

インタクト10周年記念製品 第一弾！

世界初の両イオン交換型マルチモードODSカラム … スケルツォODS

アニオン交換+カチオン交換+順相+逆相オールインワンタイプのODSカラム

スケルツォ Scherzo SM-C18

アニオン性化合物もカチオン性化合物も同時に分析が可能

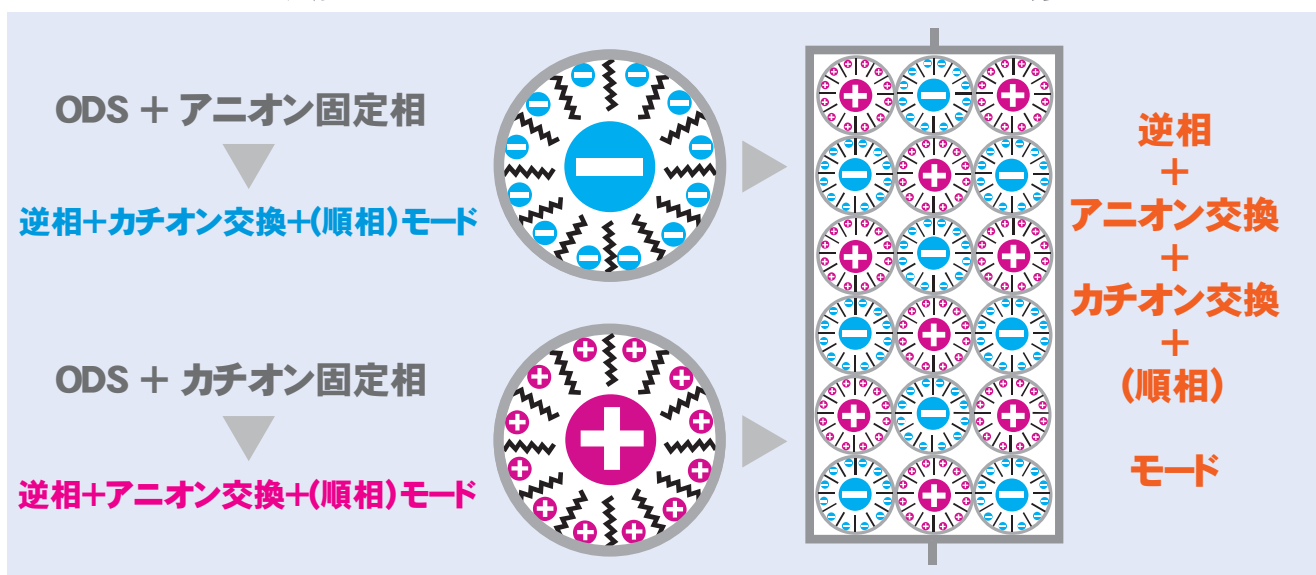
ODS+イオン交換や逆相+順相分離が可能

高極性化合物の保持や分離に

イオン対試薬不要のLC-MS対応

高純度全多孔性球状シリカ / 3 μm 粒子 / 13nm 細孔 / ODS+アニオン交換+カチオン交換固定相

画期的なマルチモードODSカラムの登場



インタクトは世界初(当社調査)の画期的なマルチモードODSカラムを開発しました。

生体成分や代謝物はイオン性高極性物質が多く、従来のODSでは保持や分離が困難な場合が多くあります。これに対する現状の方法には以下のような問題点があります。

- ・逆相イオン対クロマトグラフィーではイオン対試薬をLC-MSに適用しにくい
- ・水系順相クロマトグラフィーでは極性に差のある物質を同時に分析しにくい

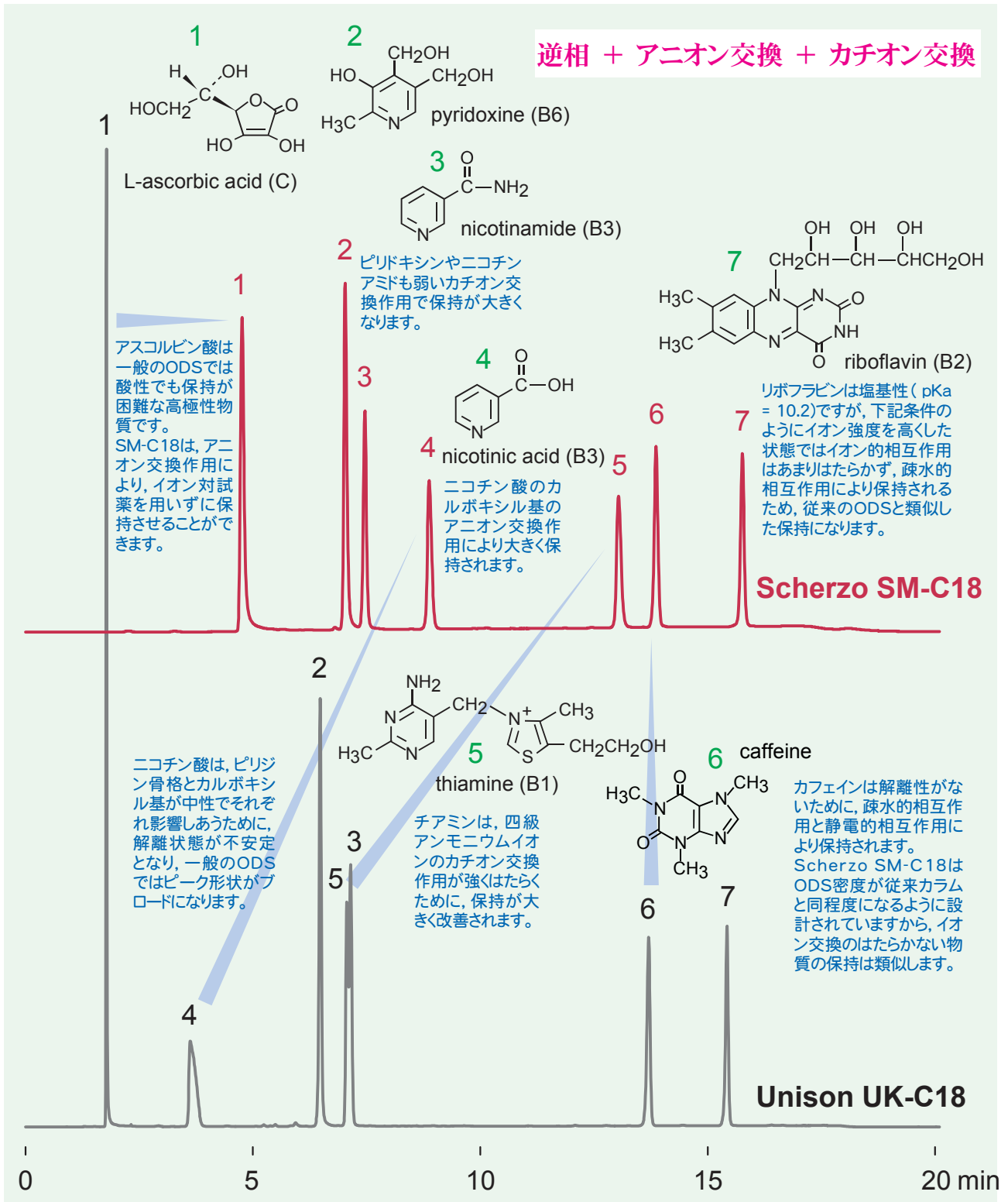
Scherzo(スケルツォ) SM-C18には、これらの課題をすべて解決できる大きな可能性があります。高純度全多孔性シリカゲルにODSリガンド、アニオン交換基、カチオン交換基をそれぞれ導入することにより、アニオン性物質もカチオン性物質も同時に保持させることができます。しかも従来のODSカラムと同等の疎水性を有していますから、使い慣れた逆相分離モードが基本的に適用できます。さらには、イオン交換基による順相分離モードもはたらくため、特殊なケースとしては逆相と順相を同時に作用させた分離も可能となります。

いままでの逆相分離の限界を突破する、まったく新しいマルチモードODSカラムの誕生です。

マルチモードODSの分離メカニズム (逆相+アニオン交換+カチオン交換)

マルチモードODSカラム Scherzo SM-C18 は、ODSリガンドによる基本的な逆相分離に加え、アニオン交換モードとカチオン交換モードが同時に作用するために、水溶性ビタミンの分離ではイオン対試薬を添加せずに分離が可能になります。

● 水溶性ビタミン



150 x 3 mm (Scherzo SM-C18, Unison UK-C18)

A: 3mM ammonium formate

B: 25mM ammonium formate /acetonitrile = 80 / 20

0 - 100%B (0 - 15 min)

0.4 mL/min (8-9MPa), 37 deg.C, 260 nm

2 uL (0.08-1.5ug, diluted with 0.1M ammonium formate)

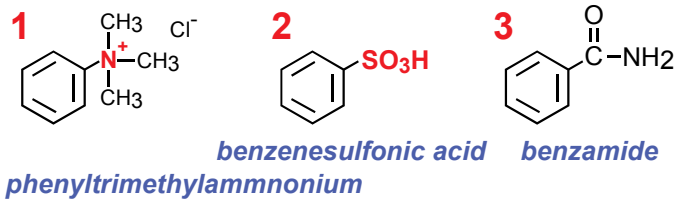
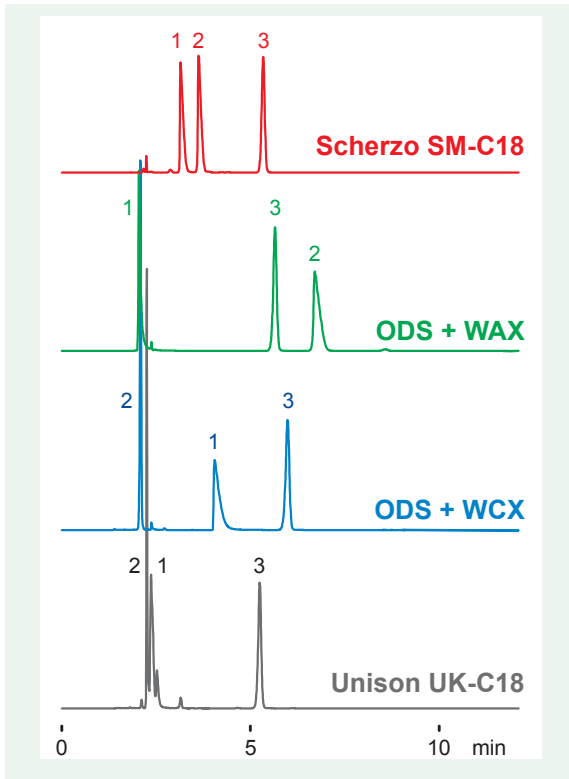
移動相はイオンペア試薬を用いず、しかも低イオン強度です。ここでは、チアミンとリボフラビンの溶出バランスを得るために、有機溶媒濃度グラジエント(逆相モード)とギ酸アンモニウムの塩濃度グラジエント(イオン交換モード)を併用しています。

酸と塩基の混合溶質の場合、試料溶液に適度なイオン強度を持たせて溶質どうしのイオン結合を防ぐ必要があります。

🎵 マルチモードODSの分離メカニズム (逆相+アニオン交換+カチオン交換)

イオン性物質の場合、一般のODSカラムでは保持できない場合があります。Scherzo SM-C18は、アニオン性物質もカチオン性物質も同時に保持させることができます。

● 各種ODSカラムの比較

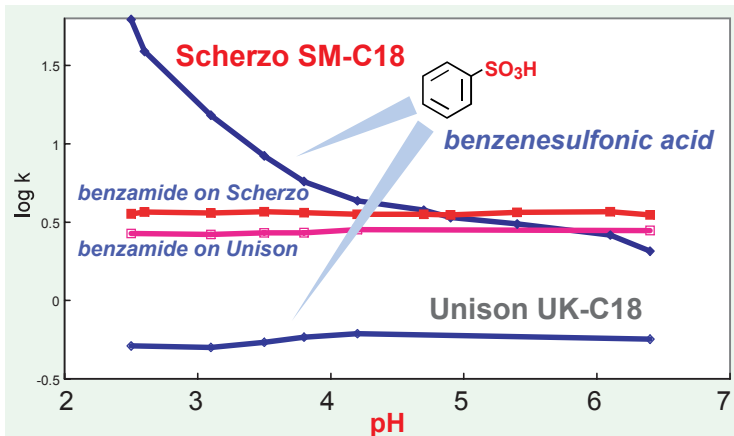


四級アンモニウム化合物やスルホン酸などの強イオン性物質を含む試料は、従来のODSカラムでは保持や分離が困難な場合があります。また、ミックスモード系の逆相カラムでは、アニオン固定相かカチオン固定相のどちらかしか導入されておらず、酸や塩基を同時に保持することが困難です。

マルチモードODSカラム, Scherzo SM-C18は、ODSの他にアニオン固定相とカチオン固定相の両方を導入していますから、酸や塩基が同時に存在していても保持・分離することが可能です。しかも1本でアニオン交換モードもカチオン交換モードもはたりますから、従来のODSカラムでは保持や分離が困難であったメソッドが格段に改善できる可能性を秘めています。

150 x 3 mm
50 mM ammonium formate /acetonitrile = 85 /15
0.4 mL/min (8-9MPa), 40 deg.C, 260nm

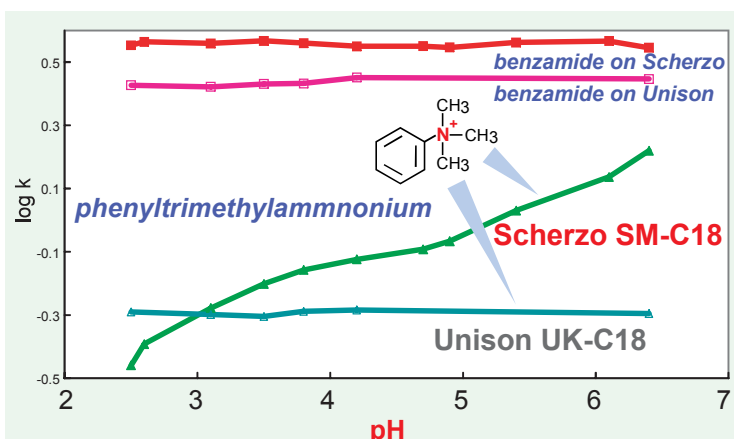
● pHの保持への影響



マルチモードODSカラムScherzo SM-C18は、ODSに加えて両イオン交換基を導入していますから、イオン性物質の保持は移動相pHによって大きく変化します。

左図のスルホン酸や四級アミンのような強イオン性物質は、一般的ODSではいずれのpHでもほとんど保持しませんが、SM-C18ではpHを変化させることで保持が可能になります。この保持はpHによってイオンの相互作用の大きさが変化するために生じるものです。

イオン性物質には以下のような保持傾向があります。すなわち、スルホン酸などの酸性物質はpHが低くなるほど保持が大きくなります。一方、塩基性化合物はpHが高くなるほど保持が大きくなります。また、中性物質の保持はpHに依存しません。Scherzo SM-C18では、疎水的相互作用とともにイオンの相互作用がアニオンにもカチオンにも同時にはたります。したがって、有機溶媒濃度とともにpHやイオン強度を最適化することで、従来のODSカラムとはかなり異なる分離特性を容易に得ることができます。

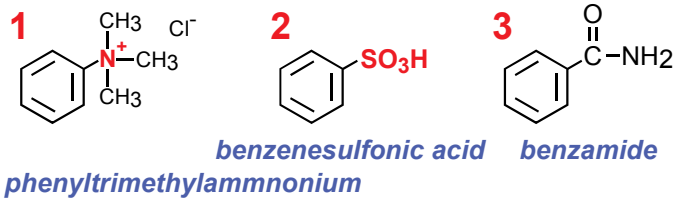
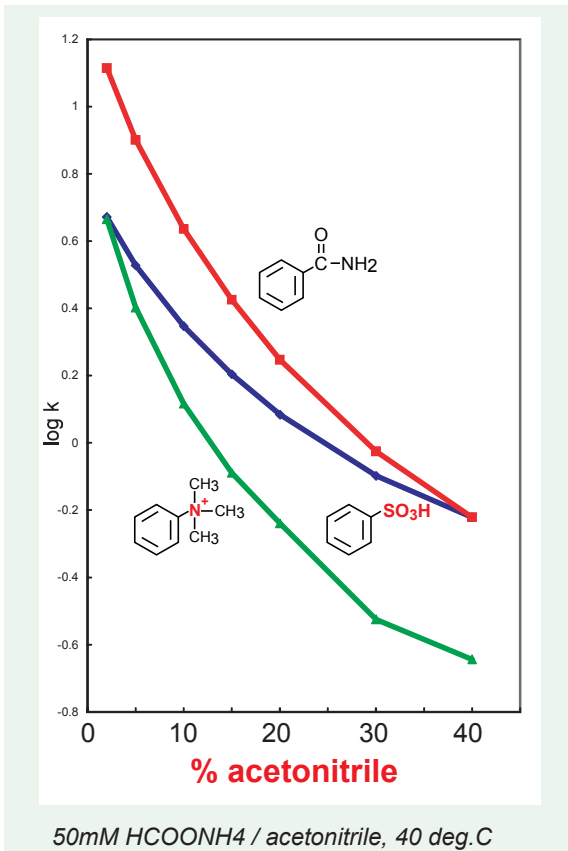


(50mM HCOOH - 50mM HCOONH4) /acetonitrile = 85 /15, 40 deg.C

🎵 マルチモードODSの分離メカニズム (逆相+アニオン交換+カチオン交換)

Scherzo SM-C18でイオン性物質を分離する場合、pHだけでなく、有機溶媒濃度や塩濃度、温度などの分析環境によって分離特性が大きく変化します。

● 有機溶媒濃度の保持への影響



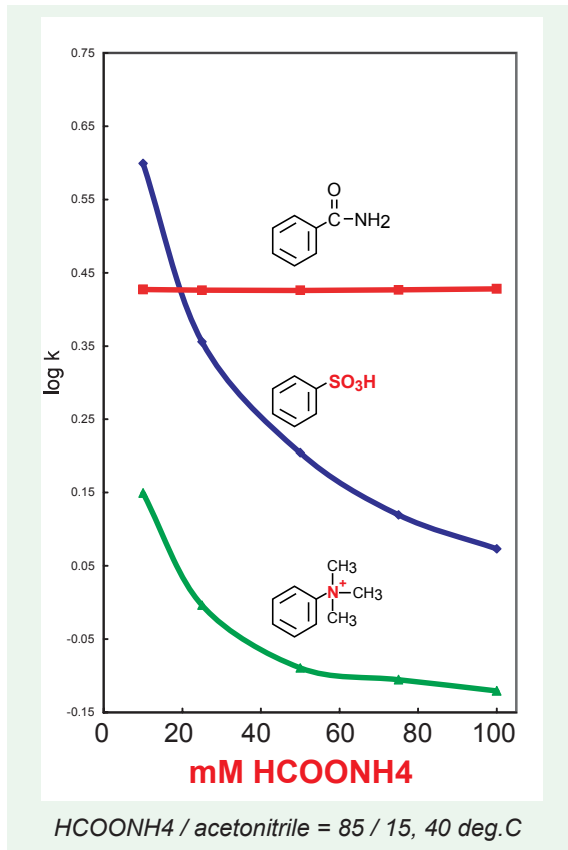
Scherzo SM-C18はイオン性物質を保持する特性があります。イオン性物質の保持・分離挙動はpHでも大きく変化しますが、他の要因でも変化します。

左図は有機溶媒濃度と保持の関係を表しています。ベンゼンの置換体である3種の化合物は、置換基がそれぞれ塩基(四級アンモニウム)、酸(スルホン酸)、中性(アミド)からなっており、イオンの性質が異なります。その結果有機溶媒濃度の上昇に伴う移動相中のイオン環境の変化により、3物質間の保持・分離特性が変化しています。

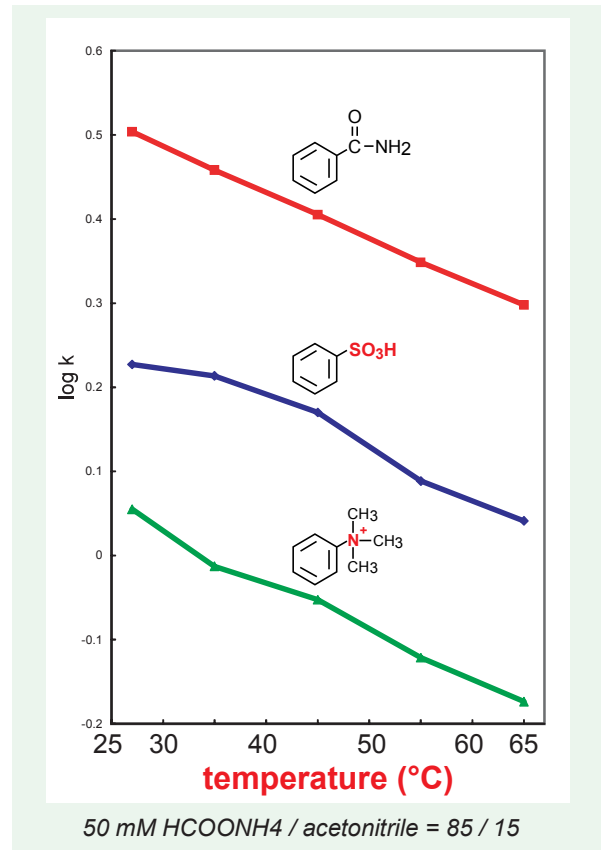
下段左図は塩濃度と保持の関係を表しています。中性のベンズアミドは塩濃度の影響をほとんど受けませんが、イオン性物質はどちらも塩濃度の上昇に伴い、保持が大きく低下しています。

下段右図は温度と保持の関係を示しています。適度に疎水性を有するこれらの3物質は、温度の上昇とともに保持が低下しています。

● 塩濃度の保持への影響



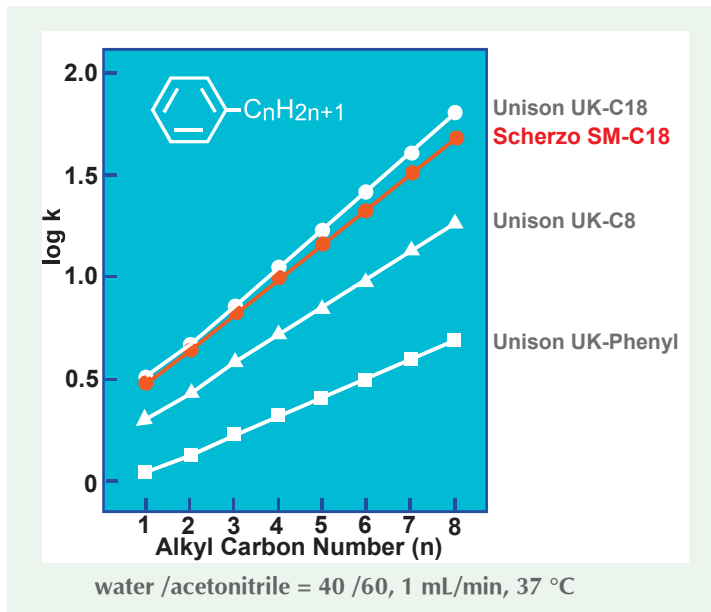
● 温度の保持への影響



マルチモードODSの分離メカニズム (逆相)

マルチモードODSカラム Scherzo SM-C18 の基本的分離モードは逆相であり、主たる固定相リガンドはODSです。中性の疎水性物質は従来カラム(Unison UK-C18)と同程度の保持が得られるように設計されています。

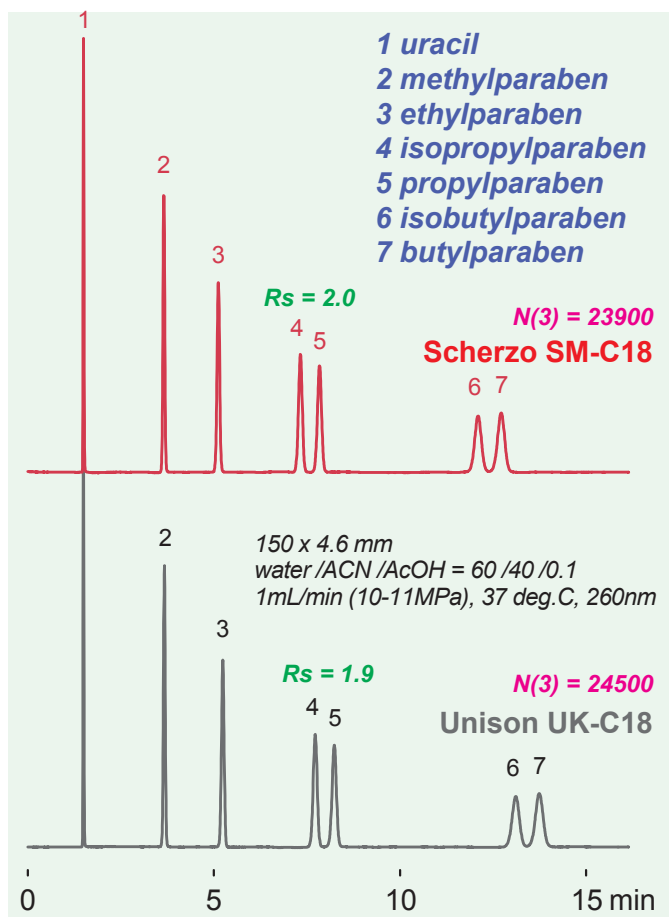
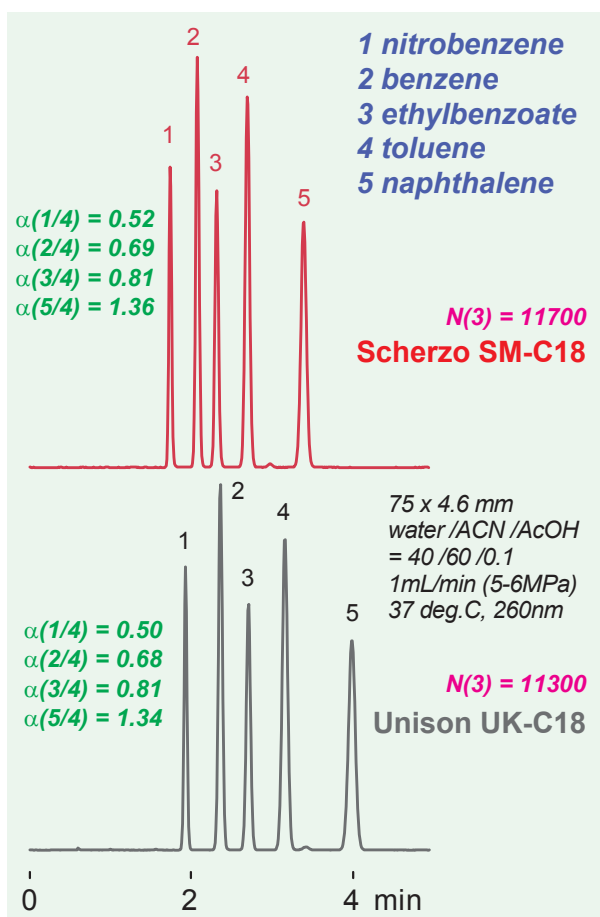
● 疎水的相互作用



疎水的相互作用はODSカラムにとって大変重要な相互作用です。Scherzo SM-C18は、いわゆる従来のミックスモード逆相カラムと異なり、ODSカラムとしての機能を優先しています。したがって、使い慣れたODSカラムに近い疎水的相互作用が期待できます。

左図はアルキルベンゼンの鎖長数と保持の関係を示しています。直線の傾き(メチレン鎖に対する保持の大きさ)が疎水性をあらわしています。Scherzo SM-C18は、Unison UK-C18とほぼ同等の疎水性を示しています。

Scherzo SM-C18とUnison UK-C18を同時に使用することにより、イオン性物質の挙動を観察することが容易になります。



疎水性化合物の保持・分離特性を比較しました。Scherzo SM-C18の保持は、全体的にわずかにUnison UK-C18よりも短くなっていますが、分離特性はほぼ同じ値を示しました。アニオン/カチオンを導入したScherzo SM-C18の疎水性化合物に与える影響は小さいと考えられます。

パラベン類の比較に関しても、Scherzo SM-C18 と Unison UK-C18 は同様の結果となりました。

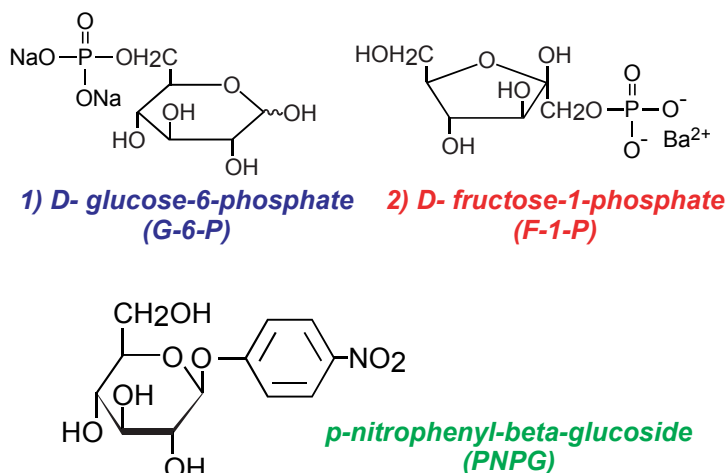
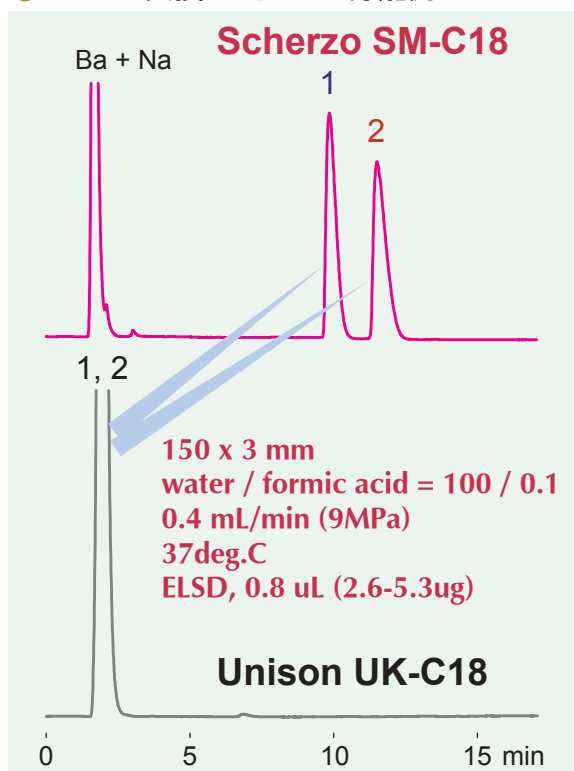
構造異性体であるイソプロピルパラベンとプロピルパラベンの分離度もほとんど同じ値を示し、Scherzo SM-C18の分子認識は通常のODSと同等であると考えられます。

両カラムの理論段数も同程度であり、インタクト特有の高理論段3 μ mの特性が発揮されています。

マルチモードODSの分離メカニズム (イオン交換)

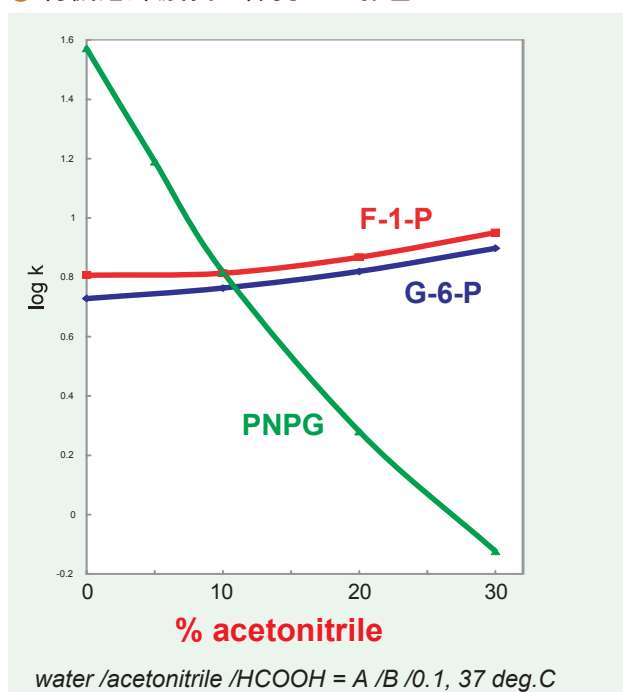
逆相モードがほとんどはたらない高極性の強イオン性化合物の場合でも、マルチモードODSカラム Scherzo SM-C18 がイオン交換カラムとして威力を発揮します。

● アニオン交換モードによる分離例



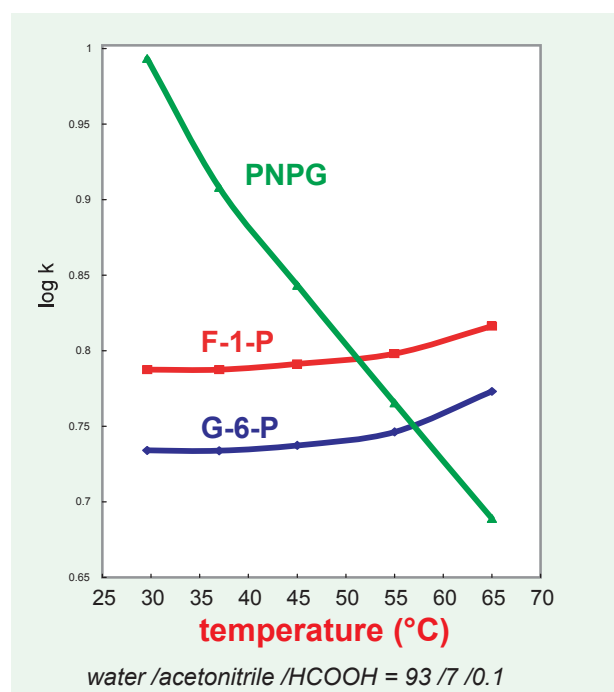
Scherzo SM-C18は強イオン性物質を強く保持します。左図のように、リン酸化合物はpKaが低いため固定相のカチオン基と強くイオンの相互作用します。そのため、一般的ODSカラムではまったく保持できないものが、水100%系で保持されます。このように、有機溶媒を使用しないで、イオンの相互作用だけで保持するような高極性物質の場合、下図のように逆相モードはたらず、順相モードが作用することになります。

● 有機溶媒濃度の保持への影響



糖リン酸は極性が極めて高いアニオン性化合物です。PNPGはフェノール構造があるため、アセトニトリル濃度の上昇とともに保持の急激な低下が認められますが、糖リン酸は、緩やかに保持が増大する、順相モードがはたります。このような高極性物質の場合、有機溶媒を適度に加えることにより、LC-MSにおけるイオン化効率の向上が期待できます。

● 温度の保持への影響

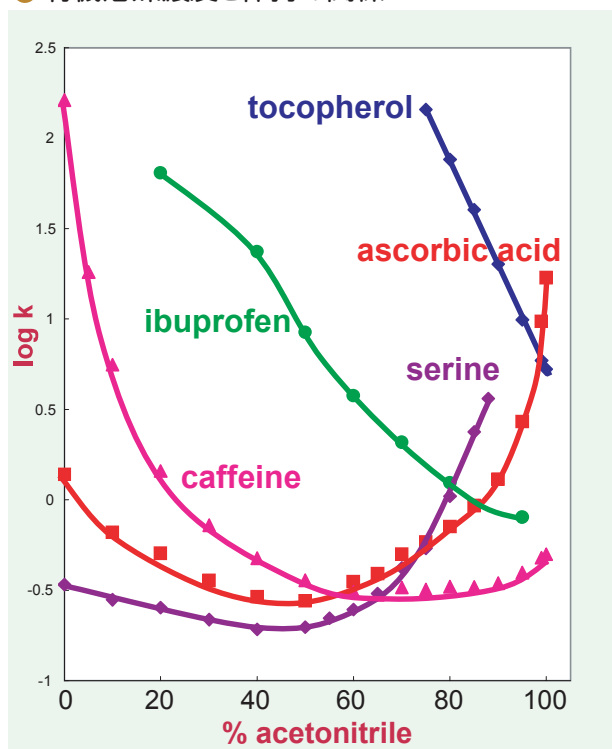


糖リン酸をイオンの相互作用だけで保持させた場合、温度の上昇に伴う保持の低下が発生しなくなります。適度に疎水性を有する化合物は温度の影響により疎水性が低下して保持が小さくなります。これらの化合物を一斉に分離する場合、温度を最適化することで、分離バランスを調整することも可能です。

マルチモードODSの分離メカニズム (逆相+順相)

マルチモードODSカラム Scherzo SM-C18 の基本的分離モードは逆相ですが、極めて極性の高い溶質の場合は、まれに順相モードがはたらくことがあります。

● 有機溶媒濃度と保持の関係



左図は、Scherzo SM-C18 を用いたときの移動相中のアセトニトリル濃度と保持の関係を示しています。

トコフェロールは極めて低極性であり、高有機溶媒濃度でないと溶出が困難です。

イブプロフェンは酸性物質ですが、適度な疎水性があるために、逆相的な溶出挙動をとります。

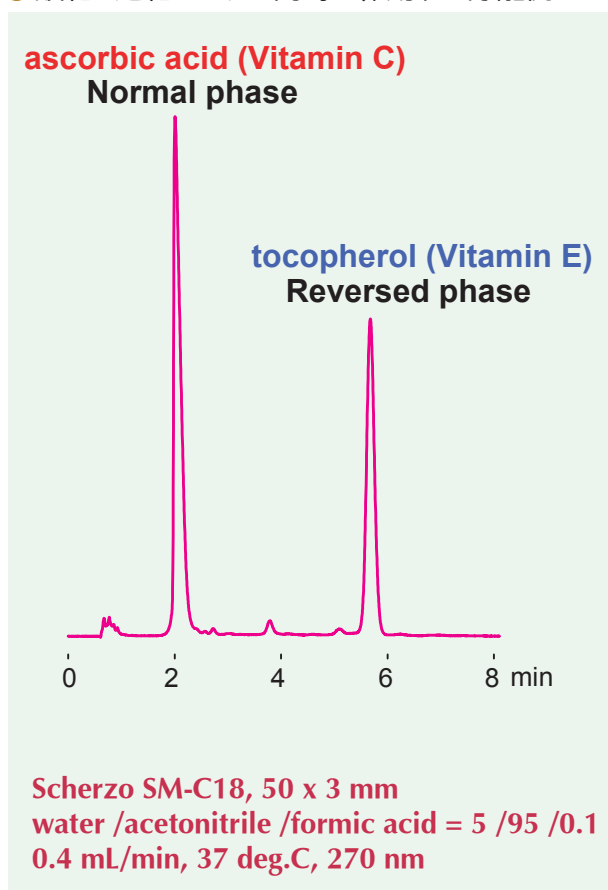
カフェインは高極性ですが、若干の疎水性があるために、60%アセトニトリルまでは保持が小さくなりますが、80%以上でわずかに順相的な保持挙動を示します。

アスコルビン酸は高極性で40%あたりまで保持が小さくなりますが、50%以上で次第に保持が大きくなるという、順相の保持挙動を示します。

セリンは双性イオンのアミノ酸で、極めて極性が高く通常ODSではほとんど保持されません。本カラムでは50%以上から保持が大きくなり、順相モードがはたらいっていることがわかります。

以上のように、極性の低い化合物はほとんど逆相モードしかはたらくませんが、高極性物質の場合、高有機溶媒濃度において順相モードで分離できる可能性があります。

● 順相と逆相モードが同時に作用する分離例



ビタミン製剤には水溶性のアスコルビン酸 (ビタミンC) と、脂溶性のトコフェロール (ビタミンE) が含有される場合が多くあります。これらは極性が大きく離れているために、通常はひとつの分離系で分析することは困難です。

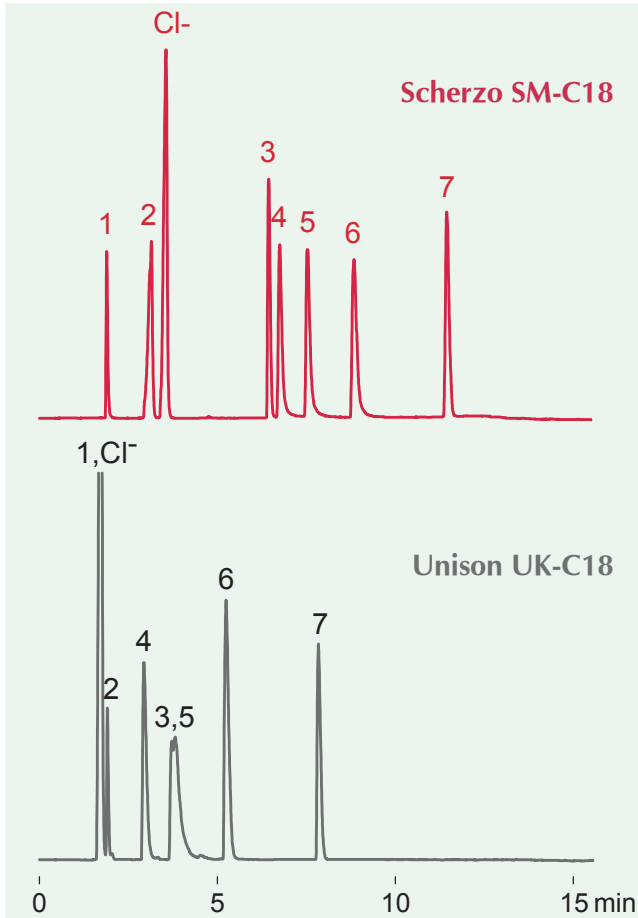
左図はマルチモードODS Scherzo SM-C18 の特性である、逆相+順相モードを応用して同時分析した事例です。

前述のように、トコフェロールは常に逆相モード、一方アスコルビン酸は高有機溶媒濃度において順相の挙動をとりますから、適度な有機溶媒濃度を設定するなら、同時に保持させることが可能となります。しかもアイソクラティック分析が可能であり、従来困難であったビタミンC+Eの同時分析法として、品質管理などに極めて有益なメソッドになることが期待されます。

高極性化合物への適用

マルチモードODSカラム Scherzo SM-C18 は基本的分離モードの逆相に加え、アニオン交換やカチオン交換、あるいは順相モードの組み合わせにより、従来のODSカラムでは困難な分離に可能性が拓かれます。

● ニューロトランスミッター(神経伝達物質)

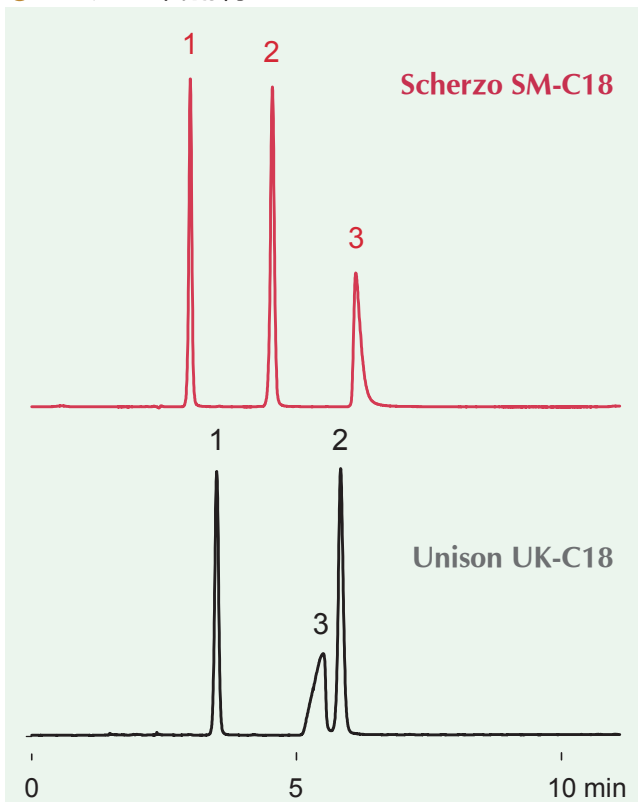


カテコールアミンなどのニューロトランスミッターは極性が高く、一般的ODSではイオン対試薬が必要とされています。Scherzo SM-C18は、カテコールアミンだけでなく、GABAやグルタミン酸、アセチルコリンも、イオン対試薬を必要とせずに良好に分離することができます。

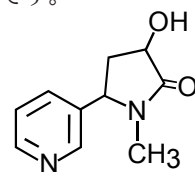
- 1) 4-aminobutyric acid (GABA)
- 2) glutamic acid
- 3) acetylcholine hydrochloride
- 4) noradrenaline
- 5) adrenaline
- 6) dopamine hydrochloride
- 7) serotonin hydrochloride

150 x 3 mm
 A: 3mM ammonium acetate
 B: 80mM ammonium acetate /acetonitrile = 80 /20
 0-100%B (0-12min)
 0.4mL/min (9MPa), 37deg.C, ELSD
 3uL (0.65-2.6ug)

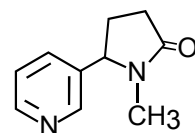
● ニコチンと代謝物



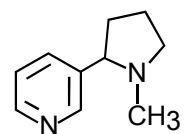
ニコチンとその代謝物は塩基性であり、一般的ODSでは分離やピーク形状が難しい化合物のひとつです。Scherzo SM-C18では、中性pHで容易にアイソクラティック分析が可能です。



1) hydroxycotinine



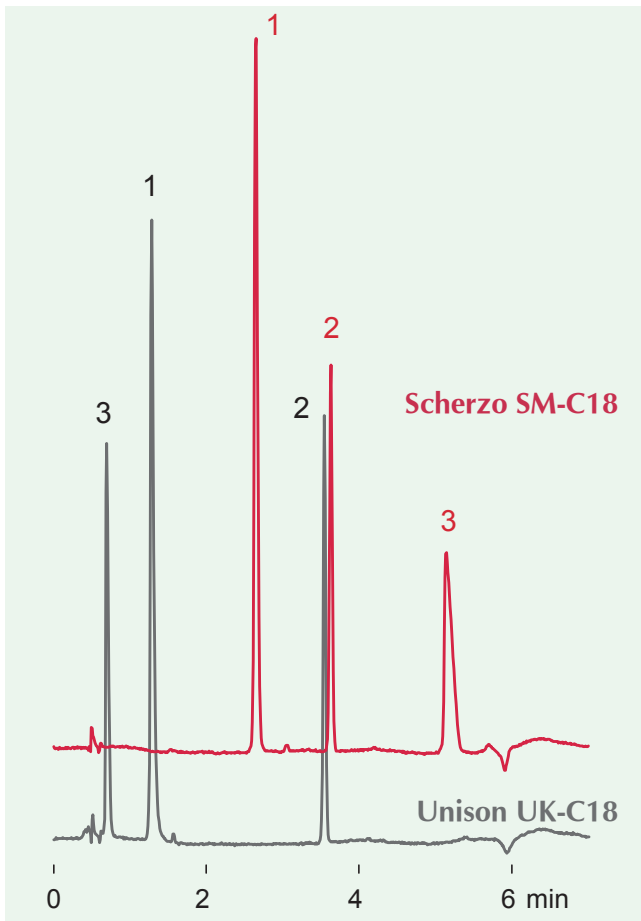
2) cotinine



3) nicotine

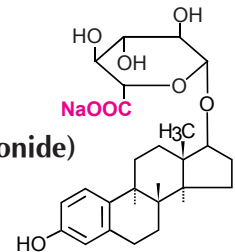
150 x 3 mm
 50mM ammonium acetate /acetonitrile = 85 /15
 0.4mL/min (9-10MPa), 37deg.C, 260nm
 0.4uL (0.25ug)

● ステロイドホルモンと代謝物

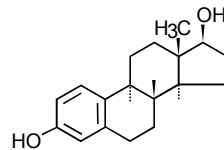


物質代謝産物であるグルクロン酸包合体や硫酸包合体は、グルクロン酸基や硫酸基により極性が高くなり、一般的 ODSカラムでは保持が小さくなります。Scherzo SM-C18 はこれらイオン性物質を強く保持し、しかも代謝物を解離状態(中性)で保持することができるため、ESI-MSによる検出感度の向上が期待できます。

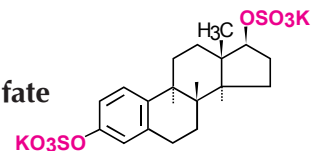
1) β -estradiol 17-(β -D-glucuronide)



2) 17 β -estradiol



3) β -estradiol 3,17-disulfate



50 x 3 mm

A: 5mM ammonium acetate

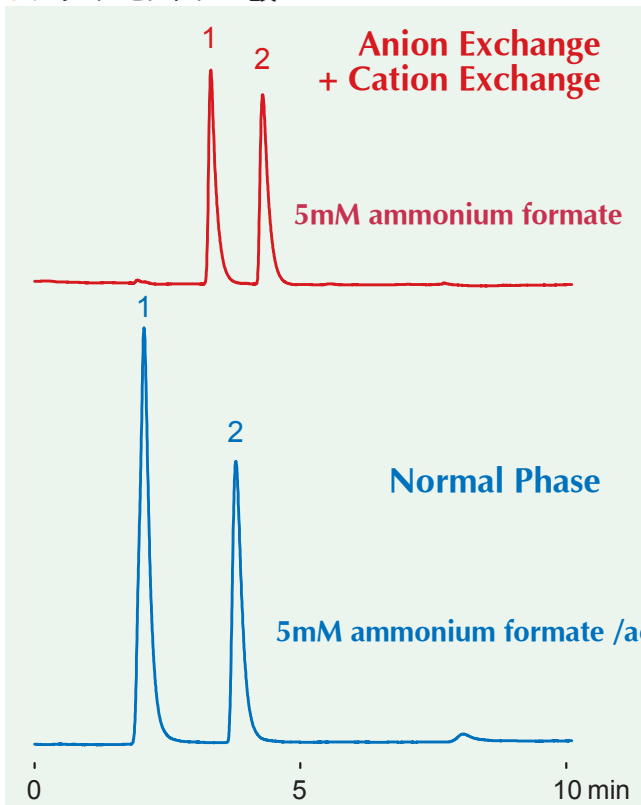
B: 125mM ammonium acetate /acetonitrile = 20 /80

30-100%B (0-5min)

0.5mL/min (5-9MPa), 37deg.C, 280nm

1 μ L (0.5-2.5 μ g)

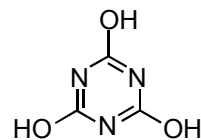
● メラミンとシアヌル酸



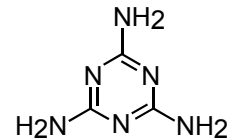
高極性物質である塩基性のメラミンと酸性のシアヌル酸を逆相で同時分析することは困難です。

Scherzo SM-C18 はアニオン交換もカチオン交換も同時に作用することができるため、両物質をイオンの相互作用により分離することができます。

また、これらは逆相モードがほとんどはたらかない高極性物質であることから、順相モードで保持・分離させることができます。



1) cyanuric acid



2) melamine

Scherzo SM-C18, 150 x 3 mm

0.4mL/min (4-9MPa), 37deg.C, ELSD

3 μ L (1.5 μ g, 2.5% NH₄OH)

♪ Scherzo SM-C18 使用上の留意点

Scherzo SM-C18 は、ODSリガンドに加えアニオン交換基とカチオン交換基を導入しています。イオン性溶質との間に比較的強いイオンの相互作用がはたらくため、移動相や固定相表面の電荷の状態によって保持や分離が変化する場合があります。再現性の高いメソッドを確立するために、本カラムを使用する場合は以下の事項に留意してください。

● 繰り返し分析をおこない、分離の再現性を確認する

固定相のイオン交換基の解離状態が安定していない場合、注入を繰り返すと保持や分離が変化する場合があります。最適化された分析条件により、数回の繰り返し分析を実施して再現性を確認してください。保持が安定しないようであれば、イオン強度を上げるか、グラジエント分析にするなどの工夫をおこなってください。

● 試料溶液中の塩濃度

試料溶液中に酸性物質や塩基性物質が混在する場合、それらが塩を形成するために、カラム内における物質拡散に影響を与えることがあります。この場合は試料溶液に高濃度の塩（もしくは酸）を添加してください。

● 移動相緩衝液は酸と塩基の体積比で調製する。pHメーターで合わせる調製はしない

pHメーターにより緩衝液を調製すると、酸-塩基の体積比が微妙に異なり、陽イオン濃度の変化のためにイオン性物質の保持の再現性が得られなくなる恐れがあります。下表を参考に、分析に必要な同濃度の酸と塩基をそれぞれ調製し、これらを必要な体積比で混合してください。

酢酸緩衝液（酸性 - 中性）

	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
20mM CH ₃ COOH											
20mM CH ₃ COONH ₄	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pH	3.2	3.8	4.1	4.3	4.6	4.7	4.8	5.0	5.3	5.6	6.8

ギ酸緩衝液（酸性 - 中性）

	10	8	6	4	2	1	0.5	0.2	0.1	0
50mM HCOOH										
50mM HCOONH ₄	0	2	4	6	8	9	9.5	9.8	9.9	10
pH	2.5	3.1	3.5	3.8	4.2	4.7	4.9	5.4	6.1	6.4

左表の緩衝液では、室温における設定濃度のpHを示しています。この値は緩衝液濃度や分析温度によって若干異なります。したがって左図のpH値はあくまで目安としてください。

Scherzo CM-C18 を使用する場合はpH調整剤は、必ず同濃度の酸-塩基を体積比で混合してください。このpH調整剤と有機溶媒を組み合わせることで移動相を調製してください。

♪ オーダリングインフォメーション

スケルトン Scherzo SM-C18 粒子径:3μm, 細孔径:13nm, 固定相:ODS + アニオン交換 + カチオン交換リガンド

3μm

長さ (mm)	製品コード / 税抜価格 (円)						
	内径 1 mm	内径 1.5 mm	内径 2 mm	内径 3 mm	内径 4.6 mm	内径 6 mm	内径 10 mm
10	-	-	SM020 / 45,000	SM030 / 45,000	SM000 / 45,000	-	-
20	-	-	SM029 / 45,000	SM039 / 45,000	SM009 / 45,000	-	-
30	SM011 / 45,000	SM071 / 45,000	SM021 / 45,000	SM031 / 45,000	SM001 / 45,000	SM061 / 48,000	SMOP1 / 68,000
50	SM012 / 45,000	SM072 / 45,000	SM022 / 45,000	SM032 / 45,000	SM002 / 45,000	SM062 / 53,000	SMOP2 / 80,000
75	SM013 / 48,000	SM073 / 48,000	SM023 / 48,000	SM033 / 48,000	SM003 / 48,000	SM063 / 58,000	SMOP3 / 95,000
100	SM014 / 53,000	SM074 / 53,000	SM024 / 53,000	SM034 / 53,000	SM004 / 53,000	SM064 / 65,000	SMOP4 / 120,000
150	SM015 / 58,000	SM075 / 58,000	SM025 / 58,000	SM035 / 58,000	SM005 / 58,000	SM065 / 75,000	SMOP5 / 150,000
250	SM016 / 75,000	SM076 / 75,000	SM026 / 75,000	SM036 / 75,000	SM006 / 75,000	SM066 / 95,000	SMOP6 / 180,000
500	-	-	-	-	SM007 / 130,000	-	-

♪ ガードホルダー (カラムカバー付属)

分離カラム内径	製品コード	税抜価格 (円)
1 - 6 mm 用	GCH01S	26,000
10 mm 用	GCH02M	35,000

♪ ガードカートリッジ SM-C18

初めてガードカートリッジをお使いの際はガードホルダーを別途ご購入ください。

分離カラム内径	製品コード	税抜価格 (円)	備考
1-1.5 mm 用	GCSMOC	23,000	5 x 1 mm, 3個入
2 - 6 mm 用	GCSMOS	17,000	5 x 2 mm, 3個入
10 mm 用	GCSMOM	23,000	10 x 8 mm, 2個入

「マイクロ/ナノカラム」についてはお問い合わせください。

取扱店

Imtakt
インタクト株式会社

ホームページをご覧ください。
最新情報があります。

www.imtakt.com

〒600-8813 京都市下京区中堂寺南町 京都市サーチパーク
PHONE:075-315-3006 FAX:075-315-3009 E-mail: info@imtakt.com