)CCOP(=O)([O-])O</chem> | <chem>C[N+](C)(C)CCOP(=O)([O-])O</chem> |
| 充填剤材質 | シリカゲル | ポリマー | シリカゲル |
| 使用可能 pH | pH2-8 | pH2-10 | pH2-8 |
| 耐圧 | 内径 2.1 ~ 7.5mm; 350bar 内径 0.1 ~ 1mm; 400bar 内径 10 ~ 20mm; 400bar | 200 bar | 内径 2.1 ~ 4.6mm; 350bar 内径 0.3 ~ 1mm; 400bar |

※ HILIC に関する更なる情報が必要となりましたら、www.merckmillipore.jp/ZIC-HILIC をご覧ください。製品紹介のほか、HILIC カラムを用いた最新のアプリケーションデータや種々の技術資料を閲覧することができます。また、質問やご不明の点がございましたら、弊社までお問い合わせください。

図 1 : ZIC-HILIC シリーズの固定相仕様

ZIC®-HILIC を初めてご使用になる方へ

1. なぜ HILIC モードか？

一般に、逆相液体クロマトグラフィ (RPLC) は種々のアプリケーションに対応可能であるとされており、応用範囲の最も広い分離技術とされています。しかし、RPLC では、非常に極性の高い親水性化合物を十分に保持させることができません。このような親水性化合物の分離分析手法として、順相液体クロマトグラフィ (NPLC) が広く使用されてきました。NPLC では、有機溶媒を用いた非水系移動相が使用されますが、このような非水系移動相では高極性の親水性化合物を溶解することが困難な場合が多く、適用範囲が限定されていました。図 2 に、HILIC と RPLC を用いて低分子ペプチドを分離した例を示します。図 2 でお分かりのように、HILIC における溶出順序は、RPLC の溶出順序と逆転しています。このことは、HILIC では、RPLC でほとんど保持しない溶質を、強く保持することが可能であるということを示しています。

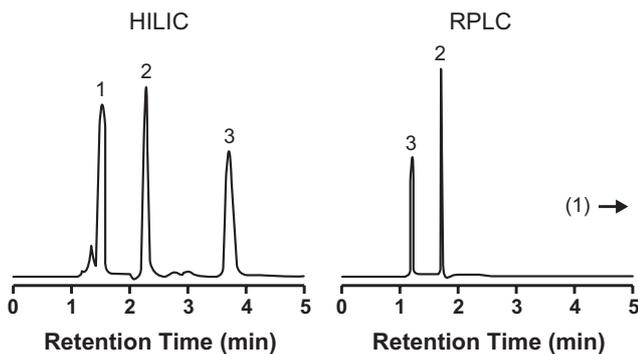


図 2：HILIC と RPLC によるペプチドの分離

Mobile phase: (HILIC) 60:40 = acetonitrile/10 mM ammonium acetate (pH 7), (RPLC) 5:95 = acetonitrile/10 mM ammonium acetate (pH 7). Sample: (1) Phe-Gly-Gly-Phe, (2) Leu-Gly-Gly, (3) Gly-Gly-Gly.

HILIC は、その溶出特性から見ると旧来の NPLC と一見似たような特徴を持っていますが、HILIC では半水系移動相を使用するという点で大きな違いがあります。HILIC に用いられる移動相は、RPLC に用いられる移動相と類似であるため、溶質の溶解性や共存成分への対応性という視点では、NPLC よりも HILIC のほうが優れているといえます。HILIC の典型的移動相には、40 ~ 97 % のアセトニトリルを含む水または揮発性緩衝液が用いられます。このような移動相は質量検出器 (MS) にも適合性が良く、HILIC は LC/MS における有効な分離手法の一つであるといえます。LC/MS において、RPLC から HILIC に変更することで、親水性化合物の感度が 10 ~ 1000 倍も増加したという例も報告されています。また、イオン性の高い化合物をイオン対試薬を用いずに分離することも可能ですので、LC/MS のみならず分取クロマトグラフィにも有利な分離手段となります。

2. 装置

HILIC を用いるための装置は、基本的に RPLC 用のシステムとまったく同じです。基本的な移動相条件は RPLC と同様ですので、例えば、試料前処理や HILIC カラムの洗浄溶媒等に関しても、まったく同じ方法を適用させることも可能です。つまり、既に使用されているシステム以外には特別の設備や機器は不要ということです。従って、以降では HILIC に固有の問題を中心に記述してあります。

3. 分離の原理

HILIC 固定相には、親水性で、かつ pH 表記範囲で電荷を持つ固定相が結合されています。RPLC と同様に、溶質は固定相と相互作用して分離されますが、通常、HILIC では親水性化合物ほど強く保持されます。HILIC は他の分離モードとは異なり、移動相の一部が固定相として機能します (後述)。それゆえ、一定量以上の水が移動相に含まれていなければなりません。一般に、3 ~ 60 % の水を含んだ極性溶媒との混合溶液を移動相として用います。

■ HILIC における保持特性

HILIC の移動相条件下では、固定相中に水が豊富な液相が形成されます。分離は、この親水性の環境 (一般的に放熱プロセス) と移動相との間での分配的な相互作用によって達成されます (図 3)。溶質の酸性度あるいは塩基性度に依存する水素結合と、双極子モーメントと分極率に依存する双極子相互作用の両者が溶質の保持を決定する要因となります。このように、HILIC 固定相の一次機能は、水を固定相表面に結びつけていることです。しかし、図 3 にも示すように、HILIC 固定相は両性イオン型で電荷を持っているため、溶質の保持力は、静電的 (イオン) 相互作用によっても大きく変化します。

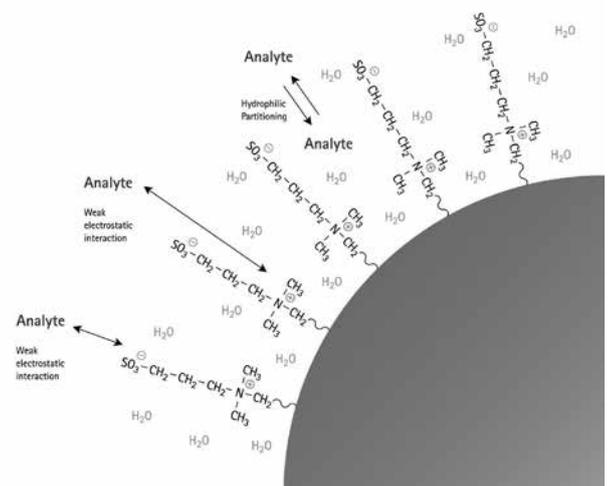


図 3：正負電荷に基づく親水性分配と静電的相互作用による HILIC の保持機構

■ 第二の相互作用

電荷を持つ HILIC 固定相は、溶質との静電的相互作用に基づく非常に特長ある第二の選択性を有しています。静電的相互作用を低下させて溶質を溶出させるためには、これらの相互作用を抑制するために塩類または緩衝液を移動相中に添加する必要があります。一般に、高濃度の緩衝液の使用は、MS の検出感度を低下させてしまう可能性があります。両性イオン型 HILIC 固定相では、それぞれの電荷の静電力は相反する電荷でもってバランスが取られているため、固定相全体としては弱い静電的相互作用しか示しません (図 4)。

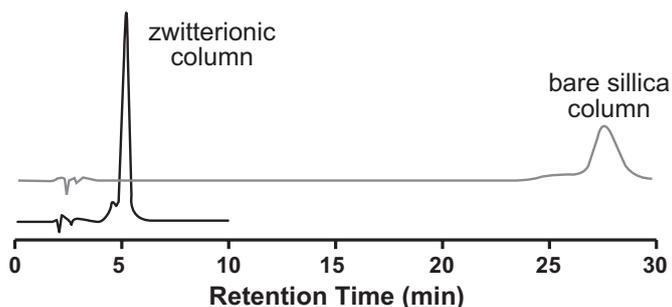


図 4：異なる HILIC 固定相 (100 × 4.6 mm) におけるペプチド・ブラジキニン (pl 12) の保持

Mobile phase: 40 % acetonitrile in ammonium acetate buffer (50 mM, pH 6.5).

固定相の静電的相互作用を適度に抑制することができれば移動相の緩衝液濃度を低く抑えることが可能となり、MS の検出感度を低下させることはありません。中性型の HILIC 固定相も低い緩衝液濃度で使用することが可能ですが、イオン性化合物に関しては両性イオン型 HILIC 固定相のほうが好結果を生む場合があります。

シリカゲルやアミノプロピルシリカのような弱イオン交換体として働く固定相も HILIC に使用されますが、これらの固定相の電荷密度は移動相の pH に大きく依存します。それゆえ、このような固定相における溶質の静電的相互作用の強さは、溶質と固定相の両者のイオン化状態に影響するため非常に複雑な分離機構となります。両性イオン型固定相のような pH 依存性の低い固定相では、移動相 pH の最適化は溶質の性質によってのみ決定されます。例えば、図 5 に示すようなフェノール性化合物の分離の場合、移動相の pH を高くすることで良好な分離を得ることができます。シリカ系の HILIC 固定相は図で示すような高い pH では不安定となりますが、ポリマー系の HILIC 固定相を用いれば pH 7.5 以上でも安定な分離を得ることが可能です。

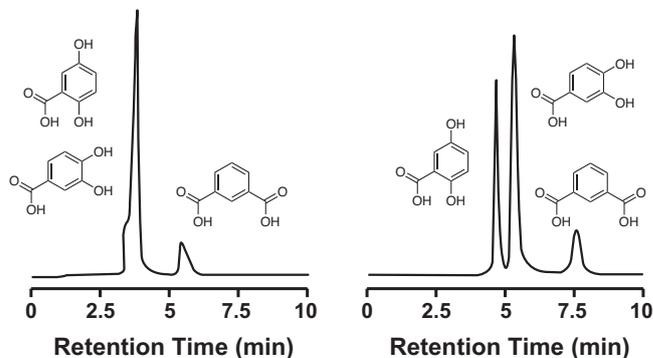


図 5：ゲンチジン酸、プロトカテク酸とイソフタル酸の分離における pH の影響

Column: ZIC-pHILIC 100 × 4.6. Mobile phase: (左) 75:25 = acetonitrile/ammonium acetate (17 mM, pH 6.8) or (右) 75:25 = acetonitrile/NH₄HCO₃ (17 mM, pH 9.6).

■ 分離カラムの選択

カラムの選択は、溶質の性質と試料マトリックスに大きく依存します。カラムの選択性とキャパシティは、カラム選択における最も重要な特性です。また、分離効率も十分考慮しなければならない特性です。

■ 分離能力

カラムのキャパシティは、移動相の溶離強度を決定するために重要なパラメータです。キャパシティがあまりに高い場合、保持の大きい溶質を溶出するためにより強度の高い移動相が必要となります。一方、キャパシティがあまりに低いならば、オーバーロードになりやすいため、ダイナミックレンジが小さくなってしまいます。HILIC において、充填剤の表面積と水を強く保持できる固定相の能力がカラムキャパシティに影響します。荷電した固定相の場合には、電荷密度もカラムのキャパシティに影響します。溶質の保持指数 k (キャパシティファクタまたは k' と呼ばれます) は、カラムを通過する物質の相対速度として表記され、以下の式で計算されます：

$$k_A = \frac{(t_R - t_0)}{t_0} \quad [1]$$

ここで、 t_R は、溶質の保持時間、 t_0 は空隙容量の時間です。

■ 分離選択性

カラムの選択性は、複数の要因に依存します。例えば、充填剤の材質、官能基の化学構造等です。選択性はカラム特性と分離される溶質との間の相互作用に基づいています。近接した位置に溶出する 2 つの溶質 A と B の分離係数 α は、これらの溶質がどれくらい分離されて引き離されているかという基準であり、次の式から計算されます：

$$\alpha = \frac{k_B}{k_A} \quad [2]$$

ここで、 k_A と k_B は、それぞれ先に溶出した溶質と、後から溶出した溶質の保持指数です。

■ 分離効率

効率的なカラムでは、移動相に近い性質を持つ溶質は非常に小さい保持容量で溶出されます。このようなピークは、大きい保持指数を持つピークより、狭いバンド幅を持っており、もちろんピーク高さも高く、分離効率も良好です。一般に、カラム効率は、次式により理論段数として表されます：

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{w_{1/2}} \right)^2 \quad [3]$$

ここで、 $w_{1/2}$ は、ピーク高さの半分の位置におけるピーク幅です。カラム効率の決定要因は、溶質がカラムを通して移動する間での、分離剤と相互作用することができる回数です。相互作用の回数は、蒸留理論で用いられる『段数』という用語と同義です。HILIC における分配平衡は、固定相表面に形成された水層と移動相との間で行われます。溶質がこの水層と短い距離でかつ速やかに移動することが可能であるならば、高い理論段数が達成されます。

■ カラム外効果とカラム効率

クロマトグラフィシステムのボイドボリューム（デッドボリューム [死容量] と呼ばれます）は、インジェクタと検出器との間の液体の総容積です。ボイドボリューム (V_{void}) の大きさは、充填剤にまったく保持されない化合物がシステムに注入されてから検出器に達するまでの時間から決定され、一般に V_0 （カラムにおける空隙容量： V_{column} ）として取り扱われることもあります。このボイドボリュームは、カラム内外の容積の合計でもあります：

$$V_{void} = V_{column} + V_{extra} \quad [4]$$

ここで、カラム空隙容量 (V_{column} ：真の V_0) は、カラム充填剤内の細孔容積 (V_p) と、充填剤外の容積 (V_i) の合計です。

$$V_{column} = V_0 = V_p + V_i \quad [5]$$

カラムサイズが固定された場合、カラム空隙容量は基本的に一定であり、充填剤の粒子径とは独立しています。バンドの拡がりの主な原因は、カラム外の容積 (V_{extra})、つまりインジェクター、接続配管、検出器の容積です。従って、装置の各モジュールを接続する配管は短くしな

ればなりません。配管内径を可能な範囲で小さくすることにより、バンドの拡がりを最小にすることができます。しかし、配管内径を必要以上に小さくすると、背圧の増加や配管の詰まりが生じる危険性もありますので注意が必要です。

全ての配管は可能な限り短くし、装置配管による空隙容量を小さくする必要があります！

ポンプとインジェクタとの間の容積はバンドの拡がりには重要ではありませんが、移動相の変更に不必要に長い時間がかかる可能性がありますので必要以上に大きくすることは非実用的です。下表に、最も一般的な内径を持つ長さ 10 cm の配管の容積を示します。

表 1：一般的な内径の長さ 10cm 配管の内容積

| 配管内径 | | 内容積 (μL) |
|-------|--------|--------------------------|
| (mm) | (inch) | |
| 0.064 | 0.025 | 0.32 |
| 0.13 | 0.05 | 1.3 |
| 0.17 | 0.07 | 2.3 |
| 0.25 | 0.10 | 4.9 |
| 0.50 | 0.20 | 20 |

4. カラムケア

市販の HILIC カラムの多くはシリカベースであるため、高い pH では耐性がありません。シリカ系 HPLIC 固定相の最適 pH 範囲は通常 pH 2 ~ 8 です。一方、ポリマー系 HILIC 固定相は pH 2 ~ 10 で使用することが可能です。

HILIC カラムは、HILIC の測定条件で保管しなければなりません。通常、有機溶媒と水または低濃度の緩衝液の混合溶液が保管溶液として推奨されています。ある種の HILIC カラムでは長期保存のための保管溶液として他の溶液が推奨されていることがあります。弊社では、ZIC-HILIC と ZIC-pHILIC カラムを出荷時の封入溶液（下記）で保管するよう薦めています。

・ 80:20 = CH_3CN :5 mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (pH 6.8)

■ カラムの再生

HILIC カラムでは、性能低下が生じると、分離効率の低下（幅広いピーク）、保持時間の逸脱、検量線の変動といった症状が観察されます。これらの原因としては、試料中の吸着性の高い化合物が固定相に強く保持・結合したことにより、キャパシティを失ってしまった可能性があります。また、高い背圧が観察された場合は、試料中の粒子が入口側フリットに詰まっている可能性があります。

通常、これらは強い緩衝液または塩類液を低流量で逆方向から流すことで、ある程度回復可能です。この操作を行う場合は、カラム出口は検出器には接続せず、直接廃液側に接続してください。SeQuant 社では、下記方法でカラム再生、沈殿物除去を行うよう推奨していますが、他のメーカーでは異なる方法が推奨されていることもありますのでご注意ください。

- 1) カラムの 30 倍の体積の脱イオン水
- 2) カラムの 30 倍の体積の 0.5M 塩化ナトリウム
- 3) カラムの 30 倍の体積の脱イオン水

塩化ナトリウムを使うことが問題となる場合には、移動相に用いている緩衝塩（例えば、0.5M 酢酸アンモニウム）で洗浄してください。

5. 移動相

HILIC の典型的な移動相は、40 ~ 97 % のアセトニトリルを含む水または揮発性緩衝液です。再現性の良い結果を得るために、少なくとも 3 % の水が移動相に含まれていなければなりません。この水の量は、固定相表面の水和層を形成させるために必要です。

移動相中の有機溶媒比率を増加させると、
溶質の保持は増加します。

種々の極性水溶性有機溶媒が使用可能ですが、アセトニトリルが最も一般的です。溶媒強度は、RPLC において観察される順序とほぼ逆転しています：

テトラヒドロフラン < アセトン < アセトニトリル < 2-プロパノール < エタノール < メタノール < 水

図 6 に、移動相有機修飾剤濃度と保持との関係を示します。HILIC において溶媒強度の弱い溶媒の一つであるアセトニトリルは、メタノールと比較して保持を大きく変化させることが可能です。一方、同一濃度のメタノールでは保持は小さくなりますが、ある種の化合物の溶解性を高める一つの選択肢であるかもしれません。しかし、分離効率という観点からみると、アセトニトリルが最善の選択であるといえます。

移動相を調製する場合、水系緩衝液と有機溶媒とを混合すると、しばしば溶媒の温度が変化します。特に、使用する装置に温度制御機能がない場合には、移動相を室温に戻してから使用してください。

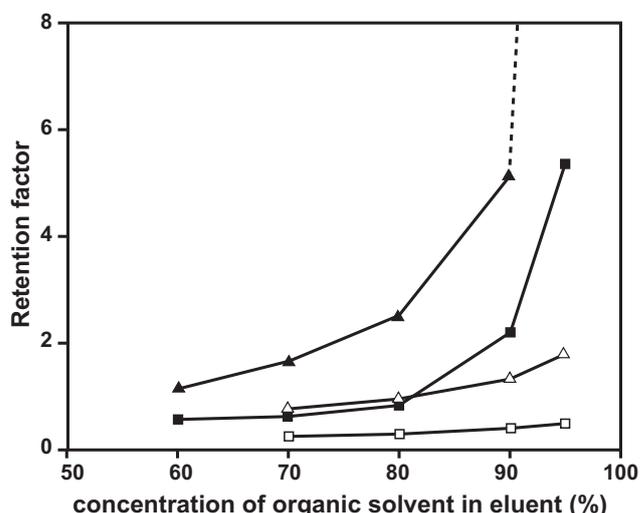


図 6: 有機修飾剤としての移動相中のアセトニトリル (黒) およびメタノール (白) 濃度と保持指数 k との関係

Column; ZIC-HILIC 150 x 4.6 mm. Legend; (triangles) cytosine (squares) adenine. The mobile phase contained 10 mM formic acid overall.

■ 推奨する緩衝液

HILIC の最適な緩衝液は酢酸とギ酸のアンモニウム塩です。酢酸とギ酸は、高濃度の有機溶媒に対しても高い溶解性を示しますので、これらの酸の使用をお勧めします。一般に、リン酸塩等の無機系緩衝液が UV 検出等で使用されていますが、高濃度の有機溶媒中で沈殿を発生するため HILIC には適しません。アンモニア水と炭酸アンモニウムは、高 pH を必要とする場合に有効な緩衝液です。一般に、緩衝液濃度が 5 ~ 20 mM の緩衝液を使用します。緩衝液濃度の上限は、移動相への溶解性にも依存しますが、200 ~ 300 mM です。負あるいは正電荷を持つ固定相は、中性あるいは両性イオン型固定相より高い緩衝液濃度を必要とします。TFA やイオンペア試薬は、HILIC の分離機構の阻害、MS の感度低下等を生じるため、使用しないでください。シリカ系 HILIC 固定相の最適な pH 範囲は通常 pH 2 ~ 8 です。一方、ポリマー系 HILIC 固定相は pH 2 ~ 10 で使用可能です。

■ 脱気

ポンプの送液トラブルや検出器ノイズを低減するために、移動相は毎日脱ガスしてください。もし、使用する装置にオンライン脱気装置が付いていないならば、移動相容器にヘリウム等の不活性ガスをパージすることで脱ガスすることができます。ヘリウムは移動相への溶解性が非常に低いガスです。

■ ろ過

移動相は、使用前に、必ず孔径 0.45 μm のフィルタでろ過してください。この措置は、カラム寿命を長くするとともに、

ポンプのトラブルも低減することができます。ポリ四フッ化エチレン (PTFE)、ポリフッ化ビニリデン (PVDF) あるいはこれらと同等の化学的に不活性な親水性フィルタを使用してください。

■ イソクラティック溶出とグラジエント溶出

液体クロマトグラフィでは、定濃度 / 定組成の移動相で溶出を行うイソクラティック溶出が一般的です。

HILICにおけるグラジエント溶出は、RPLCと比較して『反対方向』で行われます。つまり、時間とともに有機溶媒の濃度を減少させて、移動相の極性を増加させます。荷電したHILIC固定相では、溶質との静電的相互作用を低減させるために、時間とともに塩または緩衝液濃度を増加させるグラジエント溶出を用いる場合もあります。

グラジエント溶出は、基本的に、幅広い保持指数（キャパシティファクタ）を持つ溶質を、一回の分析で、比較的短時間に良い分離を得るために用いられます。グラジエント溶出終了後、次の試料を注入する前に、カラムは初期濃度（組成）の移動相で十分に平衡させなければなりません。

HILIC固定相は、RPLC固定相でしばしば用いられるような急激なグラジエント溶出や平衡時間を短くする必要がある分析には対応できません。これは、固定相に形成される水層の水が移動相から供給されるため、水層の状態が移動相組成に大きく依存してしまうためです。このような理由から、HILICにおけるグラジエント溶出では、有機溶媒 100 % から水系溶液 100 % までという設定をすることはできません。アセトニトリルのような低粘度溶媒を用いたHILICのグラジエント溶出では、時間とともにカラム背圧が徐々に増加していくということになります。

HILICカラムの平衡化が不十分であった場合、保持時間の変動や再現性の低下等を引き起こします。条件によっては、急激なグラジエント溶出で長期間良好な再現性が得られることがありますが、このような状態を常に再現させるには、十分な注意が必要です。

■ 典型的溶出条件

溶出条件の最適化とメソッド開発のための適当な初期的条件を下に記載しました。SeQuant社では、下記の条件でZIC-HILICとZIC-pHILIC固定相を用いることを推奨しています。これらの溶出条件は、若干の修正（例えば、荷電した固定相には高い塩濃度を用いる等）を加えることで、他のHILIC固定相にも適用可能となります：

- イソクラティック溶出： 80:20 (v/v) = アセトニトリル / 酢酸アンモニウムまたは蟻酸 (20 mM)

- グラジエント溶出： 90 % ~ 40 % アセトニトリル / 酢酸アンモニウム緩衝液 (20 mM), リニアグラジエント ~ 20 min (~ 3 %/min⁻¹)。平衡時間：10 min

6. インジェクタ

インジェクタの試料ループのサイズを変えることで、カラムに注入される試料量を変えることができます。一般に、1 ~ 100 μ Lの注入量を設定します。カラムサイズ毎の注入量のガイドラインを表2に示します。過度の試料の注入は、オーバーロードを引き起こし、分離効率を大幅に低減させてしまいます。図7に示すように、極端なオーバーロードが生じた場合には、先端が平らになったようなピーク形状となります。一定量の試料を注入する場合、内径の小さなチューブ（長さは長くなります）を試料ループとして使用したほうがバンドの拡がりを抑えることができます。

配管内を層流で液体が流れている場合、拡散はそれぞれチューブの長さの二乗の平方根と内径の二乗の平方根と比例します。つまり、内径が小さいチューブのほうが、バンドの拡がりを小さくすることができます。

表2：内径の異なるカラムための最適注入量と流量

| カラム内径 (mm) | 注入量 (μ L) | 流量 (mL min ⁻¹) |
|------------|----------------|----------------------------|
| 7.5 | 10 ~ 150 | 1.3 |
| 4.6 | 5 ~ 50 | 0.5 |
| 2.1 | 0.5 ~ 5 | 0.1 |

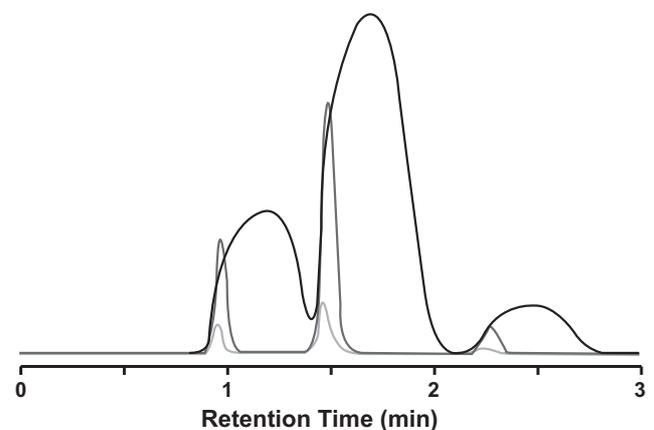


図7：試料注入量を増加したときのクロマトグラム

Injection volumes; 3 μ L, 20 μ L and 200 μ L. Column; 50 x 4.6 mm ID ZIC-HILIC column with 5 μ m particles. Sample; toluene, uracil and cytosine, diluted in mobile phase.

カラムの分離効率を最大限に利用するには、注入量は総カラム体積の 1 % 以内に設定します (図 8)。注入量が総カラム体積の 10 % にもなると、僅か 20 % のカラム効率しか発揮することができなくなります。

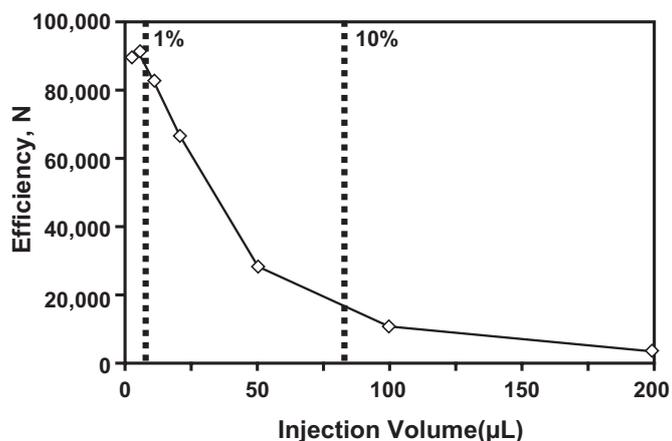


図 8：異なる注入量におけるカラム効率

Analyte ($k = 1.6$) in mobile phase. Column; 50 x 4.6 mm.

■ 洗浄溶媒

オートサンプラやインジェクタに用いる注射器と注射針の洗浄溶媒の選択は重要です。HILIC に最適な洗浄溶媒は、95 % 有機溶液 / 水、あるいは緩衝塩を除いた移動相類似の組成です。水が多すぎる溶媒で洗浄した場合、注入する試料溶液の極性が高くなって、不要なバンドの拡がりを引き起こす可能性があります。一方、有機溶媒 100 % を洗浄溶媒とした場合には、HILIC の対象となる親水性化合物を完全に溶解して取り除くことはできません。従って、有機溶媒 100 % の洗浄は好ましくありません。

■ 汚染の予防

ゴム製ガセット付注射器やゴム蓋付き試料バイアルは、ゴムから種々の塩基性 / 酸性化合物が溶出しますので、これらゴム類の使用は避けてください。一般に、オートサンプラは試料が満たされている時間が長く、ループ容量が大きく設定されています。キャリアオーバーを低減するためには、これらについても確認しておく必要があります。手動注入の場合には、少なくともループ容量の 10 倍量で洗浄してください。洗浄溶媒を用いた試料ループの洗浄は、試料溶液による押し出し洗浄よりもよい結果を得ることができます。

7. 試料前処理

一般に、試料前処理の必要性は、試料そのもの、つまり分析される溶質以外の試料の量や性状に依存します。HILIC においては、試料を極端な親水性の液性にしないことが重要です。注入試料中に水や非常に親水性の高い溶媒を高濃度に含む場合、固定相への溶質の分配量は減少してしまいます。このような試料を大量に注入すると、特に、保持の小さい化合物の保持はより小さくなり、分離効率とともに、分離度も低下します。従って、水含量の高い試料は直接注入をせずに、有機溶媒で 50 % 程度まで希釈した後注入してください。

試料は水で希釈しないでください！

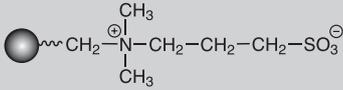
試料は、注入前にろ過するようにしてください。適切なフィルタは、孔径の 0.45 µm の親水性 PTFE または PVDF フィルタです。

■ 固相抽出法の使用

HILIC と RPLC は補完的な選択性を持つため、これらのモードを固相抽出法に適用させると効率的な試料クリーンアップを行うことができます。通常、逆相型固相抽出剤からの試料の溶離液は有機溶媒であるため、蒸発乾固や再溶解を行うことなく HILIC カラムに直接注入することが可能です。多くの場合、このような液性の溶液は HILIC カラム先端でピーク濃縮が生じます。逆に、RPLC の分離には HILIC 型の固相抽出剤を用いることができます。HILIC 型固相抽出法による前処理では、固相抽出剤に保持された化合物の溶出には水を多量に含んだ溶離液が用いられます。一般に、このような液性の溶液は、RPLC カラム先端でピーク濃縮を引き起こすことが可能です。

8. ZIC-HILIC シリーズの特徴

本小冊子の後半では、両性イオン型 HPLC カラム ZIC-HILIC シリーズに関する技術資料とアプリケーション例を紹介します。

| 仕様 | ZIC-HILIC | ZIC-pHILIC |
|---------|---|------------|
| 修飾基 |  | |
| 充填剤材質 | シリカゲル | ポリマー |
| 使用可能 pH | pH2-8 | pH2-10 |
| 耐圧 | 内径 2.1 ~ 7.5mm; 350bar 内径 0.1 ~ 1mm; 400bar 内径 10 ~ 20mm; 400bar | 200 bar |

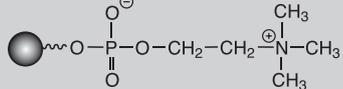
| 仕様 | ZIC-cHILIC |
|---------|---|
| 修飾基 |  |
| 充填剤材質 | シリカゲル |
| 使用可能 pH | pH2-8 |
| 耐圧 | 内径 2.1 ~ 4.6mm; 350bar 内径 0.3 ~ 1mm; 400bar |

図 9 : ZIC-HILIC シリーズの固定相の仕様。

図 9 に示すとおり、ZIC-HILIC シリーズでは両性イオン型官能基を固定相に共有結合しています。分析用カラムの材質は、ガラスライニング管、PEEK、ステンレスがあります。分取用カラムの材質はステンレスです。ポリマー系の ZIC-pHILIC も同じスルホベタイン型の両性イオン型官能基を共有結合したもので、粒子径は 5 μm です。

ZIC-HILIC シリーズの固定相は、酸性、塩基性および中性の親水性化合物の効果的な HILIC 分離のために設計されています。この特長ある HILIC 固定相の設計により、低ブリード (図 10) と長寿命 (図 11) が達成されます。

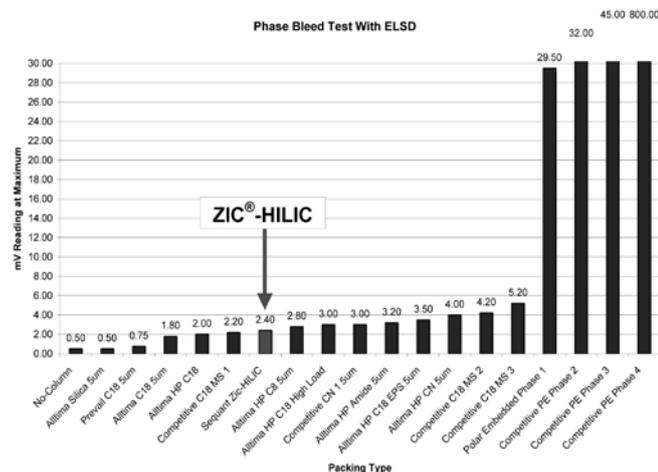


図 10 : 蒸発光散乱検出器 (ELSD) による市販カラムからの溶出物の測定結果 (Alltech Associates 社の好意による)

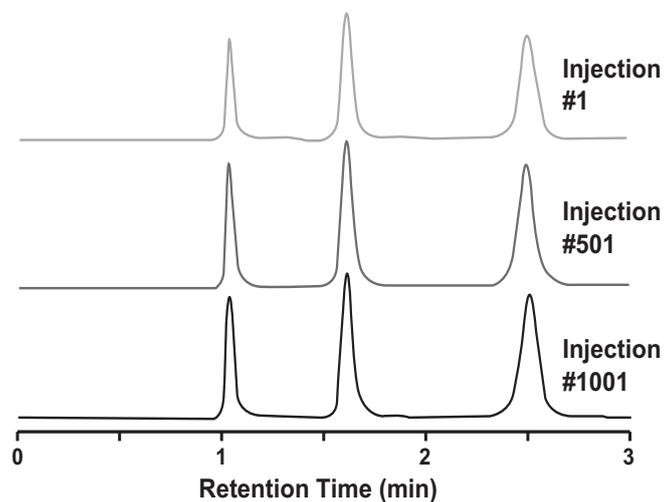


図 11 : トルエン (VO), ウラシル, シトシンの繰り返し注入

Column; 50 × 4.6 mm ZIC-HILIC. Mobile phase; 80:20 = 5 mM acetonitrile/ ammonium acetate. Flow rate; 0.5 mL/min.

■ 分離カラムの選択

ZIC-HILIC と ZIC-pHILIC カラムは基材粒子に関係なく同じ官能基を持ち、図 12 に示すように類似した選択性を示します。

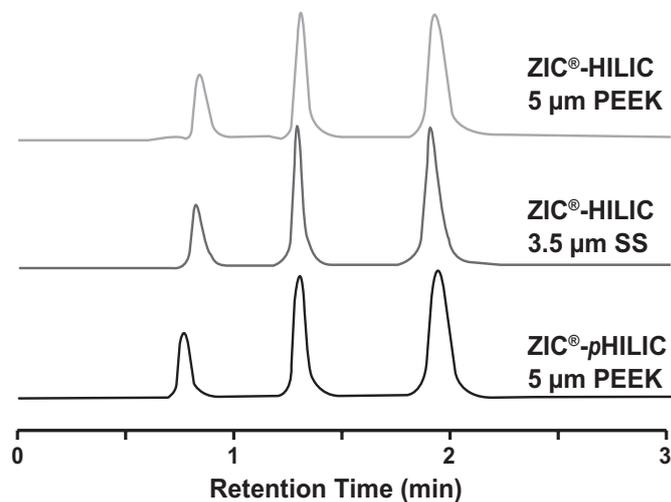


図 12 : 異なる基材, 粒子径のカラムによる ZIC カラムでのトルエン (VO), ウラシル, シトシンの分離

Column 50 x 2.1 mm.

■ 流量

ZIC-HILIC と ZIC-*p*HILIC カラムの流量特性は、RPLC カラムと若干異なっています。図 13 で示すように、一般的に、4.6 mm の内径の HILIC カラムにおける最適流量はおよそ 0.5 mL/min です。

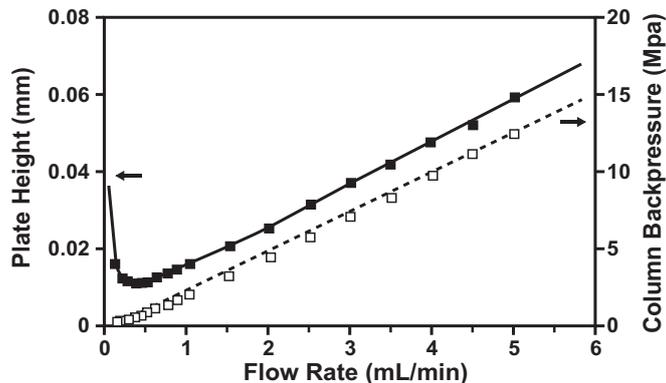


図 13：移動相流量と分離効率およびカラム背圧との関係

Cytosine diluted in mobile phase and separated on a 50 x 4.6 mm ZIC-HILIC column with 5 μ m particles. ■ Plate Height, □ Back pressure.

ZIC-HILIC カラムは、とても広い流量範囲で使用することが可能です。図 14 は、0.5 ~ 5.0 mL/min の流量で良好な分離が得られるということを示しています。この条件範囲でのカラム背圧は許容可能範囲であり、ハイスループット分析に適用可能であることを示しています。

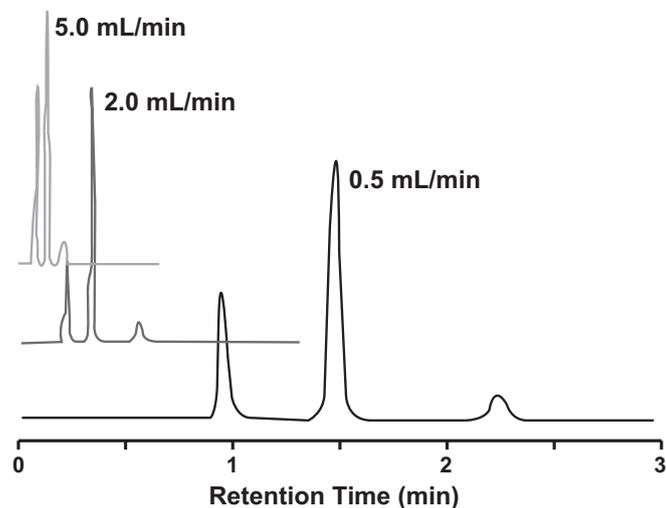


図 14：異なる流量において測定したクロマトグラム

Separation of toluene (void marker), uracil and cytosine, an diluted in mobile phase and separated on a 50 x 4.6 mm ZIC-HILIC column with 5 μ m particles.

■ 拡張性

分析的な分離は、しばしばセミ分取や分取用、さらには工業規模の分離へのスケールアップの基礎となります。このような拡張性は、近年注目され始めているマイクロあるいはナノレベルのダウンサイジングにも適用可能です。ZIC-HILIC 固定相は、図 15 に示すように、分析レベルからセミ分取や分取用への連続的なスケールアップが容易にできます。マイクロやキャピラリカラムへの対応も同様に問題なく対応できます。分取作業では、カラムの負荷特性が重要なパラメータとなります。ZIC-HILIC は、低い保持指数であっても非常に高い負荷特性を示します (図 16)。

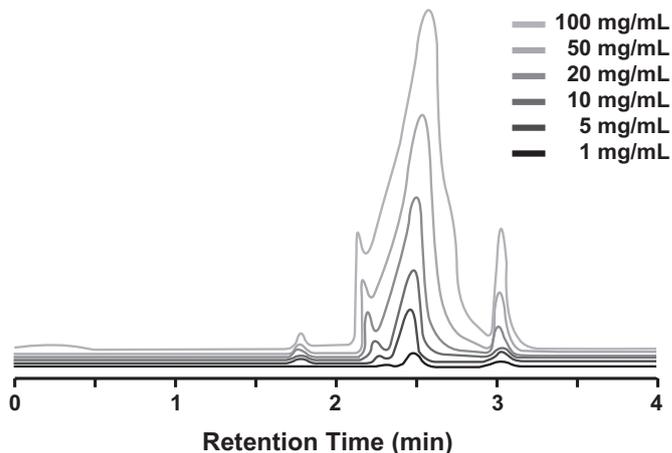


図 15：内径の異なる長さ 50 mm カラムでの分離比較

Column; ZIC-HILIC with 5 μ m particles, except for the 20 mm D column which had 10 μ m particles.

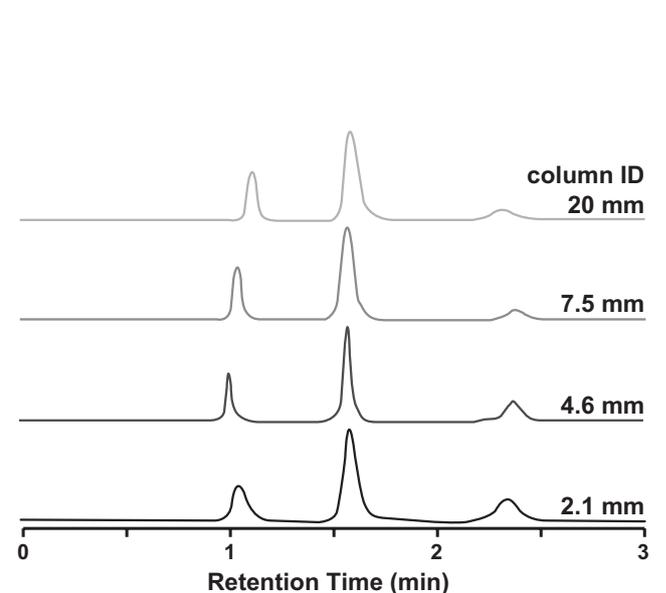
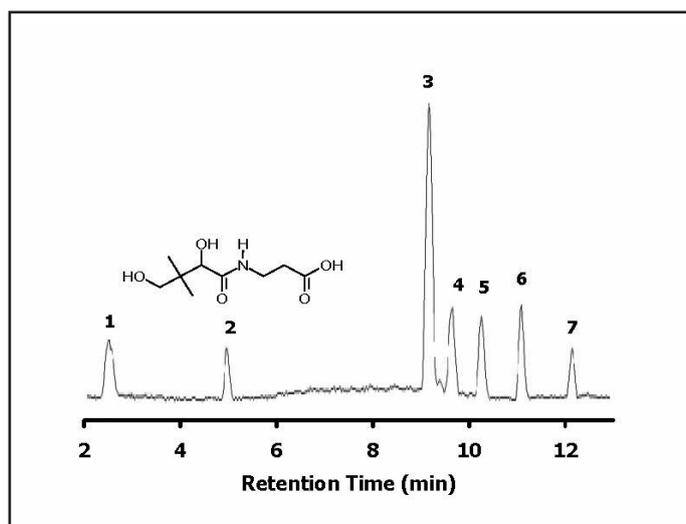


図 16：ニコチンアミド ($k = 0.65$) の負荷特性

Column; ZIC-HILIC 150 x 20, 5 μ m. Mobile phase; 90 % acetonitrile, 10 % 5 mM ammonium acetate. Flow rate; 18.6 mL/min. Injection; 0.5 mL (1 - 100 mg/mL) in mobile phase.

ZIC[®]-HILIC/ZIC[®]-pHILIC 各種化合物の分析例

ヌクレオチドの分析例



Chromatographic Conditions

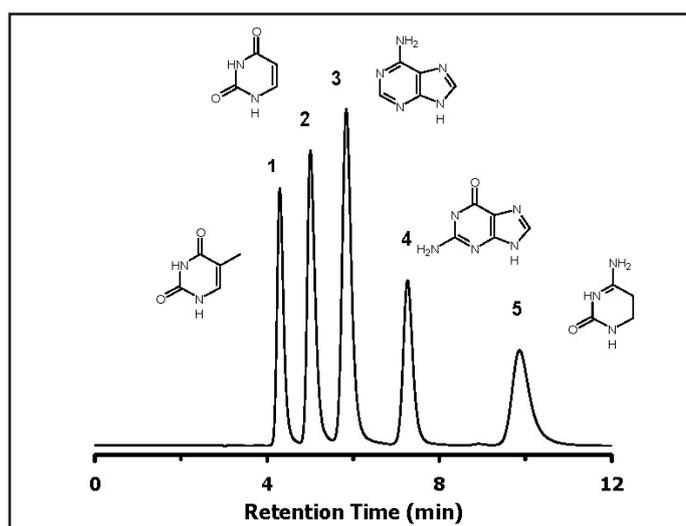
| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-pHILIC, PEEK 150 x 2,1 mm, 5 µm (No.150460) |
| Injection: | 1 µL (20 pmol) in ACN/MeOH (80:20 v/v) |
| Detection: | FTMS, ESI negative mode, scan 100-1000 m/z |
| Flow Rate: | 100 µL/min |
| Mobile Phase (v/v): | A: Acetonitrile B: 10mM CO ₃ (NH ₄) ₂ + 0.2% NH ₄ OH |
| | Gradient: 20-60%B in 15 min, 5 min at 60%B 15 min equilibration at 20%B |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|------------------------------|------------|------------------|
| 1 | t ₀ (void volume) | 2.5 | - |
| 2 | Pantothenate | 5.0 | 1.0 |
| 3 | Acetyl-CoA | 9.3 | 2.7 |
| 4 | AMP | 9.8 | 2.9 |
| 5 | CoA | 10.4 | 3.1 |
| 6 | ADP | 11.2 | 3.5 |
| 7 | ATP | 12.3 | 3.9 |

By courtesy of: T.Pluskal, K.Nagao and M.Yanagida, GO Cell Unit, Initial Research Project Okinawa Institute of Science and Technology, Okinawa 904-2234, JAPAN

プリンとピリミジンの分析例



Chromatographic Conditions

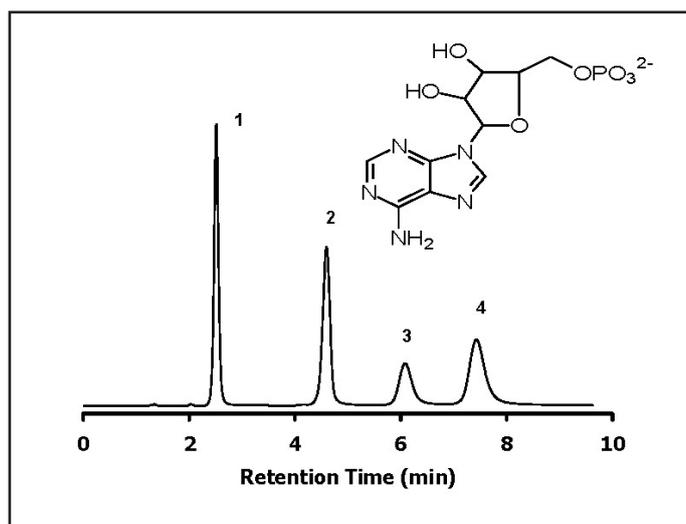
| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-pHILIC, PEEK 150 x 4.6 mm, 5 µm (No.150461) |
| Injection: | 5 µL |
| Detection: | UV 254 nm |
| Pressure Drop: | 3.9 MPa (562 psi) |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile, 20% 20 mM Ammonium Carbonate (pH 8.8) (total ionic strength 4 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention Factor |
|-----|------------------------------|------------|------------------|
| | t ₀ (void volume) | 2.9 | - |
| 1 | Thymine | 4.3 | 0.5 |
| 2 | Uracil | 5.0 | 0.7 |
| 3 | Adenine | 5.8 | 1.0 |
| 4 | Cytosine | 7.3 | 1.5 |
| 5 | Guanosine | 9.9 | 2.4 |

重要！無機塩は有機溶媒中で容易に沈殿します。
上記条件を逸脱されないようご注意ください。

AMP, ADP, ATP の分析例



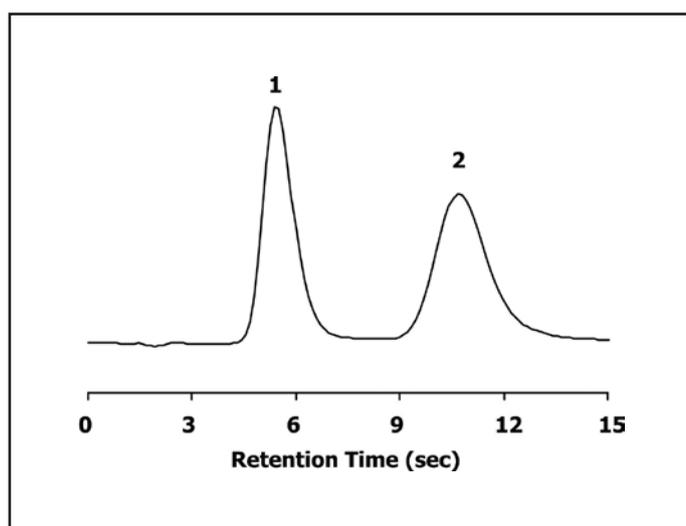
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 150 x 4.6 mm, 5 μm, 200 Å (No.150455) |
| Injection: | 20 μL in mobile phase |
| Detection: | UV 244 nm (UFS 1.0 V) |
| Pressure Drop: | 6.3 MPa (913 psi) |
| Flow Rate: | 1.0 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 70% Acetonitrile, 30% 100 mM Ammonium Acetate (pH 4.0) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|-------------------------------|------------|------------------|
| | t_0 (void volume) | 1.5 | - |
| 1 | AMP (Adenosine monophosphate) | 4.3 | 1.9 |
| 2 | ADP (Adenosine diphosphate) | 6.9 | 3.6 |
| 3 | ATP (Adenosine triphosphate) | 9.9 | 5.6 |

AMP と ATP の分析例



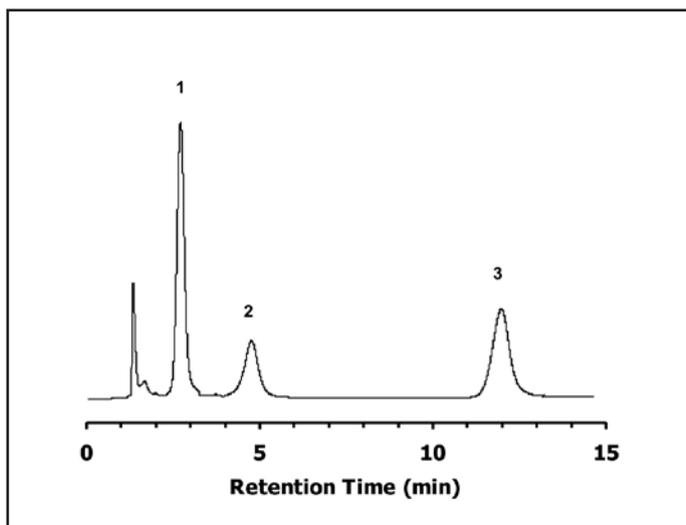
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 20 x 2.1 mm, 3.5 μm, 100 Å (No.150439) |
| Injection: | 750 nL in mobile phase |
| Detection: | UV 254 nm (UFS 1.0 V) |
| Pressure Drop: | 13.1 MPa (1886 psi) |
| Flow Rate: | 2.0 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 70% Acetonitrile, 30% 100 mM Ammonium Acetate (pH 4.5)(total ionic strength 30 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (sec) | Retention factor |
|-----|-------------------------------|------------|------------------|
| | t_0 (void volume) | 1.2 | - |
| 1 | AMP (Adenosine monophosphate) | 5.4 | 3.5 |
| 2 | ATP (Adenosine triphosphate) | 10.7 | 7.9 |

ペプチドの分析例



Chromatographic Conditions

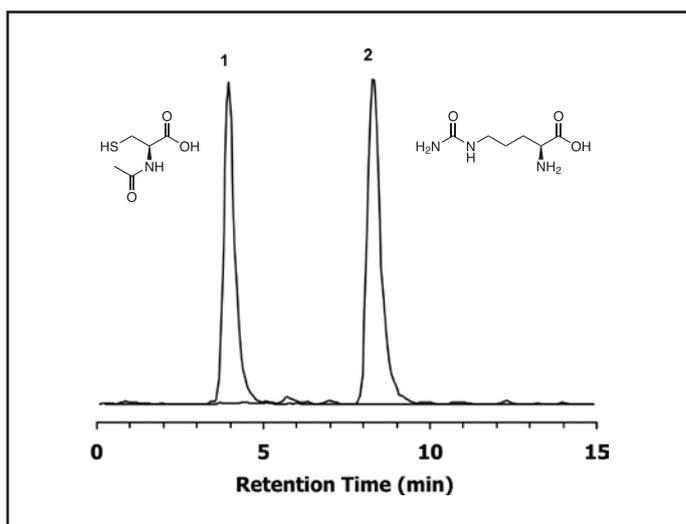
| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-pHILIC, PEEK 150 x 4.6 mm, 5 μm (No.150461) |
| Injection: | 5 μL in mobile phase |
| Detection: | UV @ 214 nm (UFS 1.0 V) |
| Flow Rate: | 1.0 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 70% Acetonitrile and 30% Ammonium formate 200 mM, pH 6.2 (v/v) (overall ionic strength: 60 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) |
|-----|----------------|------------|
| 1 | Angiotensin II | 2.7 |
| 2 | Bradykinin | 4.8 |
| 3 | Gly-His-Lys | 12.0 |

SeQuant Application Note 2700-17A

N-アセチル-L-システインとシトルリンの分析例



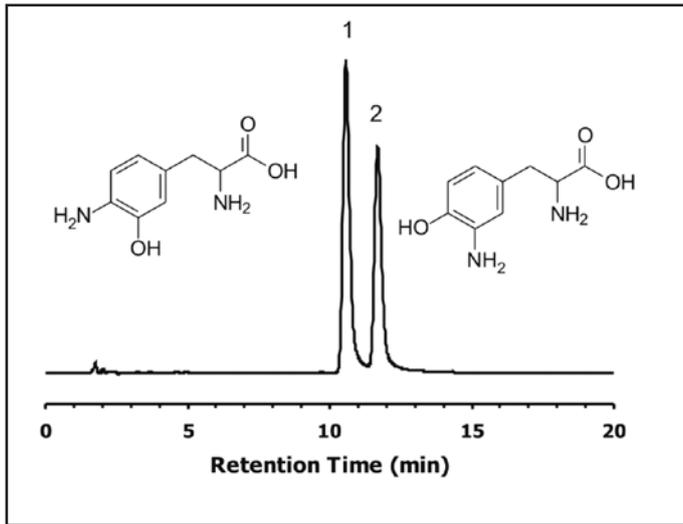
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 100 x 4.6 mm, 5 μm, 200 Å (No.150453) |
| Injection: | 10 μL in mobile phase |
| Detection: | ESI MS, neg. Mode |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 70% Acetonitrile, 30% 100 mM Ammonium Acetate (pH 5.6) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|---------------------|------------|------------------|
| | t_0 (void volume) | 2.0 | - |
| 1 | N-Acetyl-L-Cysteine | 3.8 | 0.9 |
| 2 | Citrulline | 8.3 | 3.2 |

4-AHP と 3-AHP の分析例



Chromatographic Conditions

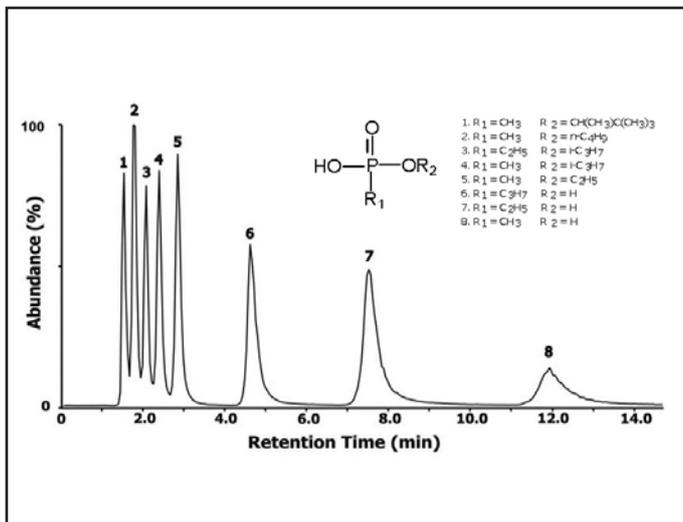
| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 150 x 2.1 mm, 3.5 μm, 100 Å (No.150442) |
| Injection: | 5 μL in mobile phase |
| Detection: | UV @ 254 nm (UFS 1.0 V) |
| Column Temp | Ambient |
| Flow Rate: | 0.15 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 75%, Acetonitrile and 25% Ammonium Acetate 100 mM; pH 6.8 (v/v) (total ionic strength 25 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) |
|-----|--|------------|
| 1 | 4-AHP (4-amino-3-hydroxyphenylalanine) | 10.6 |
| 2 | 3-AHP (3-amino-L-Tyrosine) | 11.7 |

SeQuant Application Note 2700-18A

有機ホスホン酸神経ガスの代謝産物の分析例



Chromatographic Conditions

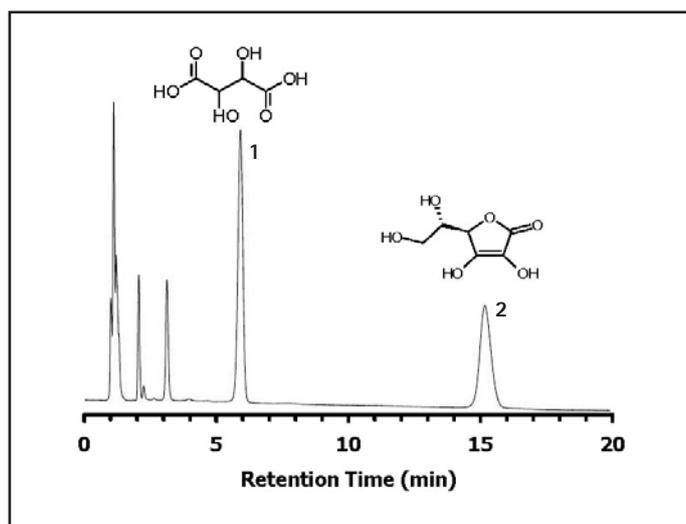
| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 150 x 2.1 mm, 5 μm, 200 Å (No.150454) |
| Injection: | 2 μL samples diluted in 70:30 acetonitrile/water (v/v) |
| Detection: | LC-MS in negative mode |
| | TIC from SIM m/z: 179 (+ fragment 109, 123, 137, 151, 191, 247 and 286) |
| Flow Rate: | 0.35 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile, 20% 100 mM Ammonium Acetate (total ionic strength: 20 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Concentration (ppm) | Time (min) | Retention factor |
|-----|---|---------------------|------------|------------------|
| | t ₀ (void volume) | - | 1.13 | - |
| 1 | PMPA (Pinacolyl-methyl-phosphonic acid) | 20 | 1.50 | 0.3 |
| 2 | BMPA (n-Butyl-methyl-phosphonic acid) | 50 | 1.76 | 0.6 |
| 3 | IEPA (Isopropyl-ethyl-phosphonic acid) | 100 | 2.04 | 0.8 |
| 4 | IMPA (Isopropyl-methyl-phosphonic acid) | 50 | 2.36 | 1.1 |
| 5 | EMPA (Ethyl-methyl-phosphonic acid) | 100 | 2.81 | 1.5 |
| 6 | PPA (Propyl-phosphonic acid) | 200 | 4.60 | 3.1 |
| 7 | EPA (Ethyl-phosphonic acid) | 400 | 7.51 | 5.6 |
| 8 | MPA (Methyl-phosphonic acid) | 300 | 11.92 | 9.5 |

By courtesy of: Julien Courtois and Crister Åstot, FOI, Umeå, Sweden

酒石酸とアスコルビン酸の分析例



Chromatographic Conditions

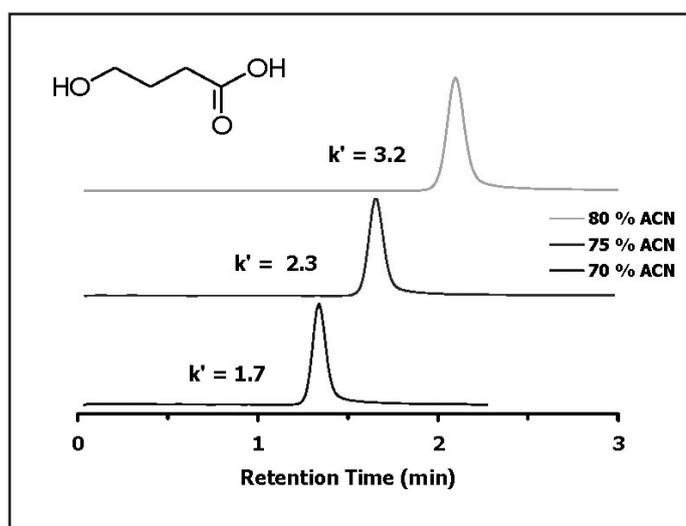
| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-pHILIC, PEEK 100 x 4.6 mm, 5 μm (No.150464) |
| Injection: | 3 μL in mobile phase |
| Detection: | UV 254 nm (UFS 1.0 V) |
| Column Temp | 30°C |
| Flow Rate: | 0.8 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile, 20% 10 mM KH ₂ PO ₄ (pH 6.2 with KOH) (total ionic strength: 2 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|------------------------------|------------|------------------|
| | t ₀ (void volume) | 1.1 | - |
| 1 | Tartaric acid (430 μg/mL) | 6.0 | 4.4 |
| 2 | Ascorbic acid (140 μg/mL) | 15.3 | 12.9 |

重要！無機塩は有機溶媒中で容易に沈殿します。
上記条件を逸脱されないようご注意ください。

γ-ヒドロキシブチル酸の分析例



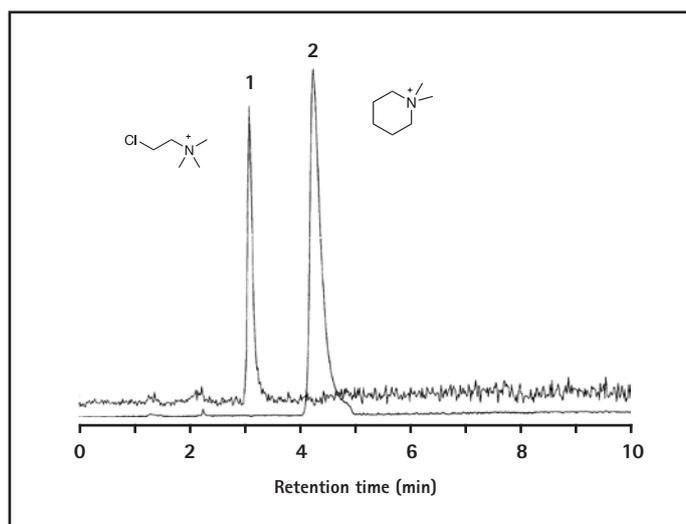
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 2.1 mm, 3.5 μm, 200 Å (No.150445) |
| Injection: | 2 μL in mobile phase |
| Detection: | LC-ESI/MS negative mode(50V fragmentor, 2.5 kV cone voltage) SIM ion: 103.2 |
| Pressure Drop: | 4.6, 4.4, and 3.8 MPa (662, 634, and 547 psi) |
| Flow Rate: | 0.2 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | Acetonitrile ratio differs among experiments (left), 100 mM Ammonium Formate (pH 6.3) |

Chromatographic Data

| Compound | Eluent composition | Time (min) | Retention factor |
|---------------------------|------------------------------|------------|------------------|
| | t ₀ (void volume) | 0.5 | - |
| gamma-hydroxybutyric acid | 70 % ACN | 1.34 | 1.7 |
| gamma-hydroxybutyric acid | 75 % ACN | 1.65 | 2.3 |
| gamma-hydroxybutyric acid | 80 % ACN | 2.10 | 3.2 |

Chlormequat と Mepiquat の分析例



Chromatographic Conditions

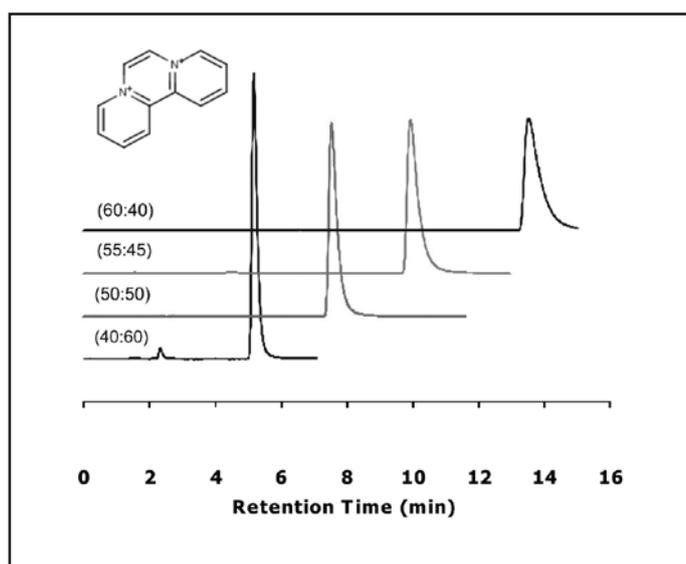
| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 100 x 2.1 mm, 3.5 µm, (No.150447) |
| Injection: | 20 µL in mobile phase |
| Detection: | Electrospray-MS in positive mode (ESI+) Single ion monitoring (SIM) at m/z 114 and 122 |
| Flow Rate: | 0.2 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile, 20% 25 mM Ammonium Acetate |
| Temperature: | Ambient |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|------------------------------|------------|------------------|
| | t ₀ (void volume) | 1.6 | - |
| 1 | Chlormequat | 3.1 | 0.9 |
| 2 | Mepiquat | 4.3 | 1.7 |

By courtesy of:
Dr.-Ing. Ludmila Havlik, Chemisches Labor Dr. Wirts + Partner, Hannover, Germany, www.wirts.de

ジクワットの分析例



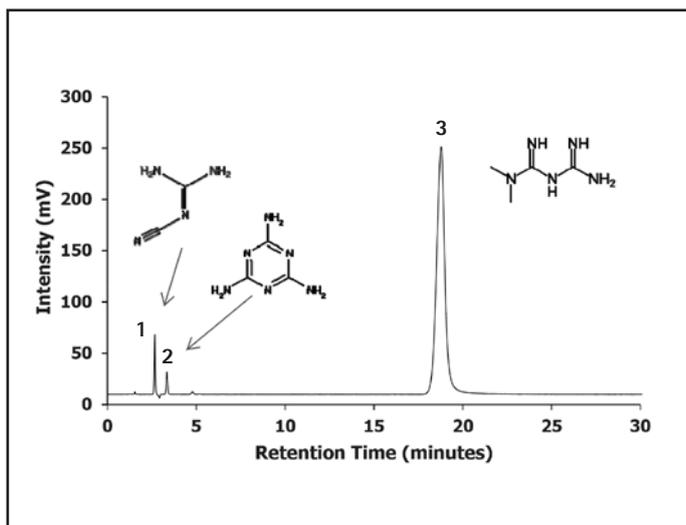
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 150 x 4.6 mm, 5 µm, 200 Å (No.150455) |
| Injection: | 5 mL of a 50 ppm solution diluted in in acetonitril/water (1:1) |
| Detection: | UV @ 313 nm |
| Column Temperature: | 40°C |
| Flow Rate: | 1.0 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | Acetonitrile/250 mM Ammonium acetate pH3.7 (X:Y) (total ionic strength: 100-150 mM) |

Chromatographic Data

| mobile phase | Time (min) |
|--------------|------------|
| (40:60) | 5.1 |
| (50:50) | 7.5 |
| (55:45) | 9.9 |
| (60:40) | 13.5 |

メタフォルミン、メラミン、シアノグアニジンの分析例



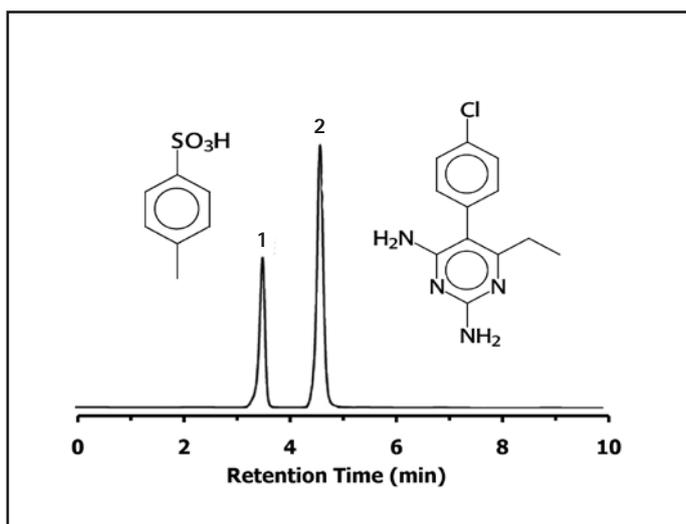
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Column: | SeQuant® ZIC®-HILIC 250×4.6 mm, 5.0 μM, 200 Å (No.151458) |
| Injection: | 10 μL |
| Detection: | Shimadzu LC-10, UV 218 nm |
| Cell: | 10 μL |
| Column Temperature: | 30 °C |
| Flow Rate: | 1.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | Buffer: Dissolve 0.77 g of ammonium acetate in 1000 ml water (10 mM). Mix Acetonitrile and Buffer 85:15 (v/v) |
| Diluent: | Mobile phase |
| Sample: | 500 ppm metformin and 4 ppm of each impurity in mobile phase |
| Pressure Drop: | 63 bar (913 psi) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Theoretical Plates | Tailing Factor |
|-----|----------------|------------|--------------------|----------------|
| 1 | Cyanoguanidine | 2.7 | 11209 | 1.1 |
| 2 | Melamine | 3.3 | 8937 | 1.1 |
| 3 | Metformin | 18.8 | 8042 | 1.0 |

PTSA とピリメタミンの分析例



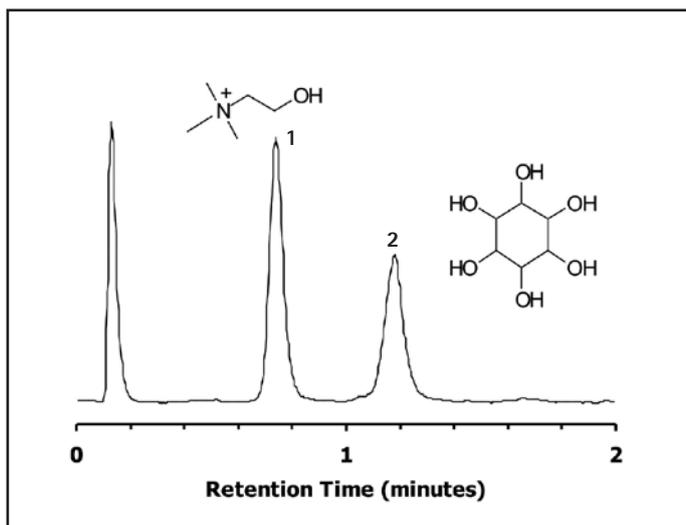
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 150 x 4.6 mm, 5 μm, 200 Å (No.150455) |
| Injection: | 1 μL of a 100 ppm solution of each diluted in mobile phase |
| Detection: | UV @ 254 nm (UFS 1.0 V) |
| Column Temperature: | Ambient |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 90%, Acetonitrile 10%, Ammonium Acetate 10 mM, pH 6.8 (total ionic strength: 1 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|------------------------------------|------------|------------------|
| | t ₀ (void volume) | 3.0 | - |
| 1 | p-toluenesulfonic acid (LogP: 1.7) | 3.5 | 0.2 |
| 2 | Pyrimethamine (LogP: 2.7) | 4.6 | 0.5 |

コリンとイノシトールの分析例



Chromatographic Conditions

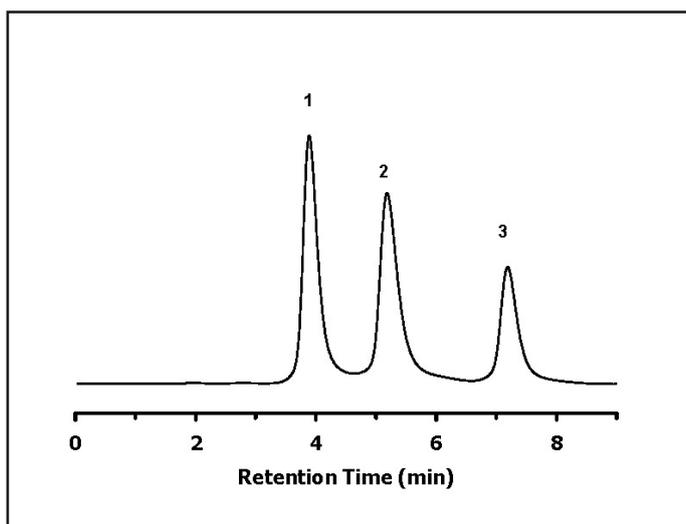
| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 20 x 2.1 mm, 3.5 μm, 100 Å (No.150439) |
| Injection: | 2 μL in mobile phase |
| Detection: | Sedex 85LT ELSD @ 60 °C, 4.0 bar compressed air and Gain 11 |
| Column Temperature: | Ambient |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min (Pressure drop 5.5 MPa (792 psi)) |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile and 20% Ammonium Acetate 100 mM; pH 4.5 (v/v) Overall ionic strength: 20 mM |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) |
|-----|----------|------------|
| 1 | Choline | 0.7 |
| 2 | Inositol | 1.2 |

SeQuant Application Note 2700-27A

モルヒネとその類縁体の分析例



Chromatographic Conditions

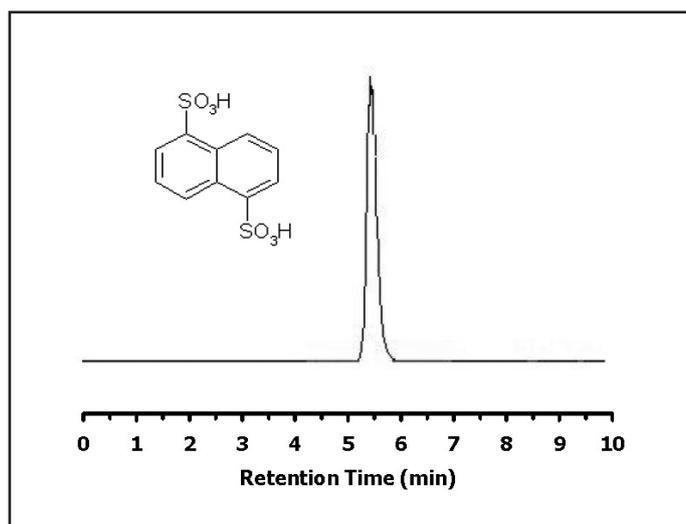
| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 4.6 mm, 5 μm, 200 Å (No150451) |
| Injection: | 5 μL in mobile phase |
| Detection: | UV 212 nm (UFS 1.0 V) |
| Pressure Drop: | 5.3 MPa (763 psi) |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 70% Acetonitrile, 30% 5 mM Ammonium Acetate |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|------------------------------|------------|------------------|
| | t_0 (void volume) | 1.0 | - |
| 1 | M6G (Morphine-6-glucuronide) | 3.9 | 2.9 |
| 2 | M3G (Morphine-3-glucuronide) | 5.2 | 4.2 |
| 3 | M (Morphine) | 7.2 | 6.2 |

A method for On-line Desalting and Determination of Morphine, Morphine-3-glucuronide and Morphine-6-glucuronide in Microdialysis and Plasma Samples using Column Switching and ZIC®-HILIC separation - Tandem Mass Spectrometry can be found at: Rapid Commun. Mass Spectrom., 19 (2005) 2116-2122

1,5- ナフタレンジスルホン酸の分析例



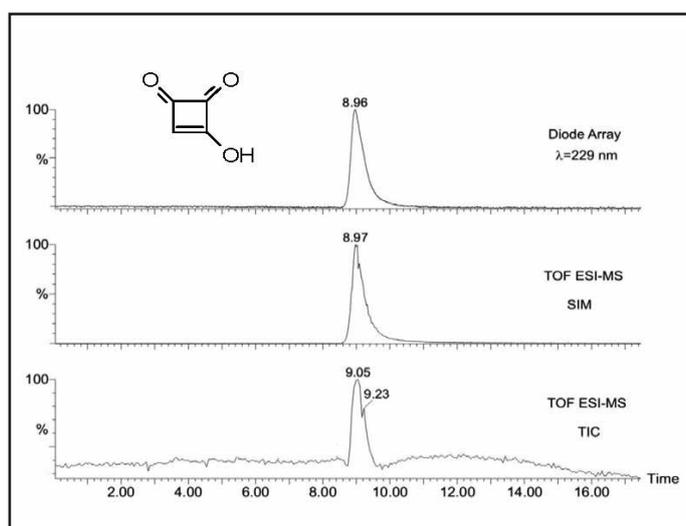
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 150 x 4.6 mm, 5 µm, 200 Å (No150455) |
| Injection: | 10 µL in mobile phase |
| Detection: | UV 288 nm (UFS 1.0 V) |
| Column Temperature: | 40°C |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile, 20% 10 mM Ammonium Acetate (pH 6.8) (total ionic strength: 2 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|---------------------------------|------------|------------------|
| | t ₀ (void volume) | 3.0 | - |
| 1 | 1,5-naphthalenedisulphonic acid | 5.5 | 0.6 |

Moniliformin の分析例



Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 150 x 4.6 mm, 3.5 µm, 200 Å (No150449) |
| Injection: | 3 µL |
| Detection: | Diode Array and Negative ESI-MS |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | A: Acetonitrile B: 100 mM Ammonium Formate (pH 6.4) |
| Gradient: | 5-15% B in 15 min (0.5 mL/min) 15-50% B in 1 min (1 mL/min) 50% B in 4 min (1 mL/min) 50-5%B in 1 min (1 mL/min) 5%B in 2 min (1 mL/min) decreasing the flowrate to 0.5 mL/min |

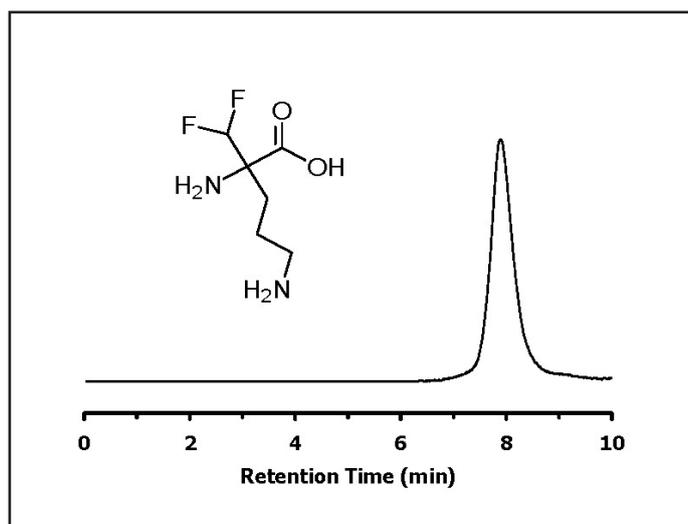
Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|------------------------------|------------|------------------|
| | t ₀ (void volume) | 3.0 | - |
| 1 | Moniliformin (720 ng/ml) | 9.0 | 2.0 |

by courtesy of: K. F. Nielsen, Center for Microbial Biotechnology (CMB) BioCentrum-DTU Technical university of Denmark, Lyngby, Denmark

A method for quantification of Moniliformin in maize plants using ZIC®-HILIC separation and diode array detection - negative electrospray mass spectrometry can be found at J. Agric. Food Chem., 55 (2007) 9764-9768

エフロルニチン (DFMO) の分析例



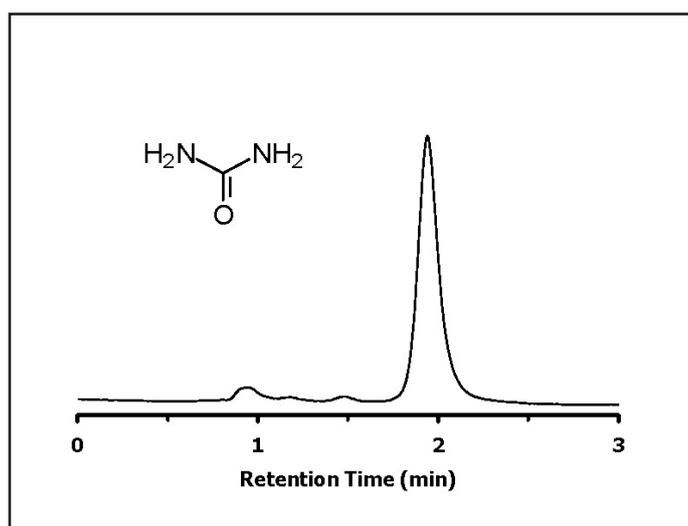
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 4.6 mm, 5 μm, 200 Å (No150451) |
| Injection: | 5 μL in mobile phase |
| Detection: | UV 210 nm |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 75% Acetonitrile, 25% 5 mM Ammonium Acetate (pH 6.8) (total ionic strength 1.25 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|--------------------------------|------------|------------------|
| | t_0 (void volume) | 1.0 | - |
| 1 | DFMO Eflornithine (0.75 mg/mL) | 7.9 | 6.9 |

尿素の分析例



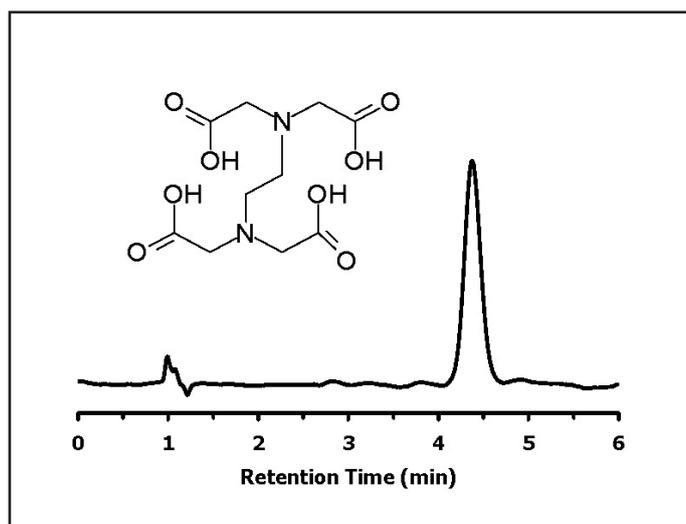
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 4.6 mm, 5 μm, 200 Å (No150451) |
| Injection: | 5 μL in mobile phase |
| Detection: | UV 204 nm |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 90% Acetonitrile, 10% 5 mM Ammonium Acetate (pH 6.8) (total ionic strength 0.5 mM) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|---------------------|------------|------------------|
| | t_0 (void volume) | 1.0 | - |
| 1 | Urea (1.0 mg/mL) | 1.9 | 0.9 |

EDTA の分析例



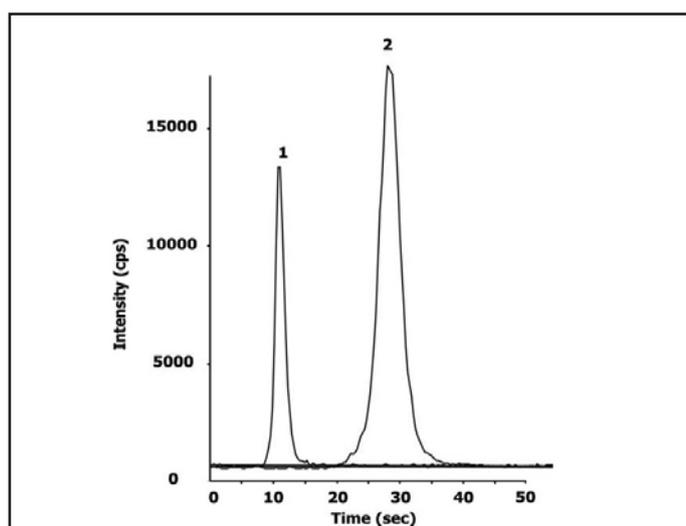
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 4.6 mm, 5 µm, 200 Å (No150451) |
| Injection: | 10 µL of a 4mM standard solution in mobile phase |
| Detection: | UV 210 nm (UFS 1.0 V) |
| Pressure Drop: | 1.4 MPa (202 psi) |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 70% Acetonitrile, 30% 100 mM Ammonium Acetate (pH 6.8) Overall ionic strength = 30 mM |

Chromatographic Data

| Compound | Time (min) | Retention factor | Asymmetry |
|------------------------------|------------|------------------|-----------|
| t ₀ (void volume) | 1.0 | - | - |
| EDTA | 4.4 | 3.4 | 1.1 |

オセルタミビルとオセルタミビルカルボン酸の分析例



Chromatographic Conditions

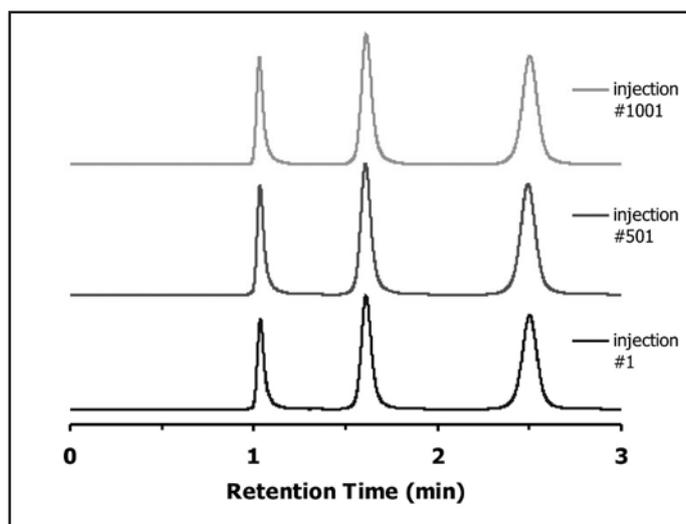
| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 20 x 2.1 mm, 3.5 µm, 100 Å (No150439) |
| Injection: | 2.5 µL in mobile phase |
| Detection: | Agilent 1200 LC-system coupled online to an API5000 triple quadrupole |
| Flow Rate: | 1.0 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 85% Acetonitrile, 15% 10 mM Ammonium Acetate (pH 3.5) |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (seconds) | Retention factor |
|-----|------------------------------------|----------------|------------------|
| | t ₀ (void volume) | 2 | - |
| 1 | Oseltamivir (5 ng/mL) | 11 | 3.5 |
| 2 | Oseltamivir carboxylate (30 ng/mL) | 29 | 10.9 |

By courtesy of: Dr Niklas Lindegård, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand

カラム寿命の評価



Chromatographic Conditions

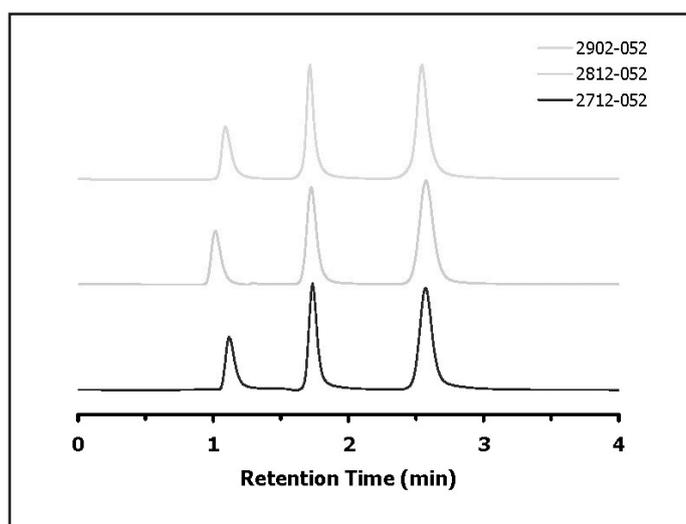
| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 4.6 mm, 5 μm, 200 Å (No.150451) |
| Injection: | 5 μL in mobile phase |
| Detection: | UV 254 nm (UFS 1.0 V) |
| Temperature: | 24 °C |
| Pressure: | 1.1 MPa (158 psi) |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile, 20% 5 mM Ammonium Acetate |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor | Resolution |
|-----|--------------------------------|------------|------------------|------------|
| 1 | Toluene t_0 (void volume) | 1.0 | - | - |
| 2 | Uracil | 1.6 | 0.61 | 6.6 |
| 3 | Cytosine | 2.5 | 1.50 | 6.7 |

相対標準偏差 : 0.1-0.7%

充てん剤の粒子径と材質の比較



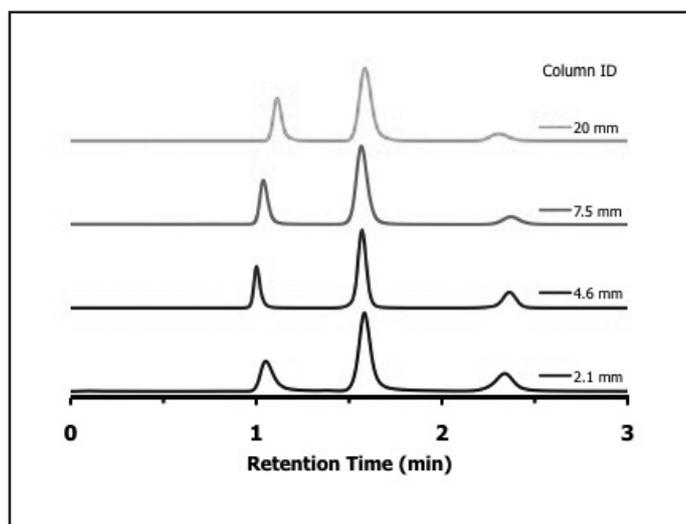
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Columns: | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 2.1 mm, 3.5 μm, 200 Å ZIC®-pHILIC, PEEK 50 x 2.1 mm, 5 μm, (No150459) ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 2.1 mm, 5 μm, 200 Å (No150450) |
| Injection: | 1 μL in mobile phase |
| Detection: | UV 254 nm (UFS 1.0 V) |
| Pressure Drop: | 0.8, 1.4, and 2.0 Mpa, respectively |
| Flow Rate: | 0.1 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile, 20% 5 mM Ammonium Acetate |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor | Resolution |
|-----|--------------------------------|------------|------------------|------------|
| 1 | Toluene t_0 (void volume) | 1.1 | - | - |
| 2 | Uracil | 1.7 | 0.7 | 5.6 |
| 3 | Cytosine | 2.5 | 1.6 | 6.8 |

内径の異なる長さ 50 mm カラムでの分離比較



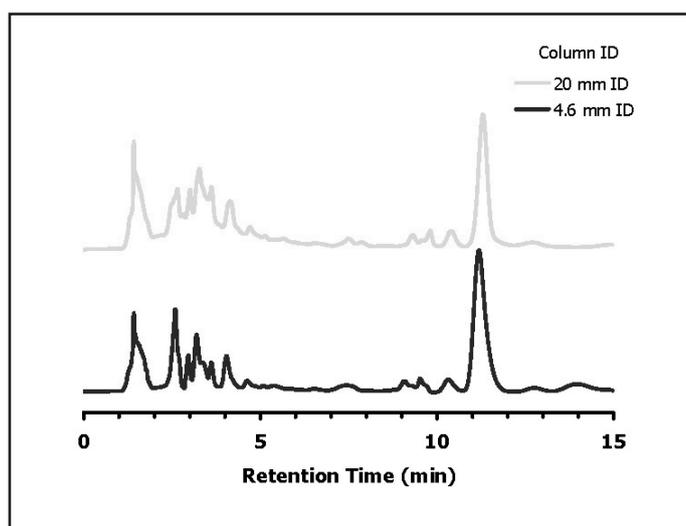
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Columns: | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 2.1 mm, 5 μm, 200 Å (No.150450) |
| | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 4.6 mm, 5 μm, 200 Å (No.150451) |
| | ZIC®-HILIC, PEEK 50 x 7.5 mm, 5 μm, 200 Å |
| | ZIC®-HILIC, SS 50 x 20 mm, 10 μm, 200 Å |
| Injection: | 1, 5, 20, 100 μL in mobile phase |
| Detection: | UV 254 nm (UFS 1.0 V) |
| Pressure : | 1.0, 1.0, 0.8, 1.1 MPa (144, 144, 115, 158 psi) |
| Flow Rate: | 0.1, 0.5, 1.3, 9.3 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile, 20% 5 mM Ammonium Acetate |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor | Resolution |
|-----|--|------------|------------------|------------|
| 1 | Toluene <i>t</i> ₀ (void volume) | 1.0 | - | - |
| 2 | Uracil | 1.5 | 0.56 | 7.1 |
| 5 | Cytosine | 2.4 | 1.46 | 6.9 |

内径 4.6 mm から 20 mm へのスケールアップ検討 (サンプル注入量：カラムボリュームの 10%)



Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-HILIC,SS 150 x 20 mm, 5 μm, 200 Å (No154097) |
| | ZIC®-HILIC, PEEK 150 x 4.6 mm, 5 μm, 200 Å (No150455) |
| Injection: | 250 and 5000 μL of white wine diluted 1:3 with acetonitrile |
| Detection: | UV 240 nm (UFS 1.0 V) |
| Pressure Drop: | 5.0 MPa (720 psi) |
| Flow Rate: | 20 and 1.0 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | 80% Acetonitrile, 20% 200 mM Ammonium Acetate |

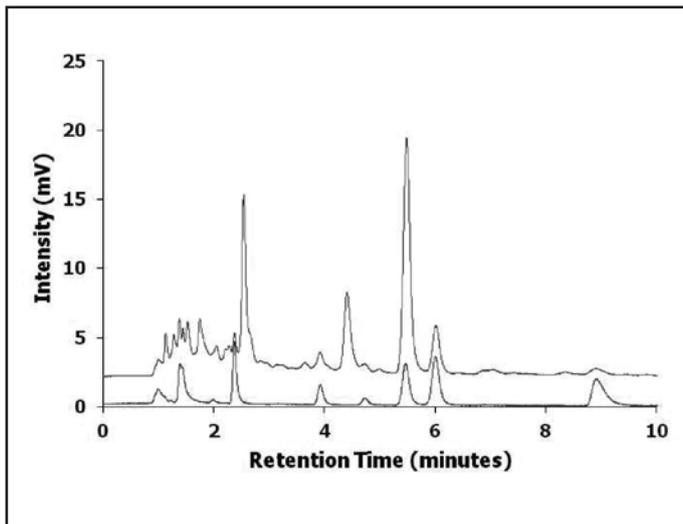
Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor | Assymetry |
|-----|--------------------------------------|------------|------------------|-----------|
| 1 | <i>t</i> ₀ (void volume) | 1.5 | - | - |
| 2 | Ascorbic Acid | 11.3 | 6.5 | 1.01 |

ZIC[®]-cHILIC

各種化合物の分析例

白ワイン中の有機酸の分析例



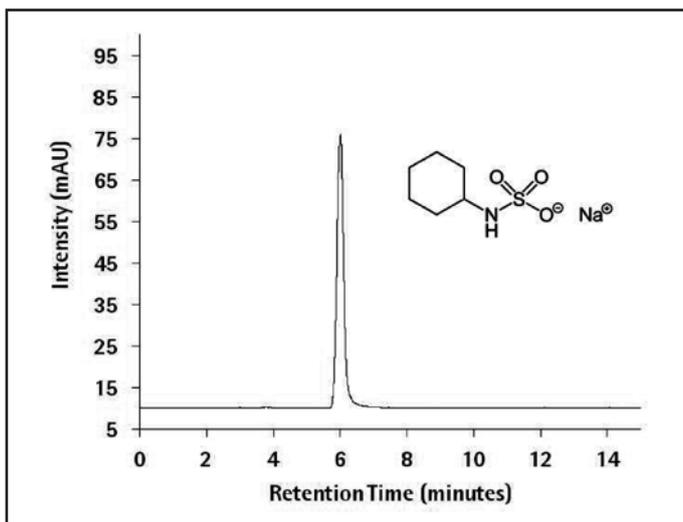
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-cHILIC (3 μm, 100Å) PEEK 150x2.1 mm (No.150658) |
| Injection: | 5 μL |
| Detection: | UV at 200 nm. Shimadzu LC-10Vp equipped with 2.5μL semi-micro flow-cell |
| Column Temperature: | 30 °C |
| Flow Rate: | 0.3 mL/min |
| Mobile Phase (v/v): | Acetonitrile and 25mM Potassium Phosphate buffer pH 6.0 (75:25 v/v) |
| Sample : | Riesling wine (up), 10ppm mix of standards (bottom) diluted in mobile phase |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor |
|-----|----------------------|------------|------------------|
| | t_0 (void volume) | 1 | - |
| 1 | Acetic acid | 2.4 | 1.4 |
| 2 | Succinic acid | 3.9 | 2.9 |
| 3 | Malic acid | 5.5 | 4.5 |
| 4 | Tartaric acid | 6.0 | 5.0 |
| 5 | Citric acid | 8.9 | 7.9 |

サイクラミン酸ナトリウムの分析例



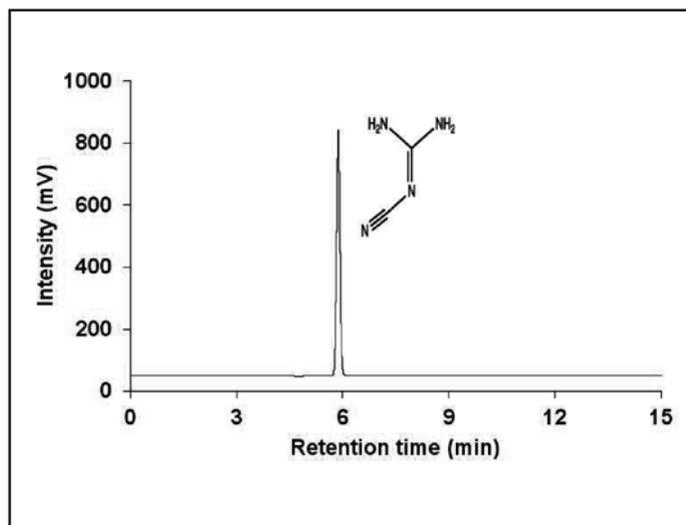
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-cHILIC 150x2.1 mm, 3 μm, 100 Angstrom (No.150658) |
| Injection: | 1 μL |
| Detection: | Agilent 1260, ELSD |
| Column Temperature: | Ambient |
| Flow Rate: | 0.2 mL/min (Backpressure: 39 Bar (566 psi)) |
| Mobile Phase (v/v): | Acetonitrile and 100 mM ammonium acetate adjusted to pH 4.5 by glacial acetic acid (75:25). Total ionic strength in mobile phase = 25 mM. |
| Sample : | 1mg/mL Sodium Cyclamate in mobile phase |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Theoretical plates | Tailing factor |
|-----|-----------|------------|--------------------|----------------|
| 1 | Cyclamate | 6.0 | 4329 | 1.1 |

シアノグアニジンの分析例



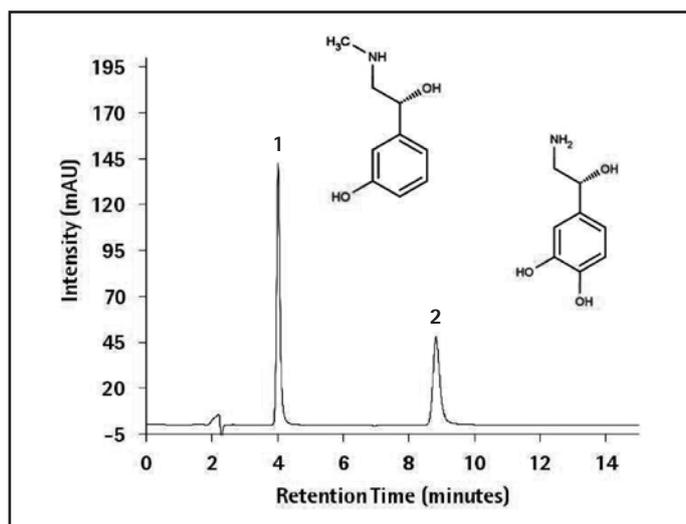
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-cHILIC (3 μm) 250x4.6 mm (No.150662) |
| Injection: | 10 μL |
| Detection: | Shimadzu Prominence, UV 218 nm |
| Column Temperature: | 25 °C |
| Flow Rate: | 0.8 mL/min (backpressure: 75 Bar (1088 psi)) |
| Mobile Phase (v/v): | Weigh 1.92 g of ammonium acetate & dissolve in 1L water. Mix acetonitrile & buffer 84:16 (v/v). Sonicate for 15 mins. (Total ionic strength: 4 mM) |
| Sample : | Dissolve 3.0 mg of substance in mobile phase and dilute to 100 ml with same solvent. |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Theoretical plates | Asymmetry |
|-----|----------------|------------|--------------------|-----------|
| 1 | Cyanoguanidine | 5.9 | 17120 | 1.0 |

ノルエピネフリンとフェニルエピネフリンの分析例



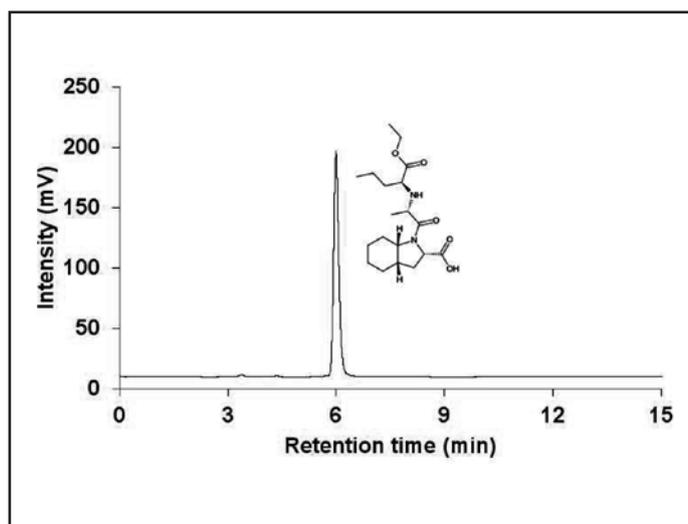
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-cHILIC 150x2.1 mm, 3 μm, 100A (No.150658) |
| Injection: | 10 μL |
| Detection: | Agilent 1260, UV 270 nm |
| Column Temperature: | 30 °C |
| Flow Rate: | 0.2 mL/min (Backpressure: 67 Bar (972 psi)) |
| Mobile Phase (v/v): | Acetonitrile and 100 mM ammonium acetate adjusted to pH 4.5 by glacial acetic acid (75:25). Total ionic strength in mobile phase = 25 mM. |
| Sample : | 15ug/ml of norepinephrine, 20ug/ml phenylephrine in mobile phase |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Theoretical plates | Tailing factor |
|-----|----------------|------------|--------------------|----------------|
| 1 | Phenylephrine | 4.0 | 7120 | 1.3 |
| 2 | Norepinephrine | 8.8 | 8925 | 1.3 |

ペリンドプリルエルブミンの分析例



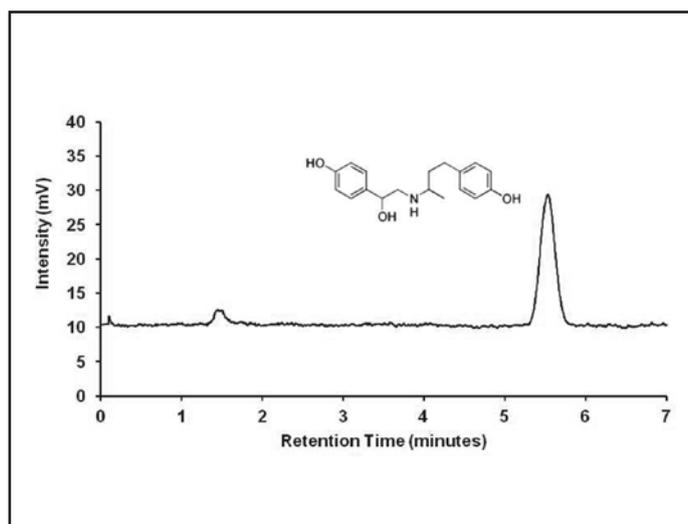
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|---|
| Column: | ZIC®-cHILIC (3 μm, 100 Å) 150x4.6 mm (No.150661) |
| Injection: | 10 μL |
| Detection: | Shimadzu Prominence, UV 220 nm |
| Column Temperature: | 30°C |
| Flow Rate: | 0.5 mL/min (backpressure: 54 Bar (783 psi)) |
| Mobile Phase (v/v): | Buffer: Dissolve 1.56 g of ammonium formate in 1000 ml water (25 mM). Adjust pH to 3.5 with formic acid. Mix Buffer & Acetonitrile 10:90 (v/v) Total ionic strength: 2.5 mM |
| Sample : | Dissolve 10 mg of sample in mobile phase dilute to 100 ml with same solvent. |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Theoretical plates | Asymmetry |
|-----|----------------------|------------|--------------------|-----------|
| 1 | Perindopril Erbumine | 6.0 | 8548 | 1.2 |

βアドレナリン受容体作用薬の分析例



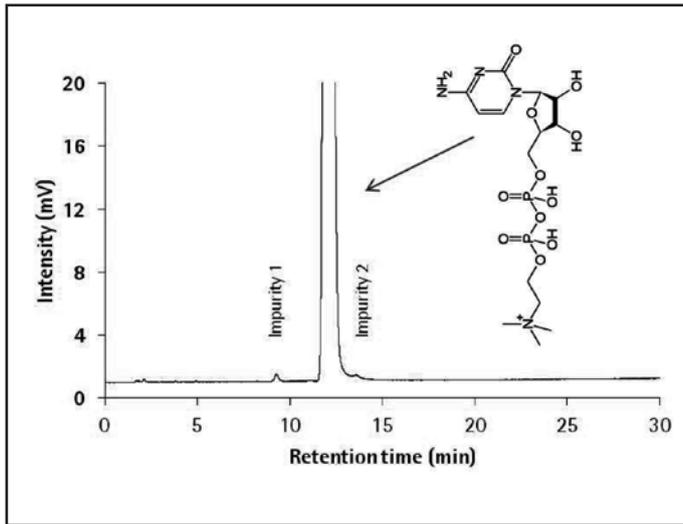
Chromatographic Conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column: | ZIC®-cHILIC (3 μm,100 Å) 150x4.6 mm (No.150661) |
| Injection: | 5 μL |
| Detection: | Hitachi Chromaster-5440 Fluorescence Detector, λ _{ex} = 226 nm; λ _{em} = 306 nm |
| Column Temperature: | 35°C |
| Flow Rate: | 1.0 mL/min (Backpressure: 63 Bar (914 psi)) |
| Mobile Phase (v/v): | Buffer: Dissolve 2.72 g of monopotassium phosphate in 1000 ml water (40 mM). Mix Acetonitrile and Buffer 80:20 (v/v). Total ionic strength: 8 mM |
| Sample : | 50 ppb Ractopamine in mobile phase |

Chromatographic Data

| No. | Compound | Time (min) | Retention factor K' | Asymmetry |
|-----|----------------|------------|---------------------|-----------|
| | t ₀ | 1.4 | - | - |
| 1 | Ractopamine | 5.5 | 2.9 | 1.0 |

シチコリンの分析例



Chromatographic Conditions

Column: ZIC®-cHILIC, 3 μm, 150 X 4.6 mm (No.150661)

Injection: 20 μL

Detection: Shimadzu Prominence UV 276 nm

Column Temperature: 30°C

Temperature:

Flow Rate: 0.75 mL/min (Backpressure: 59 Bar (856 psi))

Mobile Phase (v/v): 80% Acetonitrile

20% 10 mM Ammonium Acetate (pH 6.8)

(total ionic strength: 2 mM)

Sample : Weigh 25 mg substance in 50 ml volumetric flask.
Dissolve in mobile phase.

Chromatographic Data

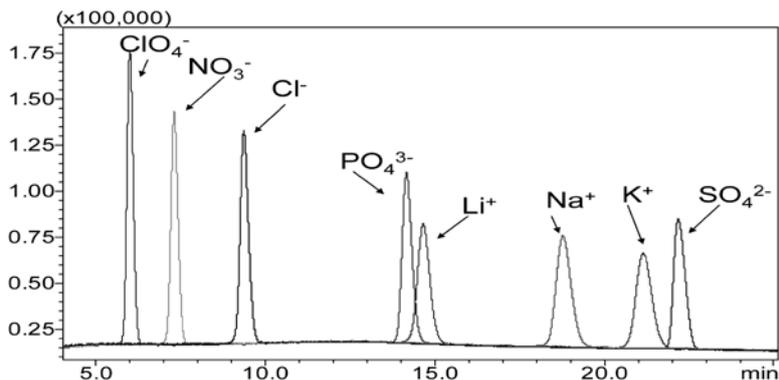
| No. | Compound | Time (min) | T _{USP} | Retention |
|-----|------------|------------|------------------|-----------|
| 1 | Impurity 1 | 9.3 | 1.1 | 0.0 |
| 2 | Citicoline | 12.0 | 1.1 | 7.1 |
| 3 | Impurity 2 | 13.6 | 1.1 | 3.9 |

コロナ CAD* による 無機イオンの分析例

* コロナ CAD 検出器は、現在サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社により販売されています。



イオン分析例 I



分析条件

カラム : ZIC®-pHILIC; 4.6 x 150mm, 5 μ m

カラム温度 : 30°C

移動相 A : 15% 100mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 60% Acetonitrile

移動相 B : 50% 30mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 25% Acetonitrile

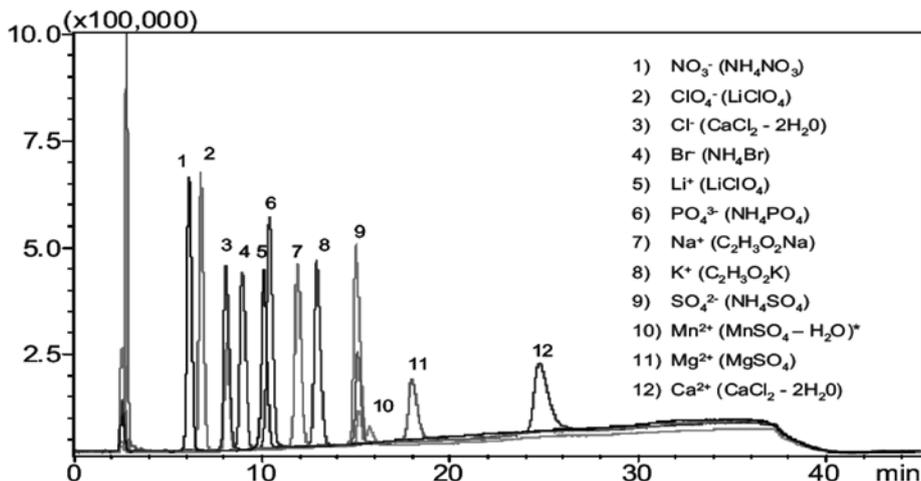
グラジエント: T=0 min 20%B, T=3 min 20% B, T=24 min 70%, T=26 min 70%, T=32 min 15%B, T=34min 20%

流速 : 0.5ml/min

検出 : CoronaCAD GAS=35psi, Range=100pA, Filter=none

注入量 : 10 μ L

イオン分析例 II



分析条件

カラム: ZIC®-pHILIC; 4.6 x 150mm, 5 μ m

カラム温度: 30 °C

注入量: 10 μ L

流速: 0.5 mL/min

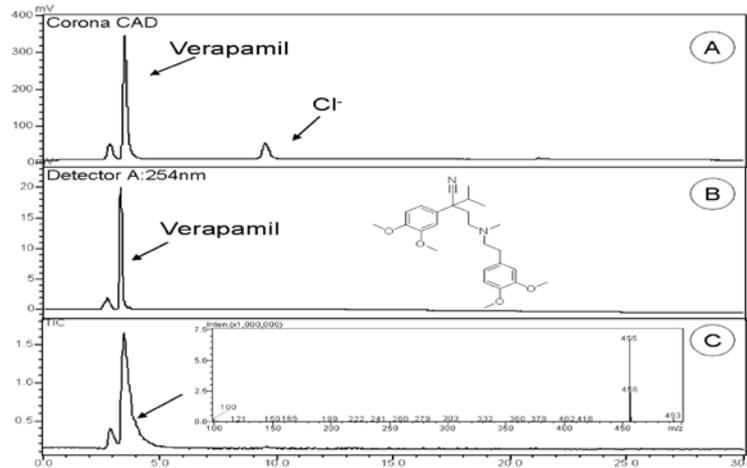
移動相 A: 15% 100 mM Ammonium Formate (pH 4.6), 5% Methanol, 20% Isopropyl Alcohol, 60% Acetonitrile

移動相 B: 65% 30 mM Ammonium Formate (pH 4.6), 5% Methanol, 20% Isopropyl Alcohol, 10% Acetonitrile

グラジエント: T=0 min 20%B, T=3 min 20% B, T=28 min 90%, T=32 min 90%, T=36 min 15%B, T=38min 20%

検出: Corona: 100pA range, no filter

Verapamil 分析例



分析条件

カラム : ZIC®-pHILIC; 4.6 x 150mm, 5 μ m

カラム温度 : 30°C

移動相 A : 15% 100mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 60% Acetonitrile

移動相 B : 50% 30mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 25% Acetonitrile

グラジエント: T=0 min 20%B, T=3 min 20% B, T=24 min 70%, T=26 min 70%, T=32 min 15%B, T=34min 20%

流速 : 0.5ml/min

検出 : A) CoronaCAD GAS=35psi, Range=100pA, Filter=none

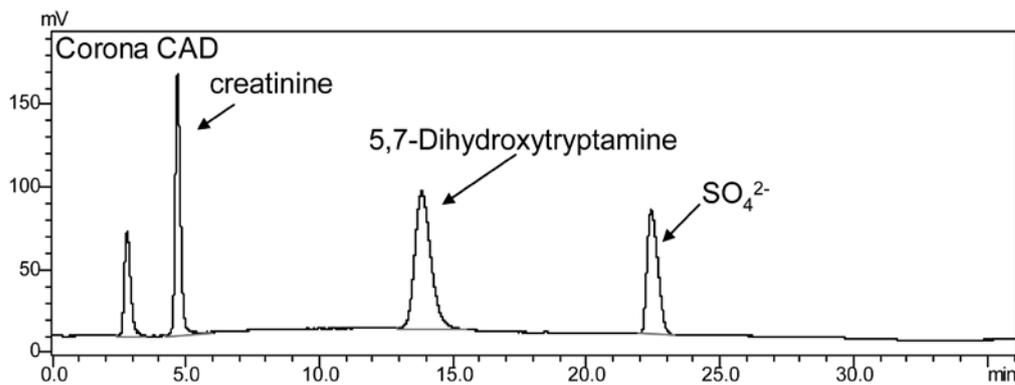
B) UV/Vis – 254nm

C) TIC mass spectrum scanning from 100-500 in positive ion mode. (Inlay)

Mass spectrum for Verapamil (MW=455.6), retention time 3.6 min.

注入量 : 10 μ L

5,7-Dihydroxytryptamine Creatinine Sulfate salt分析例



分析条件

カラム : ZIC®-pHILIC; 4.6 x 150mm, 5 μ m

カラム温度 : 30°C

移動相 A : 15% 100mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 60% Acetonitrile

移動相 B : 50% 30mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 25% Acetonitrile

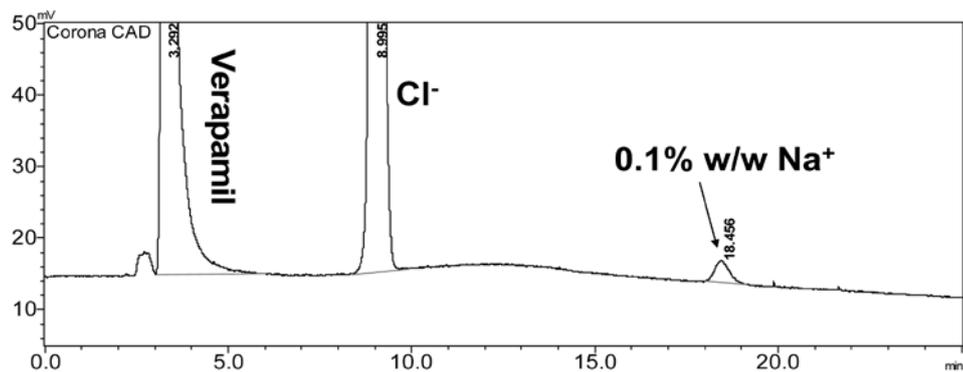
グラジエント: T=0 min 20%B, T=3 min 20% B, T=24 min 70%, T=26 min 70%, T=32 min 15%B, T=34min 20%

流速 : 0.5ml/min

検出 : CoronaCAD GAS=35psi, Range=100pA, Filter=none

注入量 : 10 μ L

Verapamil 塩酸塩と0.1% w/w Naイオンの不純物 分析例



Verapamil塩酸塩(0.7mg/L)に0.1%Naを添加のアセトニトリル/水=80/20に溶解し10 μ L注入したクロマトグラム

分析条件

カラム : ZIC[®]-pHILIC; 4.6 x 150mm, 5 μ m

カラム温度 : 30 $^{\circ}$ C

移動相 A : 15% 100mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 60% Acetonitrile

移動相 B : 50% 30mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 25% Acetonitrile

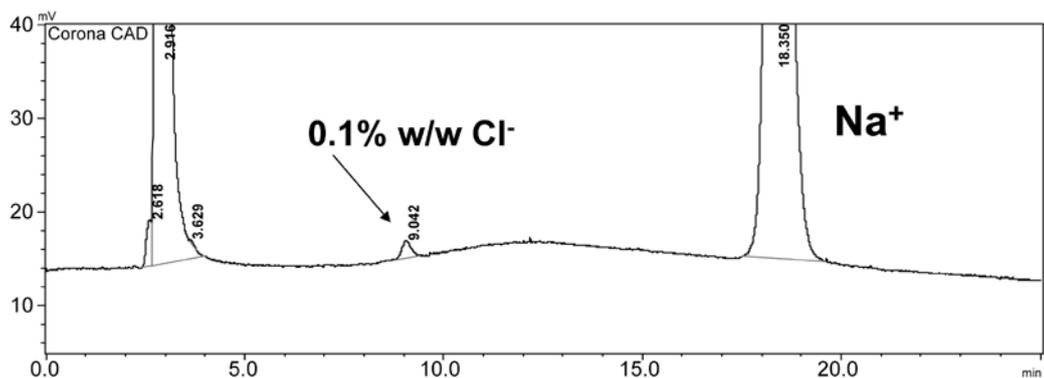
グラジエント: T=0 min 20%B, T=3 min 20% B, T=24 min 70%, T=26 min 70%, T=32 min 15%B, T=34min 20%

流速 : 0.5ml/min

検出 : CoronaCAD GAS=35psi, Range=100pA, Filter=none

注入量 : 10 μ L

Diclofenac ナトリウム塩と0.1% w/w Clイオンの不純物 分析例



Diclofenac Na塩(0.3mg/L)に0.1%塩素(w%)を添加のアセトニトリル/水=80/20に溶解し10 μ L注入したクロマトグラム。

分析条件

カラム : ZIC[®]-pHILIC; 4.6 x 150mm, 5 μ m

カラム温度 : 30 $^{\circ}$ C

移動相 A : 15% 100mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 60% Acetonitrile

移動相 B : 50% 30mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 25% Acetonitrile

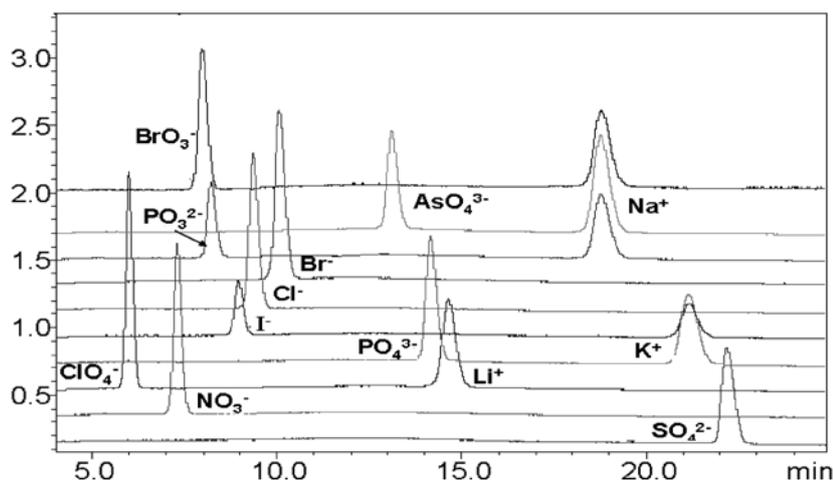
グラジエント: T=0 min 20%B, T=3 min 20% B, T=24 min 70%, T=26 min 70%, T=32 min 15%B, T=34min 20%

流速 : 0.5ml/min

検出 : CoronaCAD GAS=35psi, Range=100pA, Filter=none

注入量 : 10 μ L

無機イオン分析例



分析条件

カラム : ZIC®-pHILIC; 4.6 x 150mm, 5 μ m

カラム温度 : 30°C

移動相 A : 15% 100mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 60% Acetonitrile

移動相 B : 50% 30mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 25% Acetonitrile

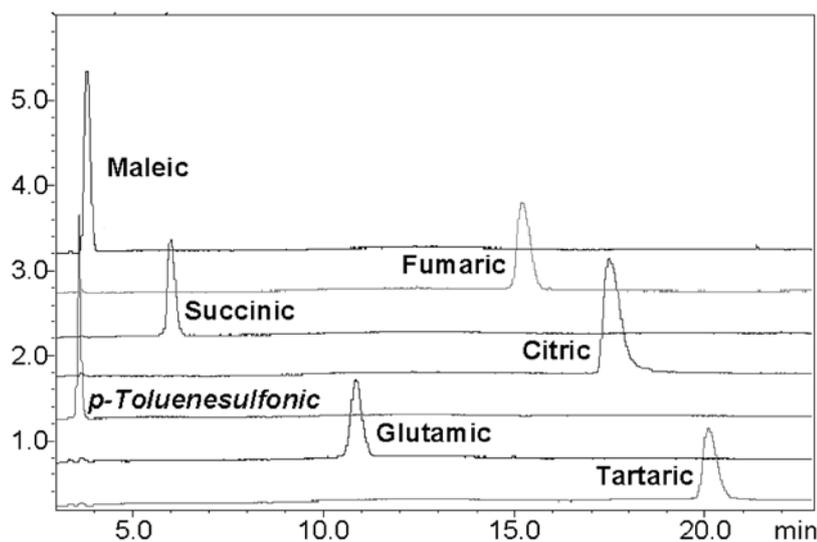
グラジエント: T=0 min 20%B, T=3 min 20% B, T=24 min 70%, T=26 min 70%, T=32 min 15%B, T=34min 20%

流速 : 0.5ml/min

検出 : CoronaCAD GAS=35psi, Range=100pA, Filter=none)

注入量 : 10 μ L

有機酸分析例



分析条件

カラム : ZIC®-pHILIC; 4.6 x 150mm, 5 μ m

カラム温度 : 30°C

移動相 A : 15% 100mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 60% Acetonitrile

移動相 B : 50% 30mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 25% Acetonitrile

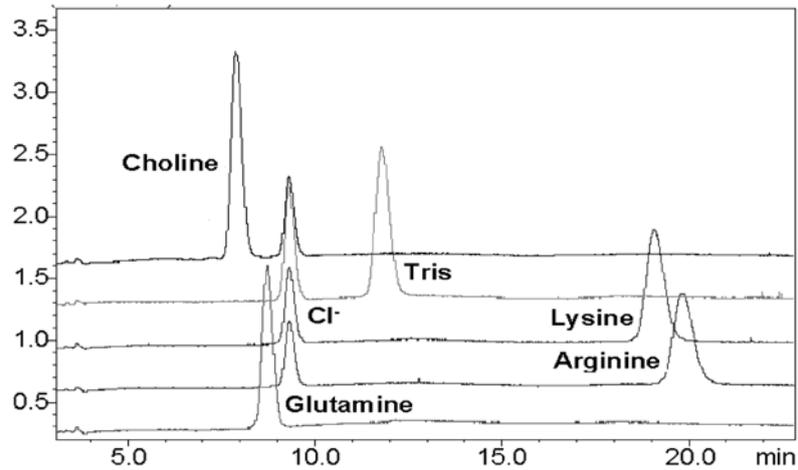
グラジエント: T=0 min 20%B, T=3 min 20% B, T=24 min 70%, T=26 min 70%, T=32 min 15%B, T=34min 20%

流速 : 0.5ml/min

検出 : CoronaCAD GAS=35psi, Range=100pA, Filter=none)

注入量 : 10 μ L

有機塩基分析例



分析条件

カラム : ZIC®-pHILIC; 4.6 x 150mm, 5 μ m

カラム温度 : 30 $^{\circ}$ C

移動相 A : 15% 100mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 60% Acetonitrile

移動相 B : 50% 30mM Ammonium Acetate pH=4.68, 5% Methanol, 20% IPA, 25% Acetonitrile

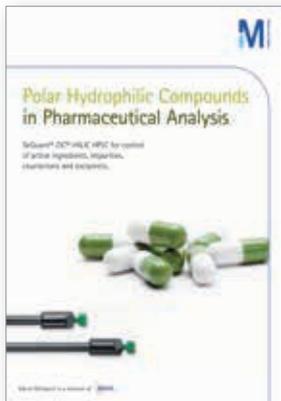
グラジエント: T=0 min 20%B, T=3 min 20% B, T=24 min 70%, T=26 min 70%, T=32 min 15%B, T=34min 20%

流速 : 0.5ml/min

検出 : CoronaCAD GAS=35psi、Range=100pA、Filter=none)

注入量 : 10 μ L

お知らせ アプリケーション集 配布中！



Polar Hydrophilic Compounds in Pharmaceutical Analysis
医薬品分析における極性化合物の分析事例を多数ご紹介。



Food safety and Food quality control
食品分野における法規制の動向や、極性化合物の分析プロトコルを収載。

▼ ZIC-HILIC シリーズのアプリケーションデータの詳細はこちらから

www.merckmillipore.jp/ZIC-HILIC

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。また化粧品や食品など他の用途には使用しないでください。本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのであらかじめご了承ください。本書の内容を無断で複製・複製・転載すると、著作権の侵害となる場合がありますのでご注意ください。本文中のすべてのブランド名または製品名は特記なき場合、Merck KGaA の登録商標もしくは商標です。Merck Millipore and the M mark are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

メルク株式会社

メルクミリポア事業本部 ラボエッセンシャルズ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒1-8-1 アルコタワー5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.jp

お問合せ▶On-Line:www.merckmillipore.jp/jpts Tel: 0120-013-828 Fax: 03-5434-4706

[LEM063A-1406]0.5K/M