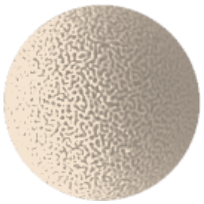
シリカの活性コントロールで、C18(ODS)はこんなに変わる！

高度不活性化HPLCカラムが実現する「低吸着」と「高分離」



ChromaNik

株式会社クロマニック テクノロジーズ
カラムコンシェルジュ
小山　隆次

Silanol activity control makes such a difference! Enhance HPLC with highly deactivated C18 columns.

高度不活性化HPLCカラム　～概要～

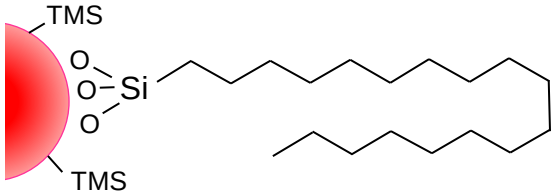
1. シラノールの活性コントロール（SAC）
2. 高度エンドキャッピング法と高安定化
3. C18で困った時の第2選択：ビフェニル
4. 最高度不活性化カラム：プロミナート

Prominert

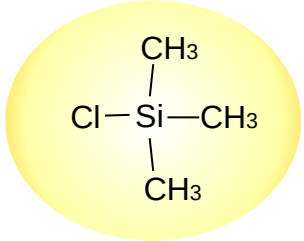
2022.10. New Release!

「オクタデシルシリル化シリカゲル」

C18
（ODS）



エンドキャッピング試薬の一例
（TMCS）

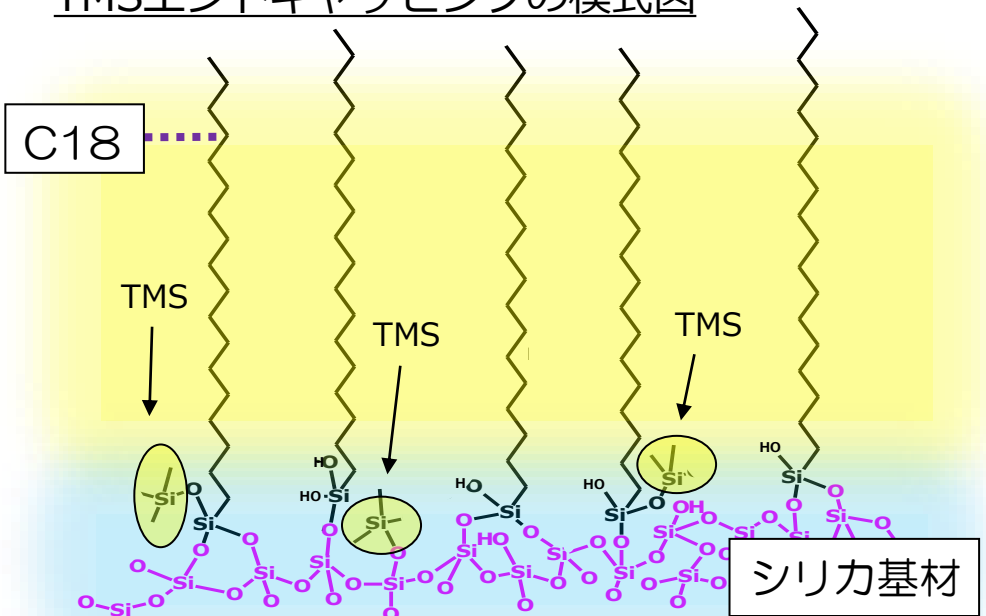


Trimethylchlorosilane

逆相HPLCにおける代表的固定相。通例、シリカゲルにC18を結合後、シラノールを不活性化する処理を加えて作製する。

エンドキャッピング

TMSエンドキャッピングの模式図

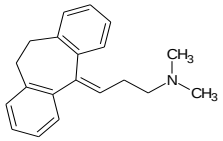


但し、シラノール基を完全に反応させることは困難…

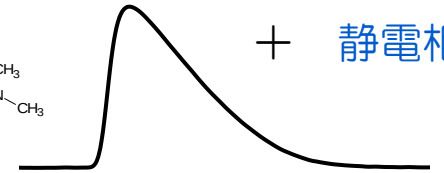
↓

しばしばテーリング原因に。

Amitriptyline
（塩基性化合物）



疎水性相互作用

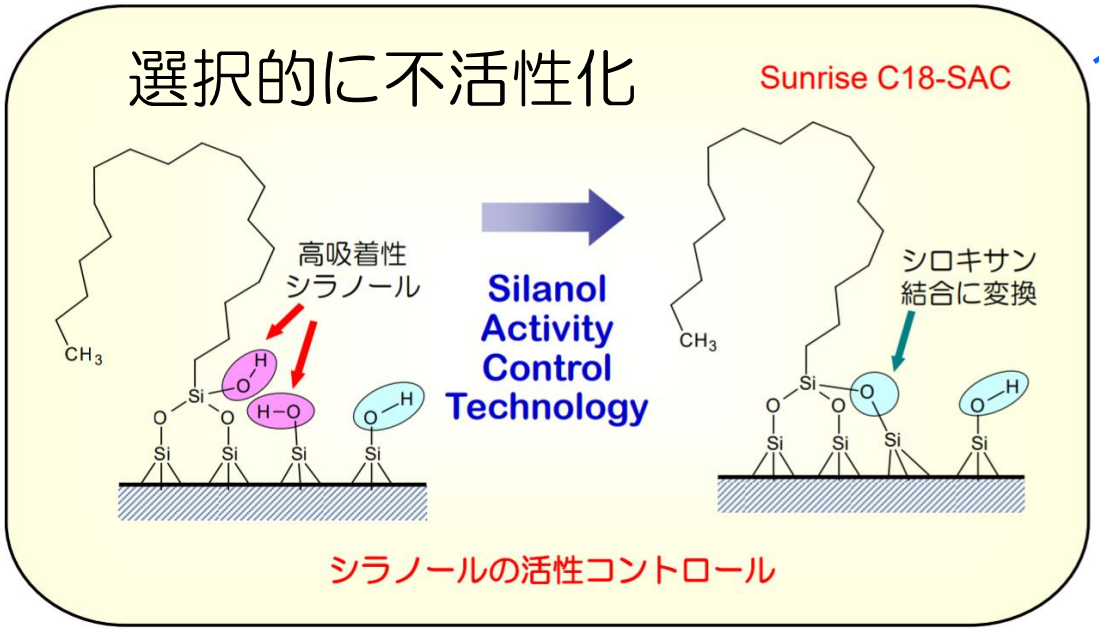


＋ 静電相互作用
など

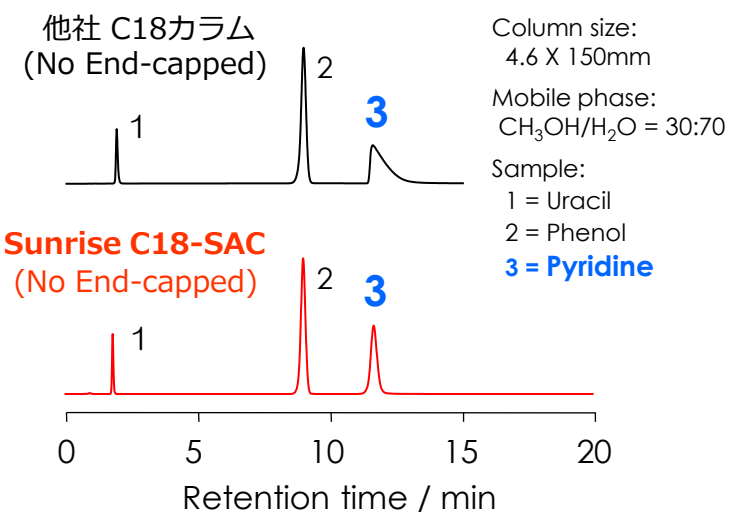
良いシラノールと『悪いシラノール』？

悪いシラノール：不均一に過度な吸着をもたらすシラノール

（疎水基の近傍に位置し、水和を供さない）



塩基性化合物のテーリングを解消

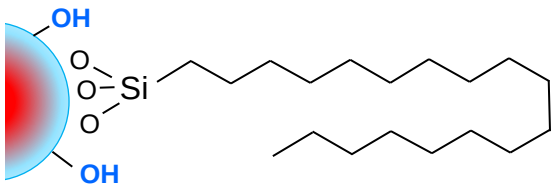


ポイント

２次相互作用を均一化 ➡「**吸着**」から「**保持**」へ

シラノール活性コントロール型 C18

C18-SAC



SAC : “**S**ilanol **A**ctivity **C**ontrol”

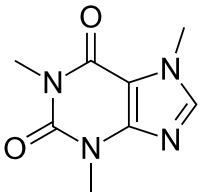
エンドキャッピングを行わず、**「良いシラノール」**のみを敢えて残す
選択的な不活性化によって **ユニークな保持特性** のC18カラムを調製。

水素結合性指標

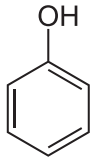
分離係数 α (Caffeine/Phenol)

tanaka test* を基に、自社試験用に諸条件を調整

C : Caffeine

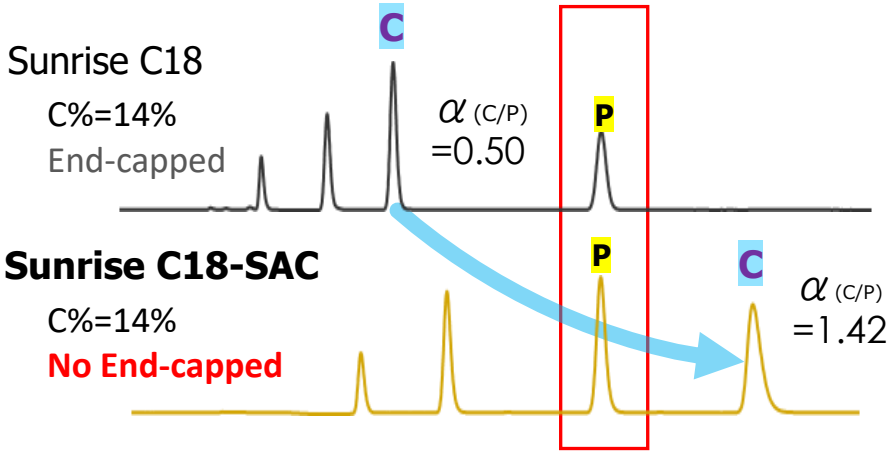


P : Phenol



Log P = -0.07 < Log P = 1.46

（疎水性度は、フェノールが上）



フェノールはシリカ表面の影響を受けず、保持変化なし。
カフェインはシラノールとの相互作用で保持増大。

Column:5 µm, 4.6x150 mm
Mobile phase: CH_3OH/H_2O=30/70
Flow rate: 1.0 mL/min
Temperature: 40 ºC

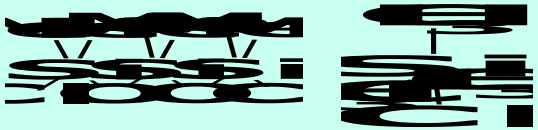
* K. Kimata, K. Iwaguchi, S. Onishi, K. Jinno, R. Eksteen, K. Hosoya, M. Araki, and N. Tanaka, Chromatographic characterization of silica C18 packing materials.Correlation between a preparation method and retention behavior of stationary phase, J. Chromatogr. Sci. 27 (12) (1989) 721–728

高度不活性化： Sunniest End-capping

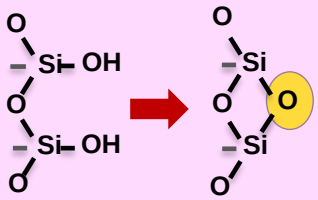
エンドキャッピング不活性化の決定版

概要

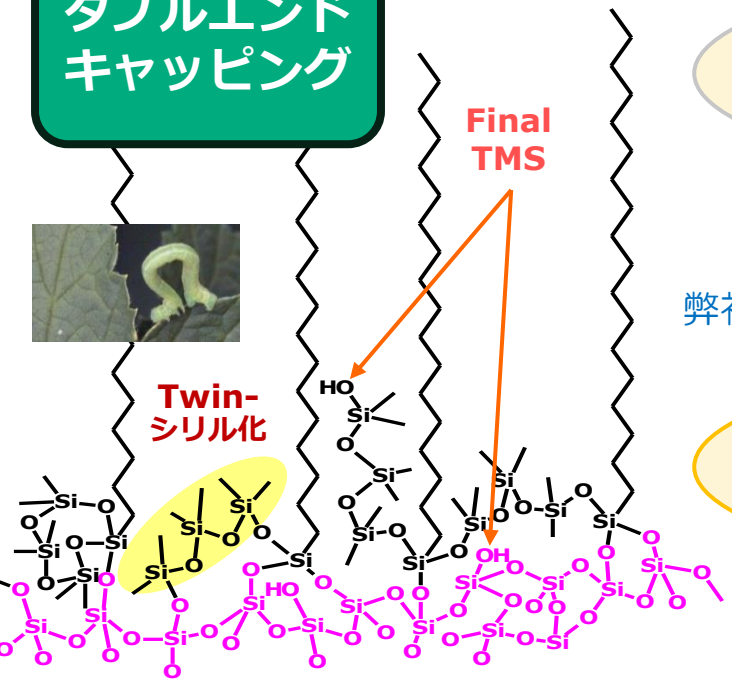
エンドキャッピング試薬



シラノール基からシロキサン結合への変換

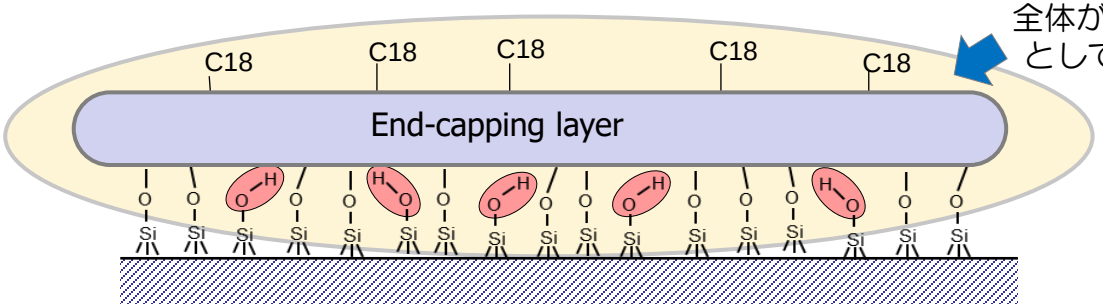


ダブルエンドキャッピング



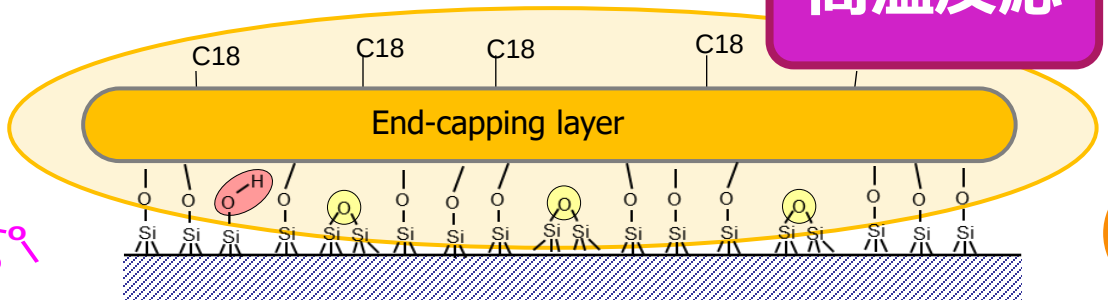
尺取虫のように足場を伸ばす事で
広範なEnd-capping layerを形成

通常のエンドキャピング



弊社独自の高温エンドキャッピング

高温反応

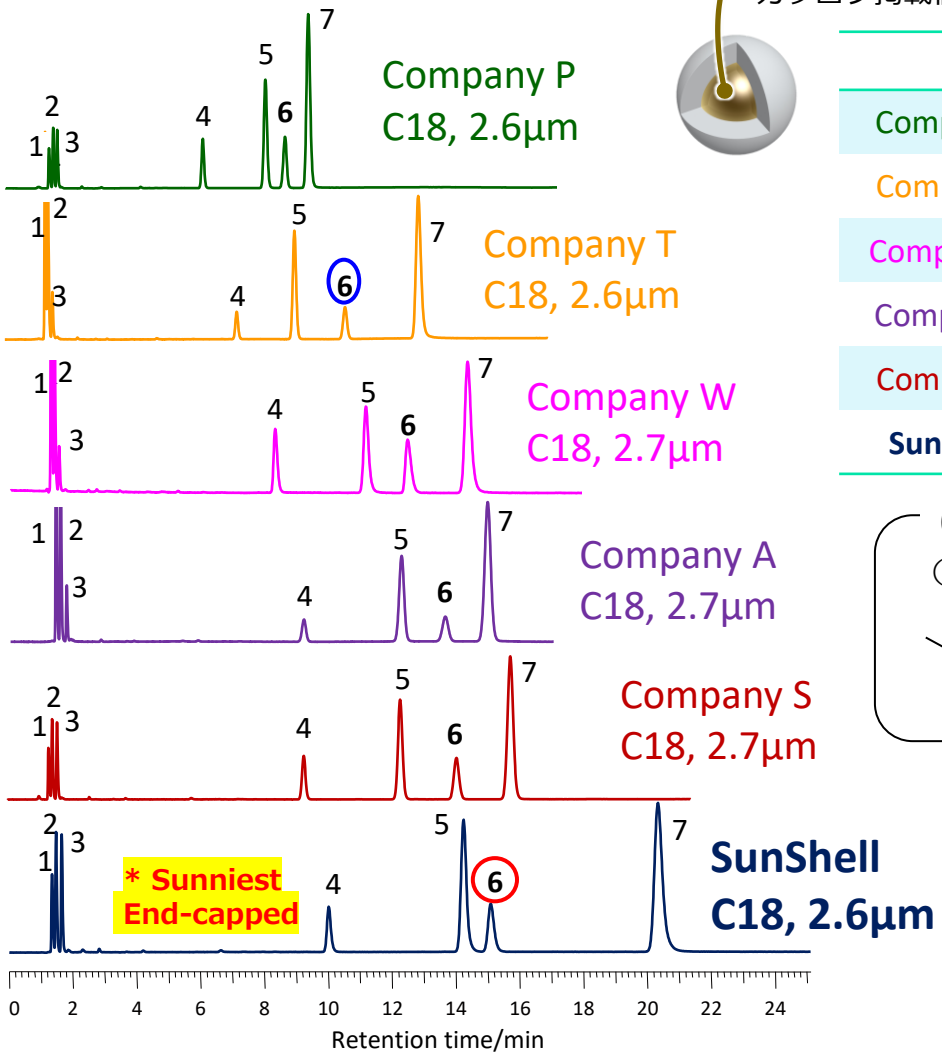


疎水性 大

「多層的な不活性化」

高度不活性化の効果（C%と疎水性）

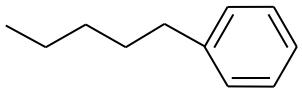
6種のC18カラムの比較



比較は、いずれも表面多孔性粒子。**炭素含有率**(Carbon load,wt%)は無孔性の**Core** 重量を分母に含んだ割合につき、全多孔性粒子より全般的に小さくなる。カタログ掲載値を以下記載。※P社のみ" Carbon load (Effective)"との換算値。

	保持係数 (Peak #6)	炭素含有率 (C%)	理論段数 (Peak #6)	圧力 /MPa	圧力あたりの理論段数の比
Company P C18	5.4	12※	30,800	26.1	1.2
Company T C18	7.4	9	31,600	22.7	1.4
Company W C18	7.7	6.6	23,300	18.5	1.3
Company A C18	9.0	8	30,200	30.6	1.0
Company S C18	9.7	7.7	31,800	22.2	1.5
SunShell C18	10.4	**7**	31,900	21.8	1.5

6. Amylbenzene
（疎水性保持の指標）



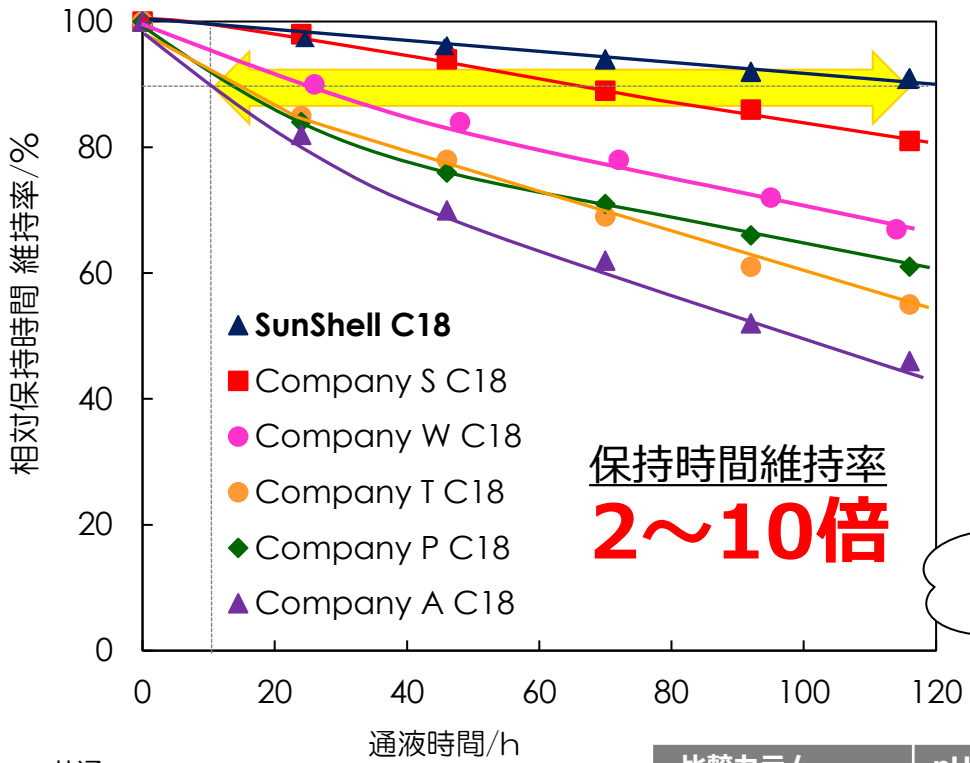
Column : 2.6 µm or 2.7 µm
(Core-Shell) 150 x 4.6 mm
Mobile phase: CH_3OH/H_2O = 75/25
Flow rate: 1.0 mL/min
Temperature: 40 ºC
Sample :
1 = Uracil, 2 = Caffeine, 3 = Phenol,
4 = Butylbenzene, 5 = o-Terphenyl,
6 = Amylbenzene, 7 = Triphenylene

高保持

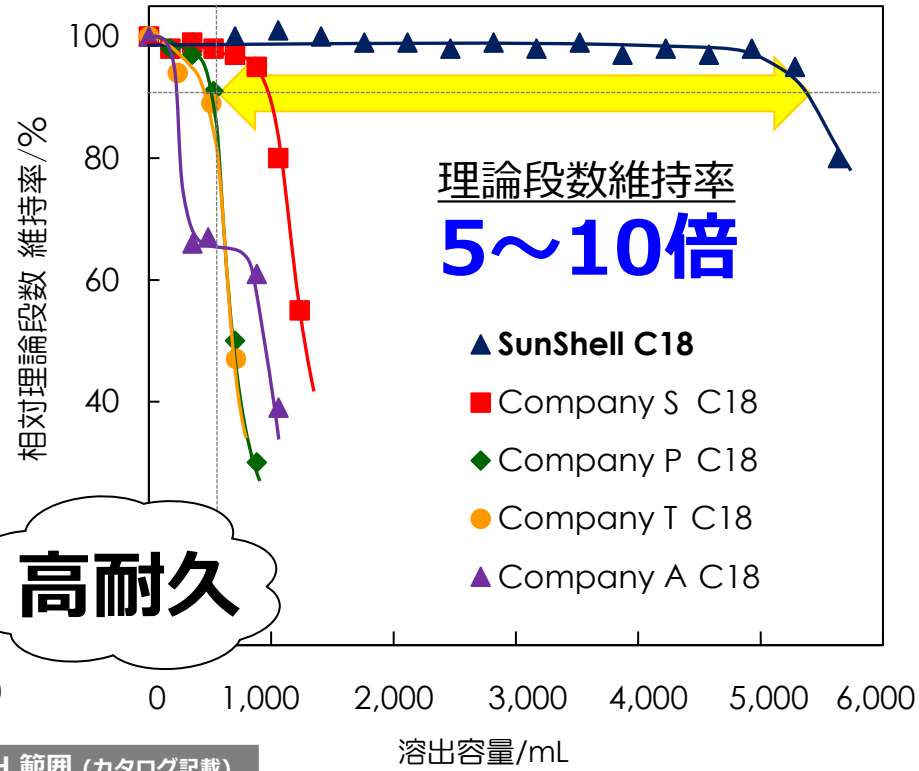
見かけの **炭素含有率** 以上に、**不活性度**が**疎水性保持力**に大きく関与している。

高度不活性化の効果（低/高 pH耐久性）

酸(pH1) 耐久性試験



塩基(pH10) 耐久性試験



高耐久

共通

Column : 2.6 µm or 2.7 µm 50 x 2.1 mm

酸耐久性試験条件

Mobile phase: CH_3CN/1.0% TFA (pH1) = 10/90

Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 80 °C

保持時間測定条件

Mobile phase: CH_3CN/H_2O=60/40

Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Uracil 2 = Butylbenzene

	比較カラム	pH 範囲 (カタログ記載)
▲	**SunShell C18**	**1.5 – 10**
●	Company W C18	2 – 8
■	Company S C18	2 – 9
▲	Company A C18	2 – 9
●	Company T C18	1 – 11
◆	Company P C18	1.5 – 10

塩基耐久性試験条件

Mobile phase: CH_3OH/20mM Sodium borate/ 10mM NaOH = 30/21/49 (pH10)

Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 50 °C

理論段数測定条件

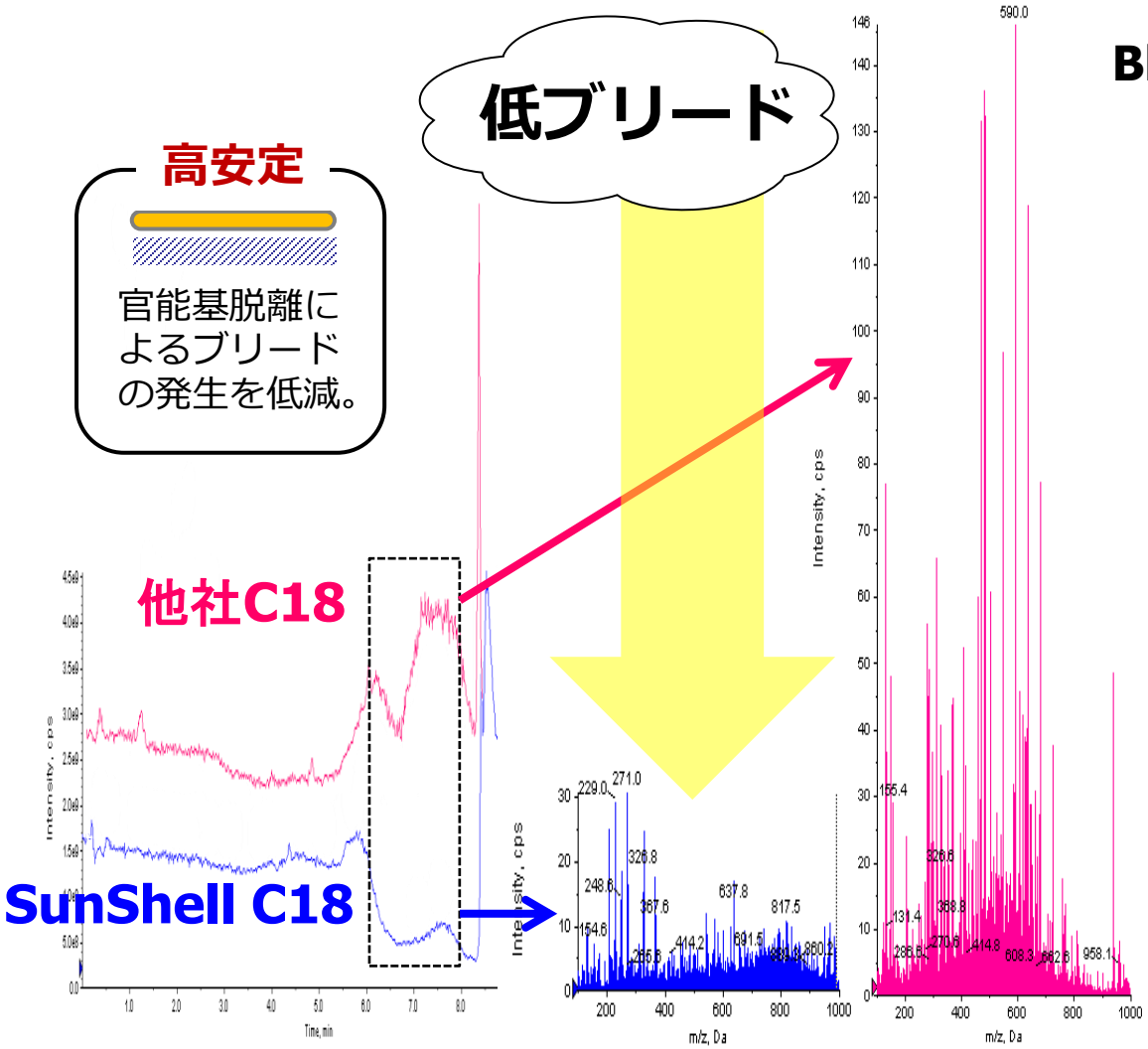
Mobile phase: CH_3OH/H_2O=70/30

Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Butylbenzene

高度不活性化の効果（官能基ブリード）

TIC of +Q1　　+Q1: 5.997 min to 7.999 min of Sample



Bleeding test using LC/MS

Column size: 50 x 2.1 mm
Mobile phase:
A) 0.1% acetic acid
B) CH_3CN
Gradient:

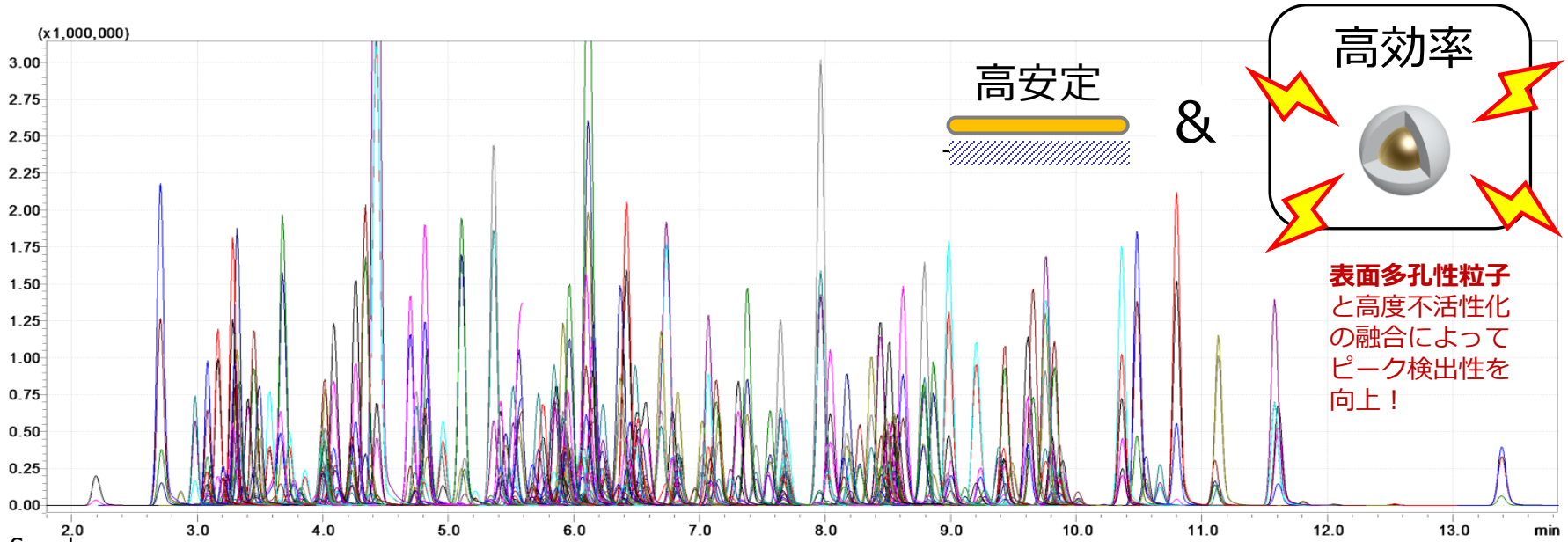
Time:	0min	1min	5min	7min
%B:	5%	5%	100%	100%

Flow rate: 0.4 mL/min
Temperature: 40 °C
MS：ABI API-4000
Ionization:
Turboionspray (cation)
Measurement mode:
Q1 Scan m/z 100-1000

バックグラウンドが下がり

S/N も向上↗

Sunniest End-capping × “Core-Shell”



Sample:

1	Abamectin B1	37	Cymoxanil	73	Fenoxycarb	109	Isopyrazam	145	Paclobutrazole	181	Quinoclamine
2	Acephate	38	Cyproconazole(I)	74	Fenpyroximate	110	Kresoxim-methyl	146	Penconazole	182	Quizalofop-ethyl
3	Acetamiprid	39	Cyproconazole(II)	75	Fentrazamide	111	Linuron	147	Pencycuron	183	Saflufenacil
4	Aldicarb	40	Daimuron	76	Ferimzone(E)	112	Lufenuron	148	Penoxsulam	184	Sethoxydim
5	Amisulbrom	41	Demeton-S-methyl	77	Ferimzone(Z)	113	Malathion	149	Pentoxazone	185	Spinetoram(J)
6	Azimsulfuron	42	Diazinon	78	Flonicamid	114	Mandipropamid	150	Phenthoate	186	Spinetoram(L)
7	Azinphos-methyl	43	Dichlorvos(DDVP)	79	Fluacrypyrim	115	Mefenacet	151	Phosphamidone	187	Spirodiclofen
8	Azoxystrobin	44	Diethofencarb	80	Flubendiamide	116	Mepanipyrim	152	Phoxim	188	Spirotetramat
9	Bendiocarb	45	Diflubenzuron	81	Flucetosulfuron	117	Mepronil	153	Piperophos	189	Sulfoxaflor
10	Bensulfuron-methyl	46	Dimepiperate	82	Fludioxonil	118	Metalaxyl	154	Pirimicarb	190	Tebuconazole
11	Benthiavalicarb-Isopropyl	47	Dimethametryn	83	Flufenacet	119	Metamitop	155	Pirimiphos-methyl	191	Tebufenozide
12	Benzobicyclon	48	Dimethenamid	84	Flufenoxuron	120	Metazosulfuron	156	Probenazole	192	Tebufenpyrad
13	Benzoximate	49	Dimethomorph(E)	85	Fluopicolide	121	Metconazole	157	Profenofos	193	Teflubenzuron
14	Bitertanol	50	Dimethomorph(Z)	86	Fluquinconazole	122	Methabenzthiazuron	158	Propamocarb	194	Terbuthylazine
15	Boscalid	51	Diniconazole	87	Flusilazole	123	Methiocarb	159	Propanil	195	Tetraconazole
16	Bromacil	52	Dinotefuran	88	Flutolanil	124	Methomyl	160	Propaquizafop	196	Thenylchlor
17	Buprofezin	53	Diphenamid	89	Fluxapyroxad	125	Methoxyfenozide	161	Propoxur	197	Thiabendazole
18	Cadusafos	54	Dithiopyr	90	Forchlorfenuron	126	Metobromuron	162	Pyraclofos	198	Thiacloprid
19	Cafenstrole	55	Diuron	91	Fosthiazate	127	Metolcarb	163	Pyraclostrobin	199	Thiamethoxam
20	Carbaryl	56	Edifenphos	92	Furathiocarb	128	Metrafenone	164	Pyrazolate	200	Thiazopyr
21	Carbendazim	57	Esprocarb	93	Gibberellic acid	129	Mevinphos	165	Pyrazophos	201	Thidiazuron
22	Carbofuran	58	Ethaboxam	94	Halosulfuron-methyl	130	Milbemectin A3	166	Pyribenzoxim	202	Thifensulfuron-methyl
23	Carboxin	59	Ethiofencarb	95	Haloxyfop	131	Milbemectin A4	167	Pyributicarb	203	Thiobencarb
24	Carfentrazone-ethyl	60	Ethoprophos	96	Hexaconazole	132	Molinate	168	Pyridaben	204	Thiodicarb
25	Carpropamide	61	Ethoxysulfuron	97	Hexaflumuron	133	Monocrotophos	169	Pyridaphenthion	205	Tiadinil
26	Chlorpyrifos	62	Etofenprox	98	Hexazinone	134	Myclobutanil	170	Pyrifluquinazon	206	Triadimefon
27	Chlorsulfuron	63	Etoxazole	99	Hexythiazox	135	Napropamide	171	Pyriftalid	207	Triazophos
28	Chromafenozide	64	Etrimfos	100	Imazalil	136	Nicosulfuron	172	Pyrimethanil	208	Tricyclazole
29	Clethodim	65	Famoxadone	101	Imazosulfuron	137	Novaluron	173	Pyrimidifen	209	Trifloxystrobin
30	Clofentezine	66	Fenamiphos	102	Imicyafos	138	Nuarimol	174	Pyriminobac-methyl(E)	210	Triflumizole
31	Clomazone	67	Fenarimol	103	Imidacloprid	139	Ofurace	175	Pyriminobac-methyl(Z)	211	Triflumuron
32	Clothianidin	68	Fenazaquin	104	Inabenfide	140	Omethoate	176	Pyrimisulfan	212	Uniconazole
33	Cyazofamid	69	Fenbuconazole	105	Iprobenfos	141	Oxadiazon	177	Pyriproxyfen	213	Vamidothion
34	Cyclosulfamuron	70	Fenhexamid	106	Iprovalicarb	142	Oxadixyl	178	Pyroquilon		
35	Cyflufenamid	71	Fenobucarb	107	Isoprocarb	143	Oxamyl	179	Quinalphos		
36	Cyhalofop-butyl	72	Fenoxaprop-ethyl	108	Isoprothiolane	144	Oxaziclomefon	180	Quinmerac		

多成分一斉分析の系で有用性を発揮

（例）農薬213成分のLC-MS/MS分析

Column: SunShell C18 2.6 µm, 150 x 2.1 mm
Mobile phase: A) 5 mM Ammonium acetate and 0.1% formic acid in H_2O
B) 5 mM Ammonium acetate and 0.1 % formic acid in CH_3OH

Time (min)	0	1	1.5	10	12	12.1	16	16.1	19
% B	15	15	60	60	90	98	98	15	15

Flow rate: 0.3 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: LC/MS/MS (ESI, MRM), Shimadzu LCMS-8050
Injection volume: 3 µL (10ppb pesticide STD)

世界のコアシェルカラム（33社）

※ 2021年当社調べ

	Manufacturer	Brand	Particle size (μm)	Porous layer thickness (μm)	Pore diameter (nm)	Surface area (m^2/g)	Bonded phase
1	Acchrom	StarCore	2.0, 2.7, 4.6	0.4, 0.5, 0.6	9, 16	120, 135, 90	C18, C18 AQ, C8, Phenyl-Hexyl, PFP, HILIC,
2	Advanced Materials Technologies	HALO	2.0, 2.7, 3.4, 4.6	0.2, 0.4, 0.5, 0.6	9, 16, 40, 100	120, 135, 15, 90	C18, C8, Phenyl-Hexyl, Biphenyl, PFP, Cyano, RP-Amide, HILIC, Pentahydroxy-HILIC, C4, Glycan
3	Agilent Technologies	PoroShell	1.9, 2.7, 4, 5	0.25, 0.5	12, 30	130	C18, C8, Phenyl-Hexyl, PFP, SB-Aq, Cyano, HILIC
4	Bonna-Agela	Bonshell	2.7		9	150	C18
5	ChromaNik Technologies	SunShell	2.0, 2.6, 3.4, 3.5, 4.6	0.2, 0.4, 0.5, 0.6	9, 12, 16, 30, 100	150, 90, 40, 15, 22	C18, RP-AQUA, C8, PFP,PFP&C18 Pnenyl-Hexyl, Biphenyl, 2-Etheylpyridine, HILIC-Amide, C30, Hexafunctional C18, C4
6	Dr Maisch	ReproShell	2.6, 2.7, 5		8, 9	130, 140	C18, C8, Biphenyl, Phenyl-hexyl, PFP, Si
7	Esporalab	Thunder CS	2.6, 3.5	0.5, 0.6	9	150	C18, Biphenyl, HILIC
8	Fortis Technologies	SpeedCore	2.6, 3.5, 5	0.4	8, 16, 30	140	C18, C18-Amide, C18-PFP, Diphenyl, PFP, HILIC C8, C4
9	FUJIFILM	Wakopak Core C18 ADRA	2.6				C18 C18,RP-AQUA
10	GL Sciences	InertCore	2.4	0.3	9	100	C18
11	Glantreo	Eiroshell	1.7, 2.6		10, 30	130, 100	C18, C4, Phenyl-Hexyl, PFP, SILICA
12	Guangzhou Techway	GOWON	2.0, 2.7, 4.6	0.4, 0.5, 0.6	9, 16	120, 135, 90	C18, C18 AQ, C8, Phenyl-Hexyl, PFP, HI
13	Horizon Chromatography	AURASHELL	2.7, 3.5	0.25, .5	9, 16, 30	130, 90, 20	C18, C18/PFP, C4, HILIC
14	Interchim	Uptisphere CS Evolution	2.6	0.5		130	C18
15	Knauer	BlueShell	2.6, 4.5				
16	Merck (supelco)	Ascentis Express BioShell	2.0, 2.7				o, PFP,
17	Macherey-Nagel	NucleoShell					
18	Nacalai Tesque	CosmoCore					
19	Nanologica	SVEA Core					
20	Nouryon	Kromasil ClassicShell EternityShell					
21	Perkin Elmer	Brownlee SPP					
22	Phenomenex	Kinetex/ Aeris					
23	Restek	Raptor					
24	Sepax Technologies	Opalshell					
25	Osaka Soda	Capcell Core					
26	SCAS	Sumipax ODS Z-Shell					
27	Shimadzu	Shim-pack Velox					
28	SIELC Technologies	Coresep					RP + anion exchange, HILIC +
29	Thermo Scientific	Accucore	2		8, 15	130	C18, C8, C4, AQ, Phenyl-Hexyl, Phenyl, C30, PFP, HILIC
30	VWR	UltraCore UltraCore BIO	2.		9.5, 30, 50	115, 130, 16, 23	C18, C4, Phenyl-hexyl, Biphenyl, Diphenyl
31	Waters	Cortecs	1.6	0.26	9	100	C18, C8, Phenyl-Hexyl, HILIC
32	Welch	Boltimate	2.7	0.5	9	120	C18, Phenyl-Hexyl, PFP, HILIC
33	YMC	Meteoric Core	2.7	0.5	8, 16	150, 90	C18, C8

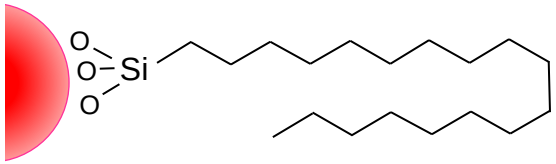
表面多孔性（コアシェル）粒子に関しては、技術資料・日本分析化学会機関誌等で詳報しております。別刷りもご提供可能ですので、当社までご希望の旨をお知らせ下さい。

＜参考＞
長江　徳和，塚本　友康：ぶんせき，**2021（7）**，322-328
Chromanik Technical Note S1011：コアシェル構造の優位性～どうしてコアシェル粒子は理論段数が高くなるのか？～

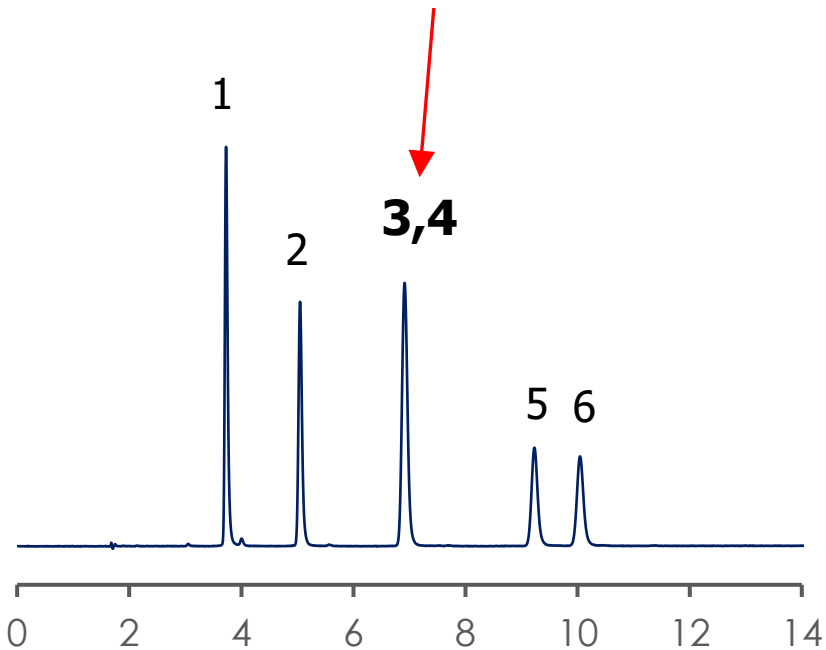
国内メーカー最古参。粒子&固定相、幅広いバリエーション！

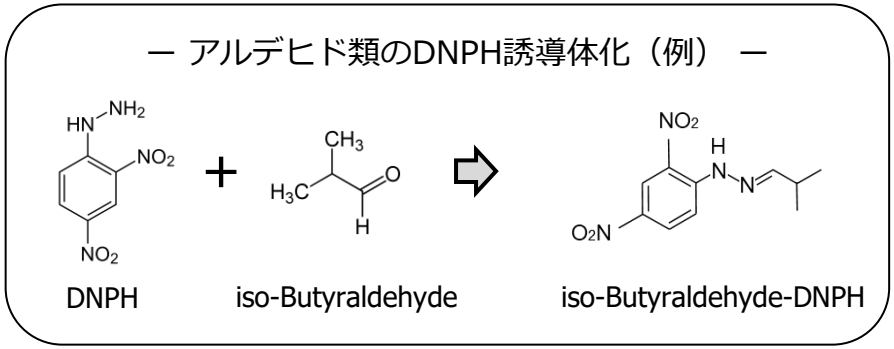
C18では分離不可能な類縁化合物の一例

C18
（ODS）



C18は、一部構造異性体（iso-,n-）の分離が苦手





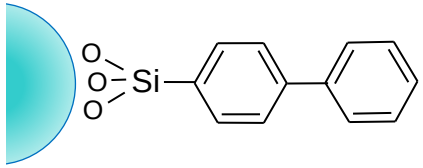
DNPH誘導体化アルデヒド6種の一斉分析

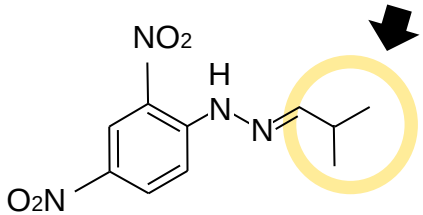
Column:
SunShell C18 2.6 μm, 150 x 4.6 mm
Mobile phase: IPA:MeOH:H_2O=20:45:35
Flow rate: 1.5 mL/min
Temperature: 40 ºC
Detection: UV@360 nm
Sample:
1. Acetaldehyde-DNPH
2. Propionaldehyde-DNPH
3. **iso-Butyraldehyde-DNPH**
4. **n-Butyraldehyde-DNPH**
5. iso-Valeraldehyde-DNPH
6. n-Valeraldehyde-DNPH

分離×

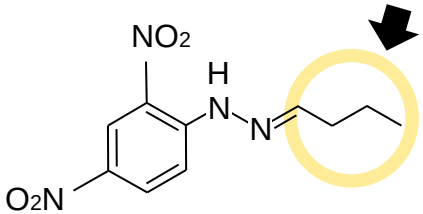
C18を補完する逆相カラムの第２選択

Biphenyl



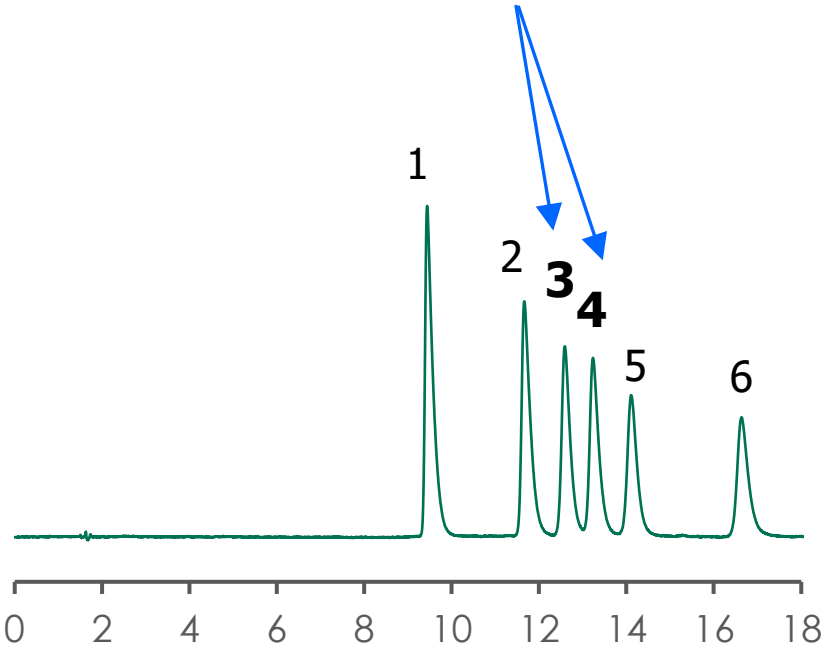


3. iso-Butyraldehyde-DNPH



4. n-Butyraldehyde-DNPH

C18で困難だった異性体も、
Biphenylでは分離が可能に。



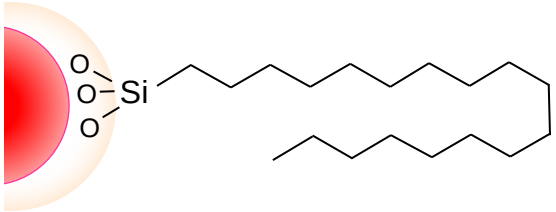
DNPH誘導体化アルデヒド6種の一斉分析

Column:
SunShell Biphenyl 2.6 µm, 150 x 4.6 mm
Mobile phase: IPA:MeOH:H_2O=25:40:35
Flow rate: 1.5 mL/min
Temperature: 40 ºC
Detection: UV@360 nm
Sample:
1. Acetaldehyde-DNPH
2. Propionaldehyde-DNPH
3. iso-Butyraldehyde-DNPH
4. n-Butyraldehyde-DNPH
5. iso-Valeraldehyde-DNPH
6. n-Valeraldehyde-DNPH

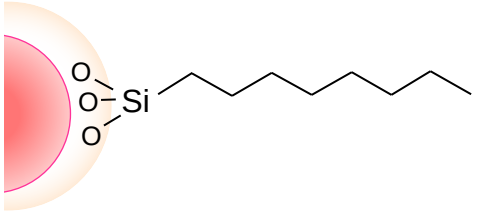
分離◎

高度不活性化を施した逆相固定相（例）

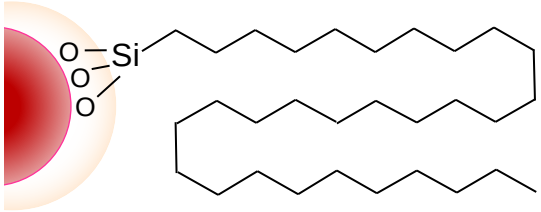
C18
（ODS）



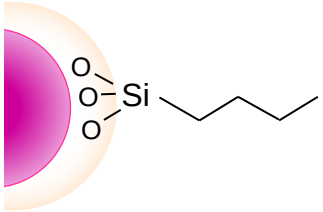
C8



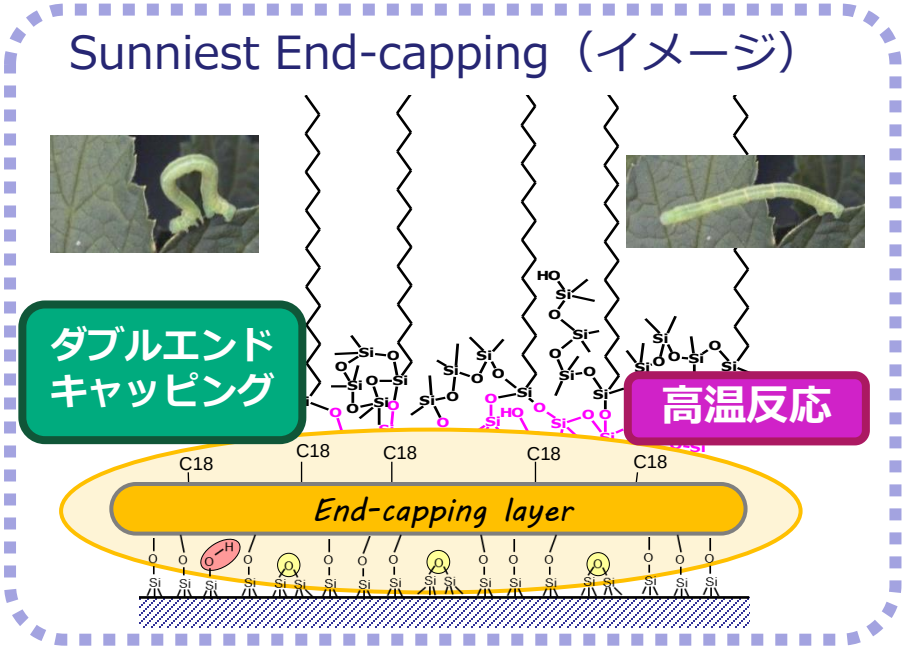
RP-AQUA



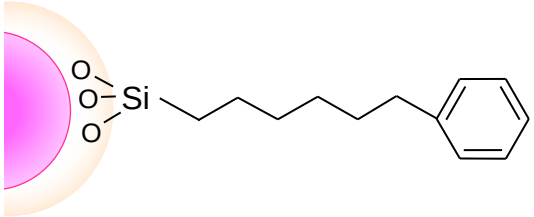
C4



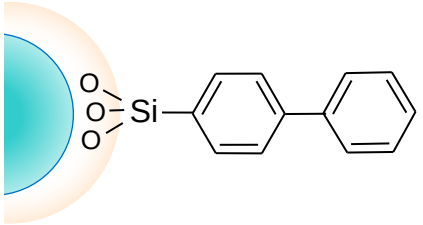
Sunniest End-capping（イメージ）



Phenyl



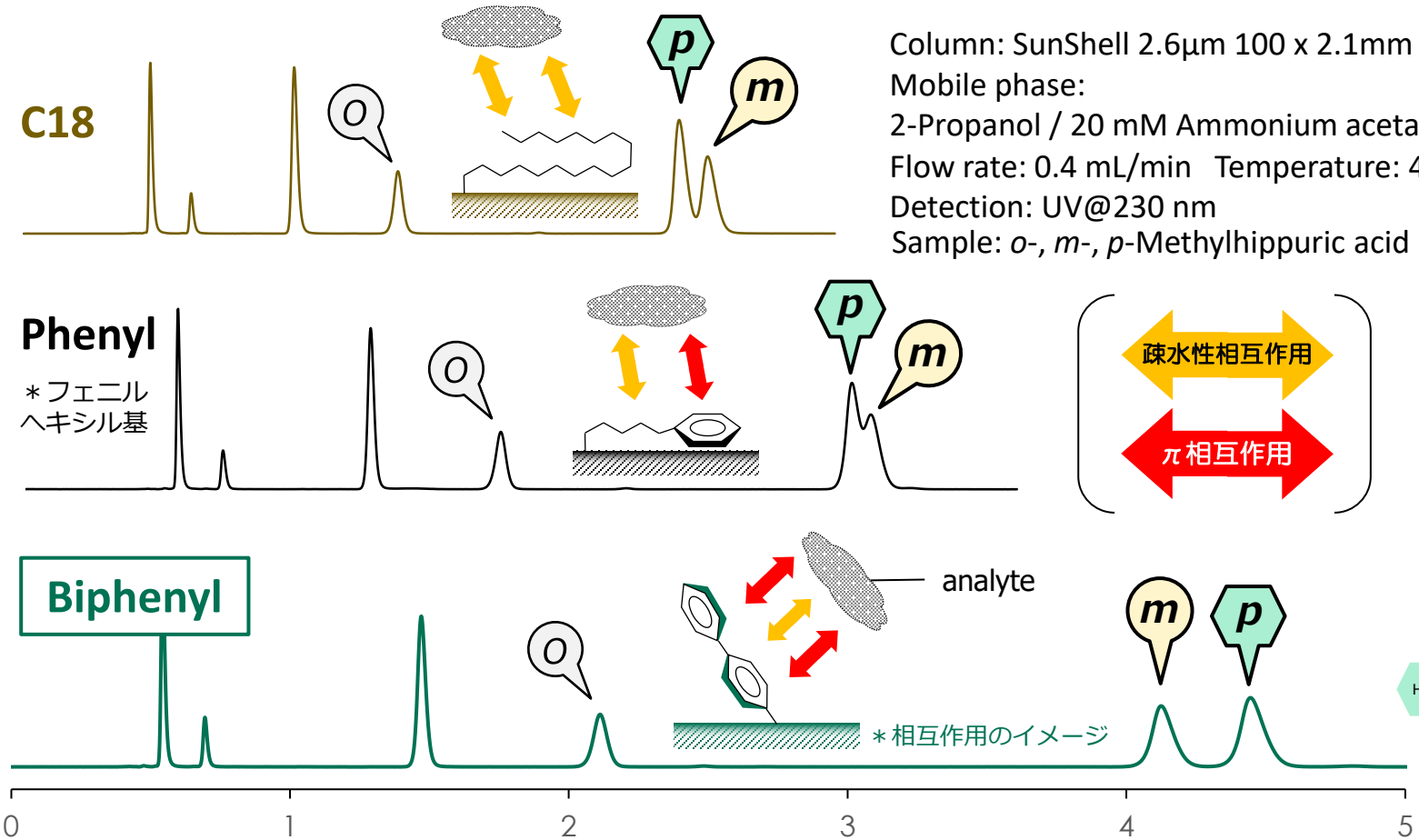
Biphenyl



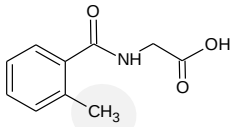
高選択　&　高安定

Biphenyl：o,m,p-メチル馬尿酸の分離

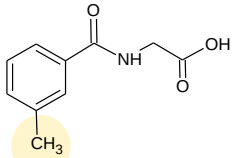
Biphenylの特徴：**Phenylより強固に作用するπ相互作用**



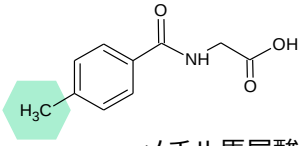
Column: SunShell 2.6µm 100 x 2.1mm
Mobile phase:
2-Propanol / 20 mM Ammonium acetate (pH 6.8) = 3/97
Flow rate: 0.4 mL/min　Temperature: 40 ℃
Detection: UV@230 nm
Sample: *o*-, *m*-, *p*-Methylhippuric acid



o -メチル馬尿酸



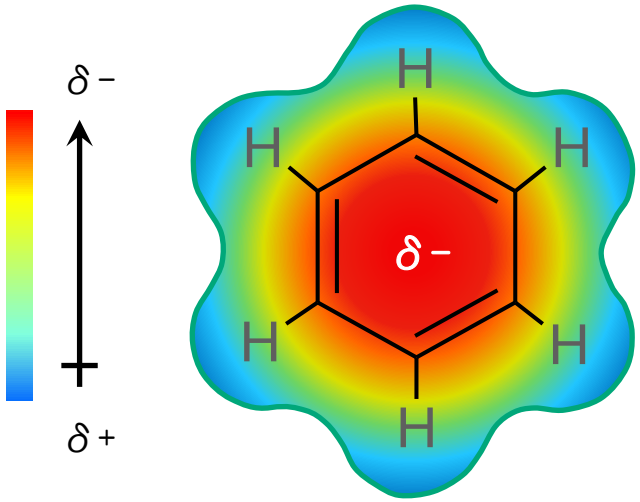
m -メチル馬尿酸



p - メチル馬尿酸

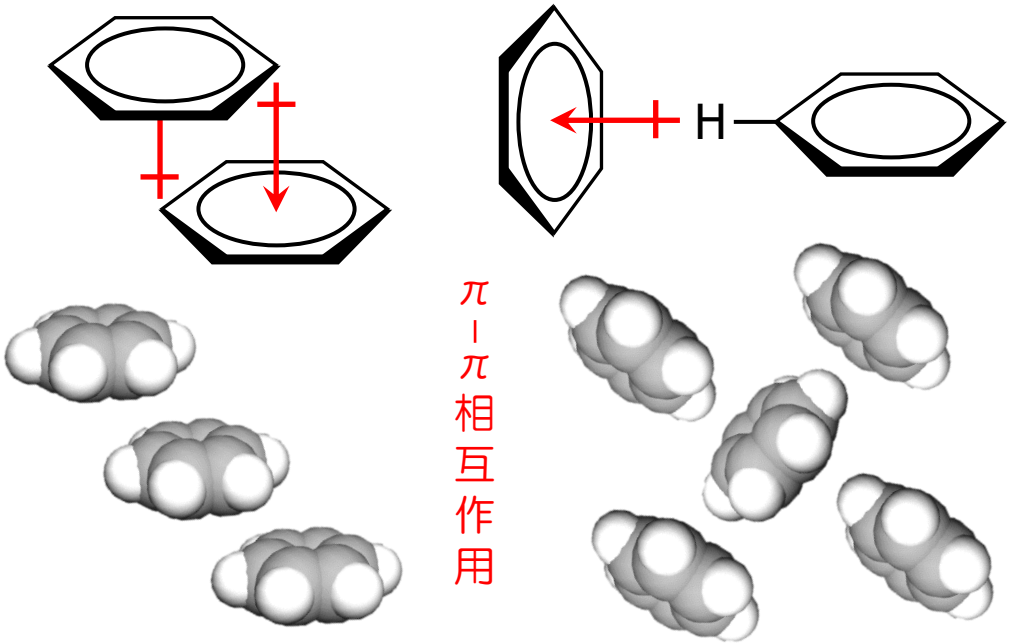
疎水基を介さず直接結合。**π電子による相互作用が「大」**

（π-πだけじゃない）π相互作用



ベンゼンの静電ポテンシャルマップ（イメージ）

＊分子としては無極性でも、相互作用に着目するとフェニルは「**極性基**」。電気陰性度の大きい分子(C他)と結合した**H**を引き付ける。

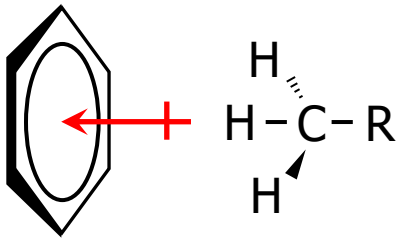


ずれた平行配置　　T字型配置

π－π相互作用：フェニル系カラムの特徴と言われる反面誤解も多い。π電子（芳香環・多重結合）を持つ化合物の**保持に、直接つながるとは限らない。**

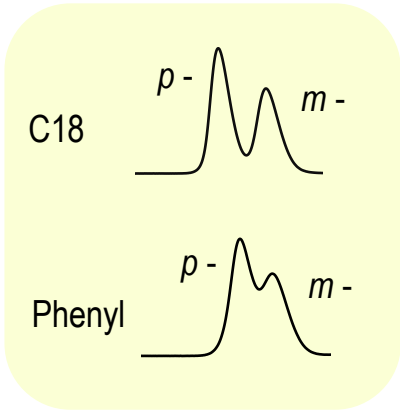
多様なπ相互作用：カチオン-π、ハロゲン-π相互作用、π水素結合（NH-π相互作用、OH-π相互作用）．．．

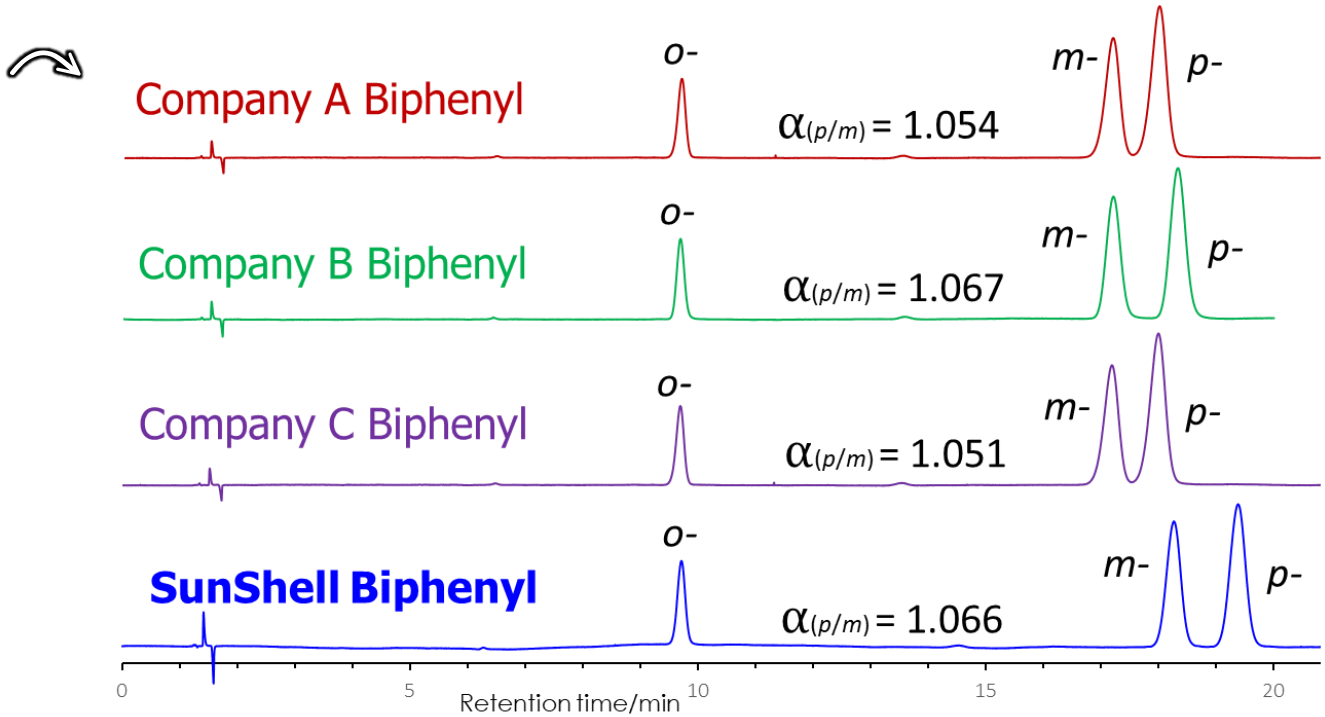
逆相条件下で特に注目：**CH-π相互作用**

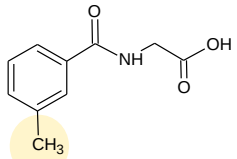


Biphenylカラム４種の比較：分離特性

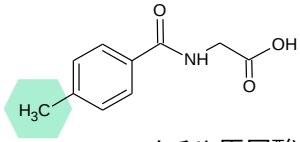
CH−π相互作用：Biphenyl 分離特性の「みどころ」





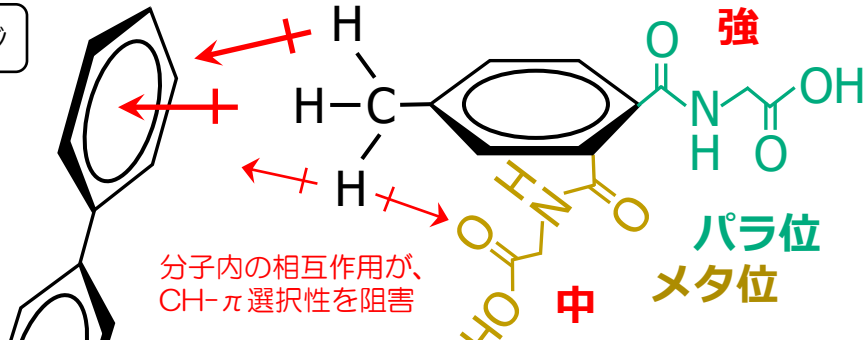


m -メチル馬尿酸



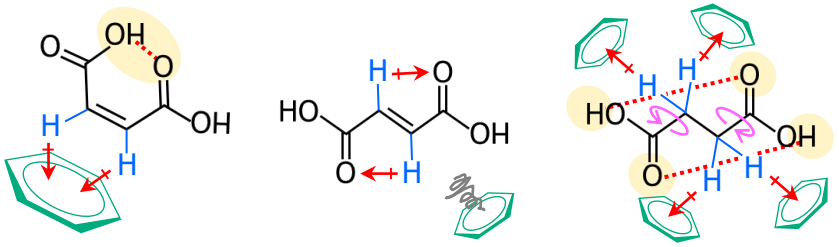
p - メチル馬尿酸

相互作用のイメージ

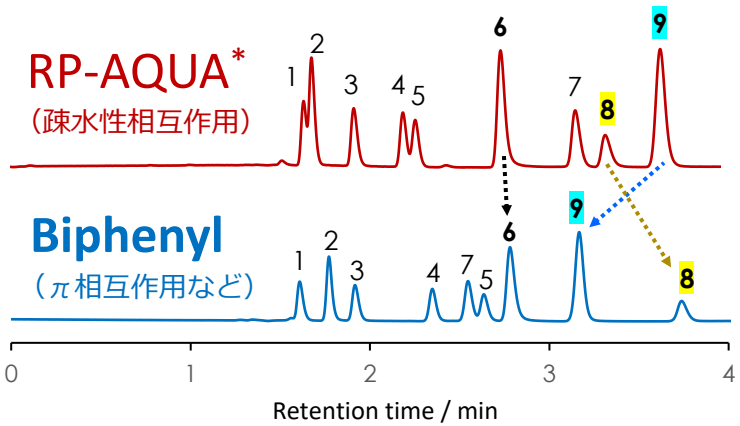


Column: 2.6 µm or 2.7 µm (Core-Shell) 150 x 4.6 mm
Mobile phase: 2-Propanol/25 mM Phosphate buffer (pH 3.0)
Flow rate: 1.0 mL/min Temperature: 40 °C Detection:UV@230 nm
Sample: *o*-, *m*-, *p*-Methylhippuric acid

π相互作用の働き（疎水性との対比）



6. Maleic acid（マレイン酸）　**9. Fumaric acid**（フマル酸）　**8. Succinic acid**（コハク酸）



Column: SunShell 2.6 µm, 150 x 4.6 mm

Mobile phase: 0.1% H_3PO_4
Flow rate: 1.0 mL/min
Column pressure: 18 MPa

Temperature: 40 ºC
Detection: UV@210nm
Injection volume: 1 µL

Sample:

1. Tartaric acid
2. Formic acid
3. Malic acid
4. Lactic acid
5. Acetic acid
6. Maleic acid
7. Citric acid
8. Succinic acid
9. Fumaric acid

◆BiphenylのRT挙動の考察

＊RP-AQUAは100%水系で安定的に使用可能なアルキル型固定相(C30)。Biphenyl同様のエンドキャッピングにより２次相互作用を抑制している。保持特性はC18と同じく、疎水性相互作用が主体。

6.マレイン酸　（RP-AQUAと、RT**同程度**）

cis型で [C=C]のHと**π-π相互作用**が働く。カルボキシ基は分子内水素結合を一部形成し安定化する。相互作用への阻害は比較的少。

9.フマル酸　（RP-AQUAより、RT**減少**）

trans型で[C=C]へアクセスしづらい。分子内で水素結合を形成しない分、活性が増加。総じてπ相互作用が阻害され、保持DOWN。

8.コハク酸　（RP-AQUAより、RT**増加**）

軸の回転から、分子内水素結合をより安定に形成。阻害されずアクセスが円滑化。結果、**CH-π相互作用**が強く発揮されて、保持UP。

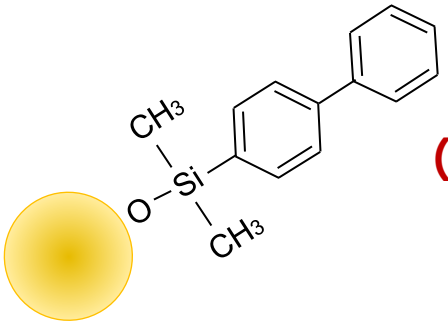
Biphenylカラム４種の比較：基本情報

市販Biphenyl：炭素含有率（C%），結合基などの対比

仕様（各メーカーカタログ記載より） ※比較カラムは何れもコアシェル粒子2.6 μm 又は 2.7 μm

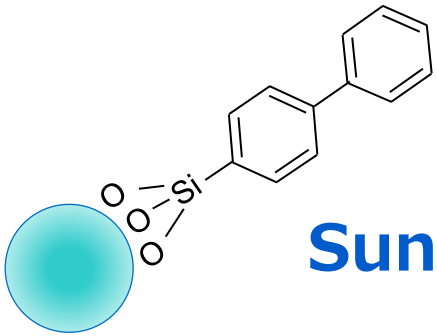
比較カラム	C%	結合基の情報	比表面積	エンドキャップ	使用pH範囲
Company **A**	* 11 %	Biphenyl * ←未記載	100 m^2/g	TMS	1.5 - 8.5
Company **B**	7 %	Biphenyldimethylsilane	150 m^2/g	Yes	1.5 - 8.0
Company **C**	7 %	Biphenyldimethylsilane	150 m^2/g	Yes	1.5 – 9.0
SunShell	5 %	**Biphenyl （三官能性）**	150 m^2/g	*Sunniest end-capping*	1.5 – 9.0

＊ Company Aのみ、炭素含有率の算出方法が異なる。又、結合基はB,C同様**「一官能性Biphenyl」**と見られる。（後述）



（Company A）
Company B
Company C

一官能性



SunShell

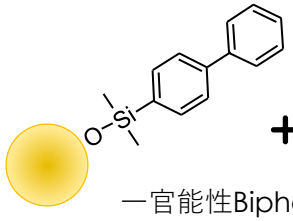
三官能性

Biphenylカラム４種の比較：低吸着性

残存シラノールによる、塩基性化合物の吸着性確認試験

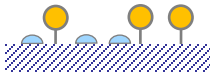
アミトリプチリンのテーリングファクター（TF）比較

Biphenylカラムも色々



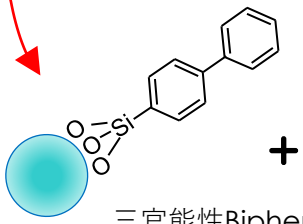
一官能性Biphenyl

End-capping (TMS等)



イメージ

試薬･不活性度のちがい。



三官能性Biphenyl

Sunniest End-capping

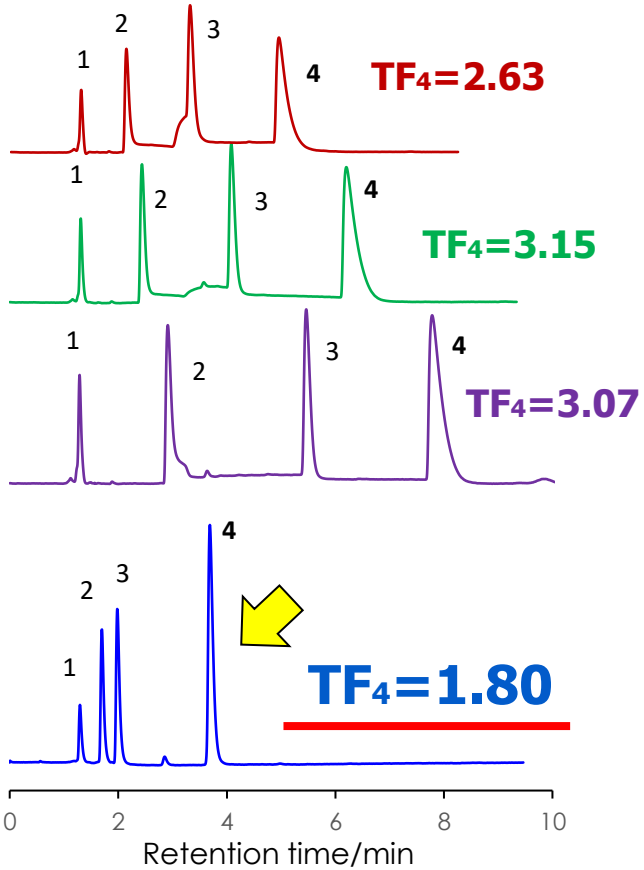
Company A Biphenyl

Company B Biphenyl

Company C Biphenyl

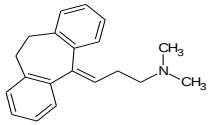
SunShell Biphenyl

最も低吸着



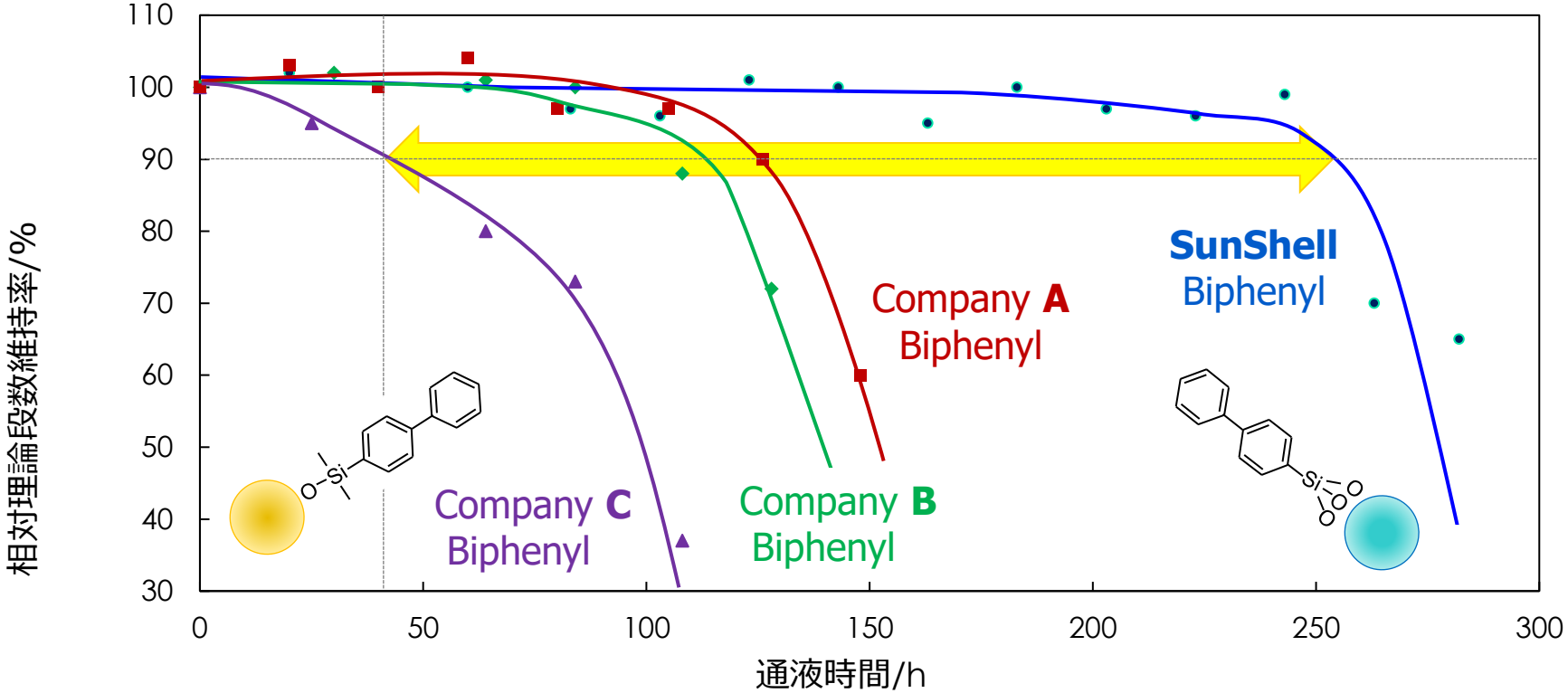
Mobile phase: Acetonitrile / 20 mM Phosphate Buffer(pH 7.0) =60/40
Column : 2.6 µm or 2.7µm (Core-Shell) 150 x 4.6 mm　Flow rate : 1.0 mL/min
Temperature: 40 ℃　Detection:UV@250 nm
Sample : 1 = Uracil, 2 = Propranolol, 3 = Nortriptyline, 4 = Amitriptyline

Amitriptyline
(#4)



Biphenylカラム４種の比較：耐久性

弱塩基性移動相（pH8.0）を連続通液した際の、カラム耐久性の比較



初期理論段数（100%）から維持率90%に落ちる迄の通液時間を比較。

理論段数維持率 **2～6倍**

耐久性試験条件

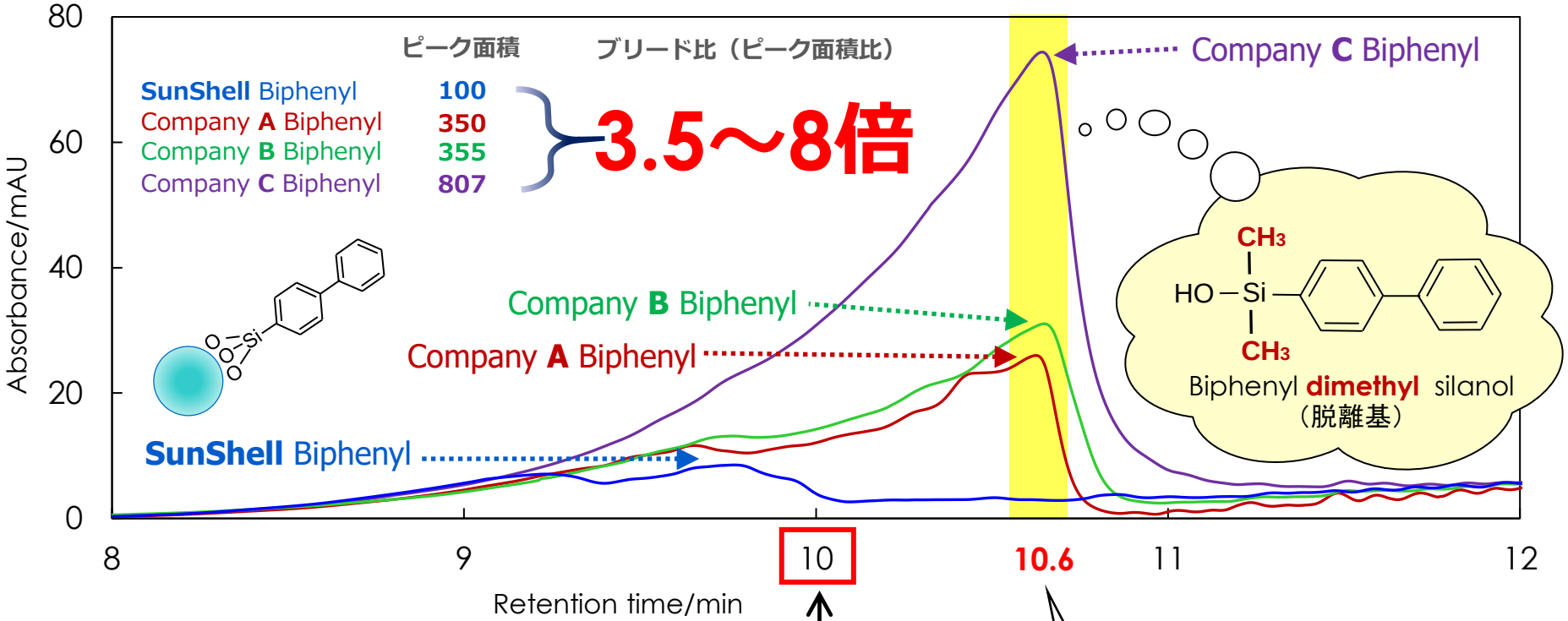
Column dimension: 50 x 2.1 mm
Mobile phase: **20 mM Sodium phosphate (pH 8.0)**
Flow rate: 0.2 mL/min
Temperature: 40 °C

理論段数測定条件

Mobile phase: CH_3CN/H_2O=50/50
Flow rate: 0.2 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: UV@250 nm
Sample: Butylbenzene

Biphenylカラム４種の比較：安定性

酸による官能基脱離と、有機溶媒グラジエント時のベースラインの差



ブリード試験条件

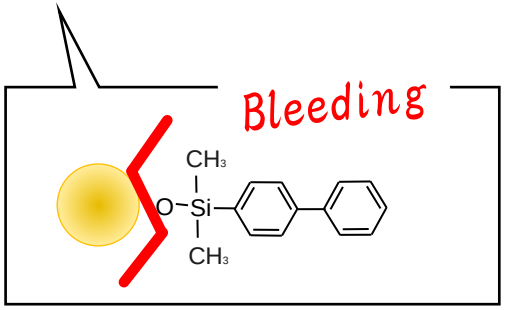
Column dimension: 50 x 2.1 mm
Mobile phase: A) **1% H_3PO_4 (pH 1.2)**
B) Acetonitrile
Flow rate: 0.3 mL/min
Temperature: 40 °C
Detection: UV@250 nm

Gradient program

Time (min)	0	5	10	17	18	35
%B	10	10	90	90	10	10

Chromatogram of a base line at the third gradient cycle

酸リッチ条件で
所定時間通液後、
アセトニトリル
比を上げて溶出



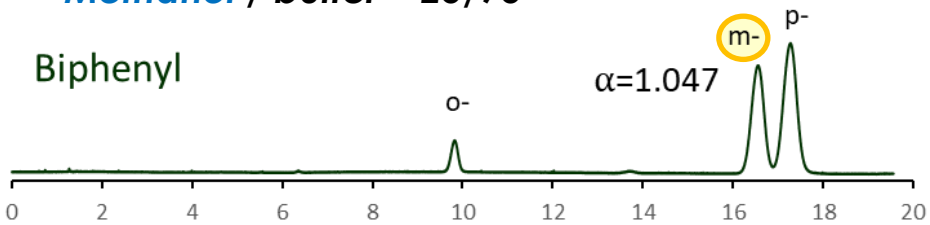
酸加水分解

Biphenylカラム：有機溶媒選択のコツ

有機溶媒種による分離影響

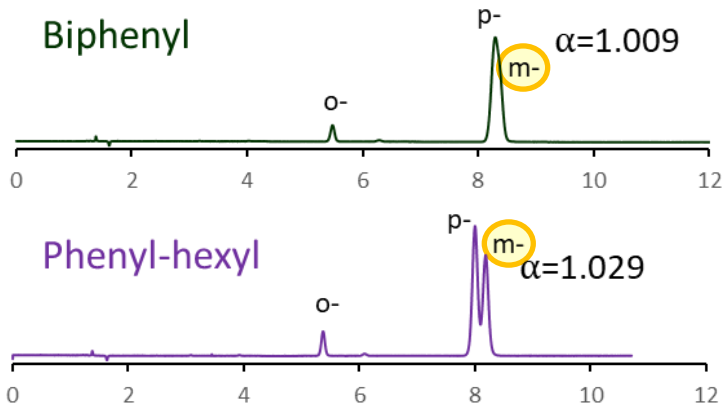
π相互作用が抑制される

***Methanol* / buffer = 25/75**

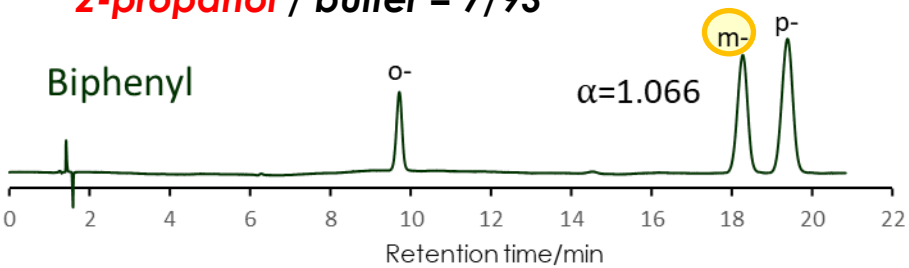


メタノール、2-プロパノールを移動相に用いると、π相互作用の効果が最大限に発揮される。

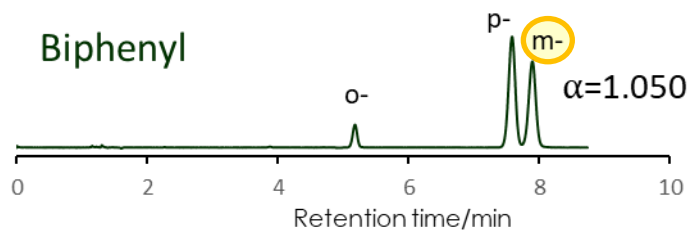
***Acetonitrile* / buffer = 13.5/86.5**



***2-propanol* / buffer = 7/93**



***THF* / buffer = 10/90**

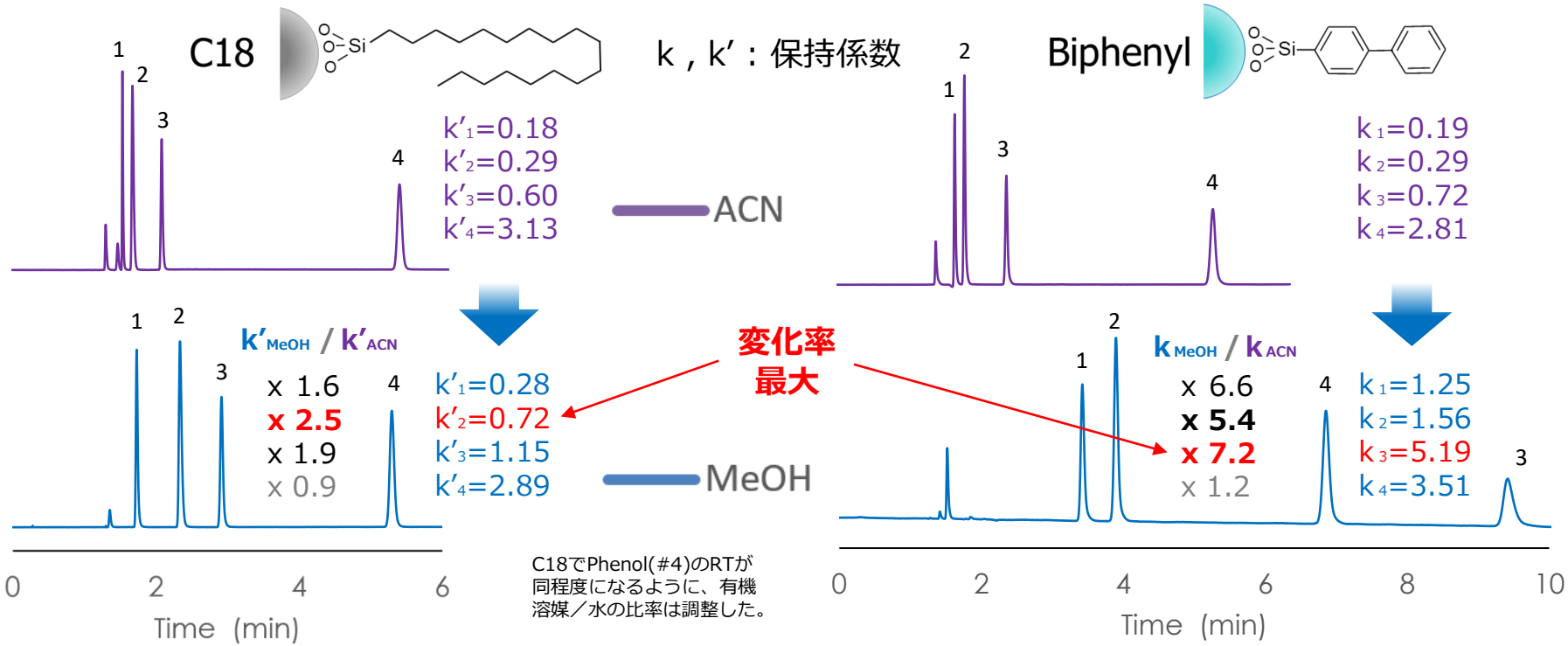


固定相の性質が変化

Column: SunShell Biphenyl 2.6 µm 150 x 4.6 mm
Mobile phase: Organic solvent/25 mM Phosphate buffer pH 3.0
Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C
Detection: UV@230 nm
Sample: *o*-, *m*-, *p*-Methylhippuric acid

有機溶媒の違いに見る選択性への影響 I

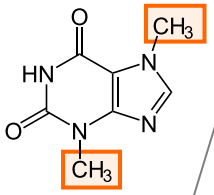


C18でPhenol(#4)のRTが同程度になるように、有機溶媒／水の比率は調整した。

（各Methyl基のCH-π認識力：■High ●Medium… 2個の＞C=Oに挟まれ相対的に小さい。）

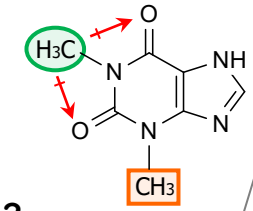
Sample:

1. Theobromine ○■■



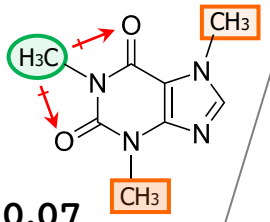
log *P*: -0.78

2. Theophylline ●■□



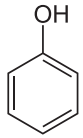
log *P*: -0.02

3. Caffeine ●■■



log *P*: -0.07

4. Phenol



log *P*: 1.46

Mobile phase: **Acetonitrile**(ACN) / Buffer* = **20.5**/79.5 or **Methanol**(MeOH)/ Buffer* = **30**/70 ＊**20 mM Ammonium Acetate Buffer(pH 4.7)**
Column : SunShell 2.6 µm C18 or Biphenyl 150 x 4.6 mm Flow rate : 1.0 mL/min Temperature: 40 ℃ Detection:UV@250 nm

有機溶媒の違いに見る選択性への影響 Ⅱ

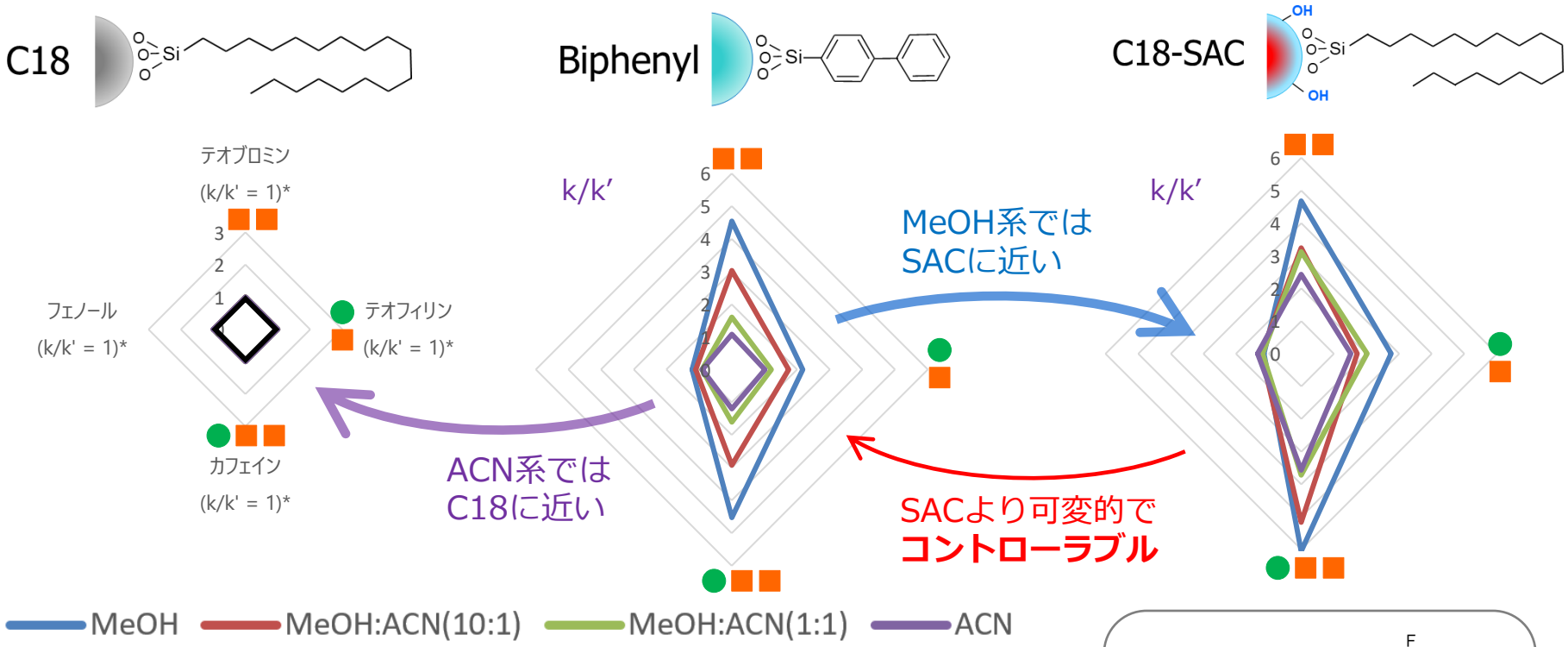
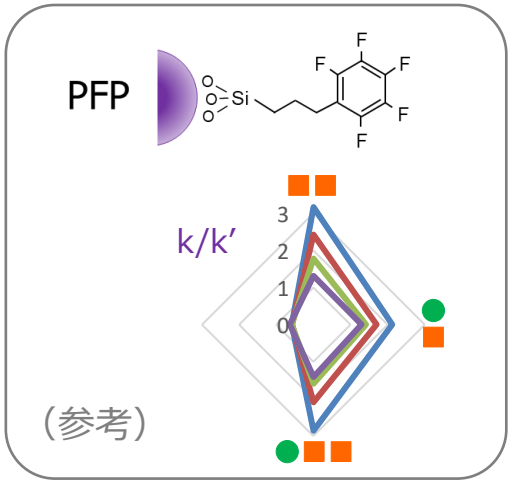


図:C18での各移動相・試料の保持係数(**k'**)を基準に比較カラム同一条件における保持係数(**k**)との比を、**C18との相違性を表す指標（k/k'）**として示した。

Biphenylは、**C18と異なる選択性**を幅広く持ち合わせ、且つ**可変的。**

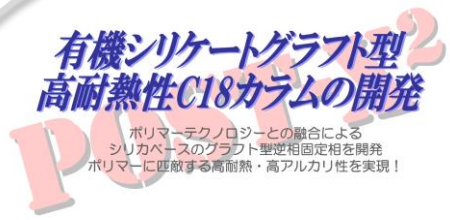


まとめ：不活性化と「低吸着＆高分離」

- シラノール活性コントロール型C18（**Sunrise C18-SAC**）はユニークな分離特性を示すが、耐久性が課題。
- **Sunniest End-capping** はシラノール高度不活性化が可能で、**保持・耐久性の向上**と**低ブリード化**に寄与。
- 表面多孔性（コアシェル型）粒子を高度不活性化した**SunShell**は、高効率と高安定性を兼ね備えたカラム。
- SAC等の一部固定相は、高度不活性化が性質上難しい。**Biphenylは、ユニークな選択性と高安定性の二刀流。**
- BiphenylはSACにも類似のユニークな**保持特性**を持ち、有機溶媒変更による保持コントロールも可変的に利く。
- Biphenylは、**CH-π相互作用**にて高分離を実現できる。

NEW 逆相カラム不活性化のシン決定版

Chromanik Technologies (2005-)



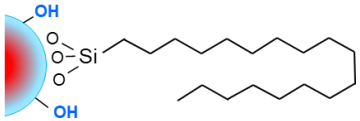
ポリマー・シリカハイブリッド
基材カラムの研究開発 (-2007)

プロミナート
Prominert

2022.10 New Release!

Sunrise

C18-SAC



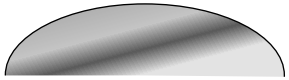
（高い選択性）

SunShell

（高効率化）

SunArmor

（アルカリ高耐久化）



Sunniest

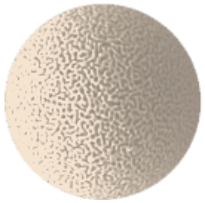
~ Sunniest End-capping ~（高度不活性化）

新たな不活性化技術で、低吸着性を向上

プロミナート

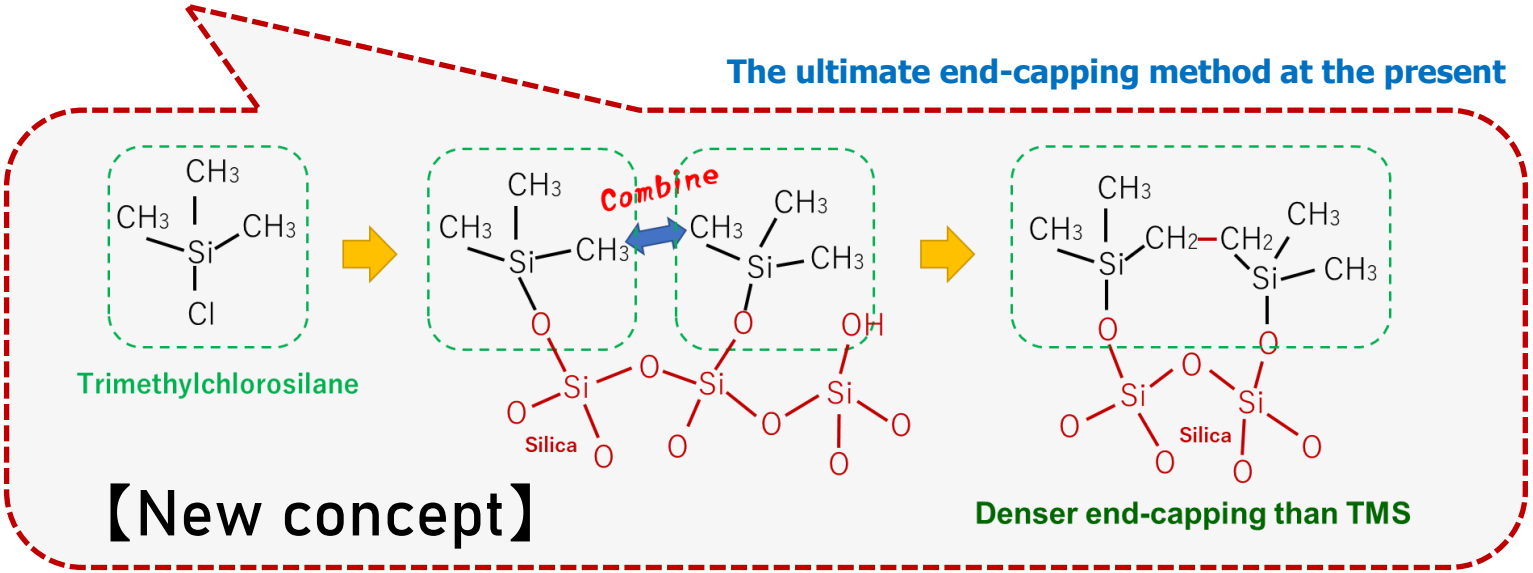
ProMinert

エンドキャッピング
技術の更なる高みへ



Novel end-capping method（タンデムTMS化）

The ultimate end-capping method at the present



化学耐久性を高め、pHレンジを大幅拡張

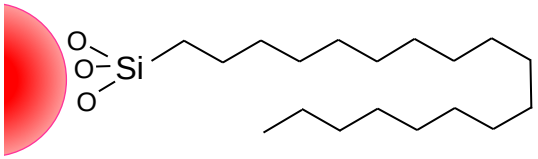
プロミナート

ProMinert

ハイブリッド粒子に
匹敵する基材安定性

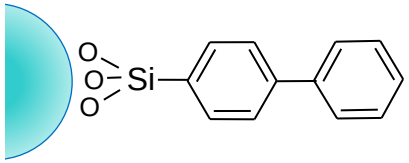
２種類の固定相line-up

C18



安定・安心なファーストカラム

Biphenyl



分離を拡げるセカンドカラム

推奨使用pH範囲

1～12

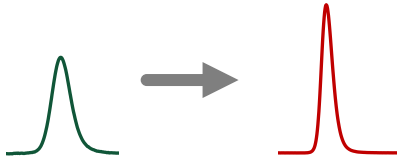
推奨使用pH範囲

1～10

最高性能を引き出す。あらゆるHPLCで。

プロミナート

Prominert



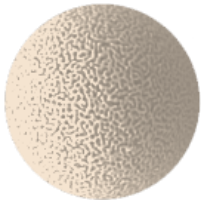
低圧でも高理論段、
カラム効率を最大化

由来：**Prominent**(卓越した),**Inert**(不活性),
Sunが発する**Prominence**(紅炎)の意。

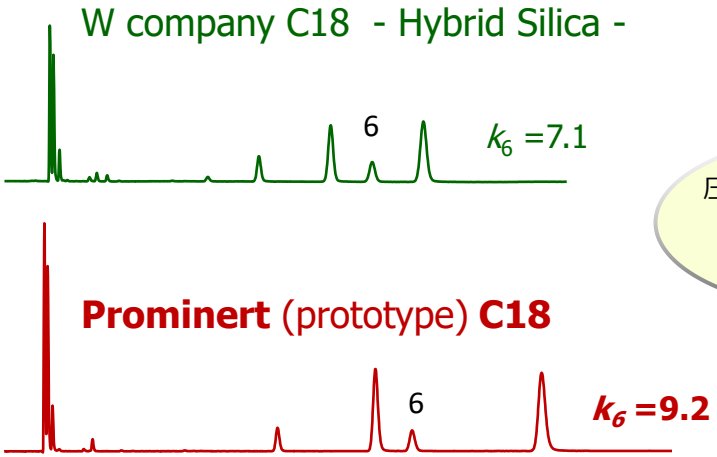
20MPa以内でUHPLC-likeな分離を実現

"3.5 µm particle"

&



"Conventional HPLC system"



N_6=20,000
(18.0 MPa)

圧力あたりのカラム効率
2倍

N_6=28,000
(13.0 MPa)

Column size: 150 x 4.6 mm , 3.5 µm
Mobile phase: CH_3OH/H_2O=75/25

Flow rate: 1.0 mL/min
Temperature: 40 °C

Sample:
6 = Amylbenzene

N：理論段数

(オプション) 素管の不活性化にも対応＊

＊Prominert以外のカラム（Sunshell,Sunniest他）でも セミオーダー可能

Glasscoat mG

ガラスコート不活性化ステンレス管

Metalfree Mtf

高耐圧PEEK管（ステンレス二重管）

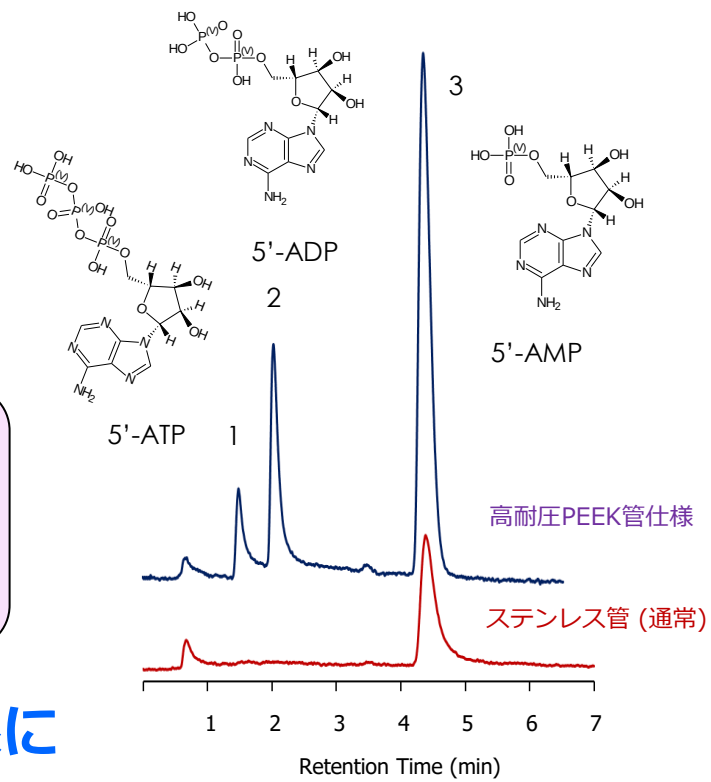
mG カラム管の特徴

ステンレス内壁＆フリットのガラスコート不活性化は吸着抑制の効果を保ちつつ**高いカラム効率**が得られる。
（mGの推奨pH: 2～8）

mG　Mtf

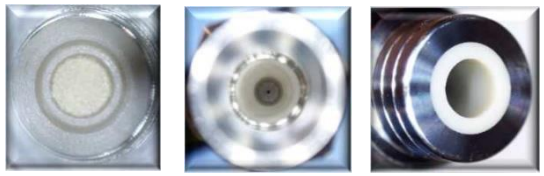
金属配位性化合物分析系での吸着抑制に効果

LC/MS分析の最前線に



Mtf カラム管の特徴

化学安定性が高く、特に**High pH**での分析に最適。標準メタルフリー分析に。
（Mtfの推奨pH: 1～12）



Column: Sunniest RP-AQUA
3 µm, 50 X 2.1 mmI.D.
Mobile phase: 10 mM $HCOONH_4$
Flow rate: 0.2 mL/min
Temperature: 25 ℃
Detection: UV at 250 nm
Sample: 1. 5'-ATP　2. 5'-ADP　3. 5'-AMP
Injection: 1 µL (各成分濃度25 µg/mL)

おわりに：「低吸着＆高分離」その先へ

- **Prominert**は、当社歴代最高の不活性化処理を施した**高効率＆高耐久、低吸着＆低ブリード**な新逆相カラム
- **Prominert**は**ハイブリッド粒子に匹敵するpH安定性**を備える。（推奨pH範囲：C18…1～12, Biphenyl…1～10）
- **Prominert**はあらゆるHPLCで使用可能。粘性の高いメタノール/水条件でも20MPa未満。圧力あたり理論段数（カラム効率）は**ハイブリッド型カラムの約2倍。**
- **Prominert Biphenyl**は、**分離選択の幅を拡張**する。
- 金属配位性など高吸着性化合物のLC/MS分析向けに、**ガラスコート／メタルフリーPEEK管**仕様も全面対応

プロミナート
Prominert

－ すべてのHPLCで高分離を －

ChromaNik Technologies Inc.