

SunShell 2.6 μm

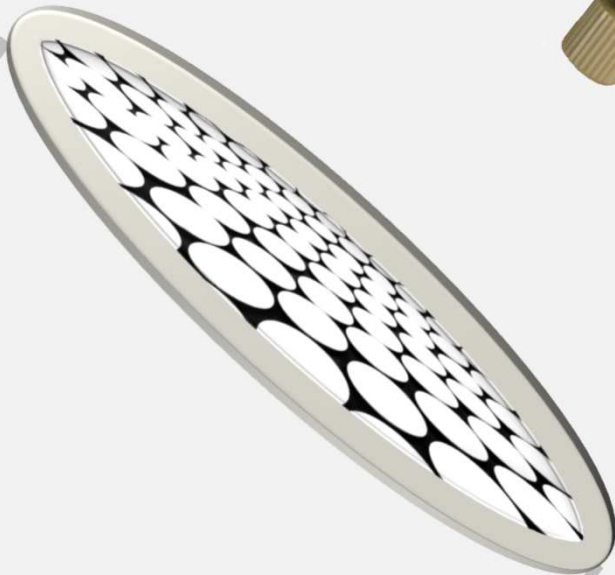
Prominert 3.5 μm

Sunniest 5 μm

Biphenyl



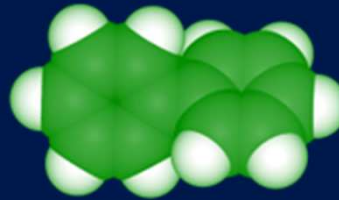
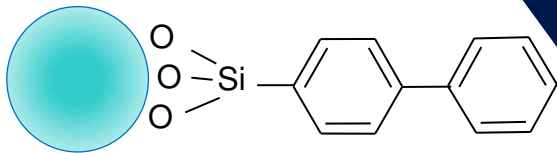
UHPLC & HPLC column



クロマニックテクノロジーズ

Biphenyl

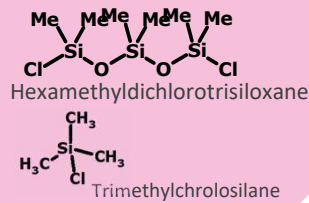
三官能性シリル化試薬使用



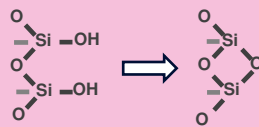
Sunniest Biphenyl

SunShell Biphenylのエンドキャッピング (Sunniest Endcapping)

ダブルエンド
キャッピング
Double end-
capping



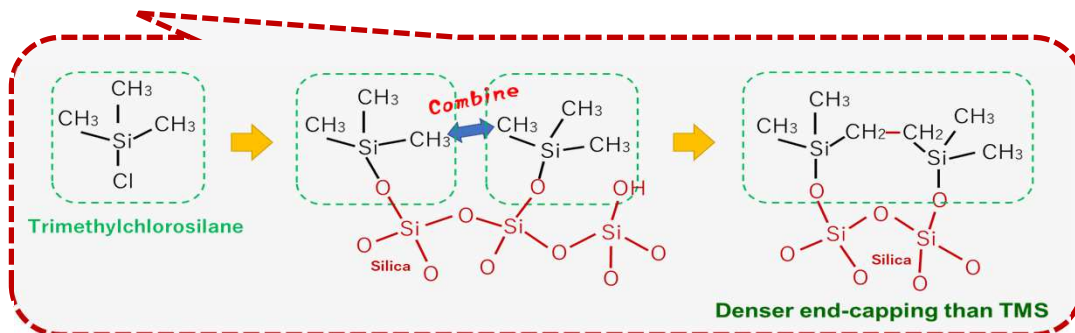
高温反応
High
temperature
end-capping



Conversion from silanol groups to siloxane bond

- ブリードが少ない
- Low bleeding
- 安定性が高い
- High stability

Prominert Biphenylのエンドキャッピング (Tandem TMS Endcapping)

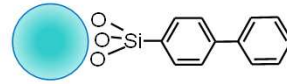
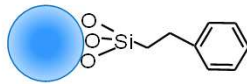


更に
耐久性向上

Biphenylカラムの特徴

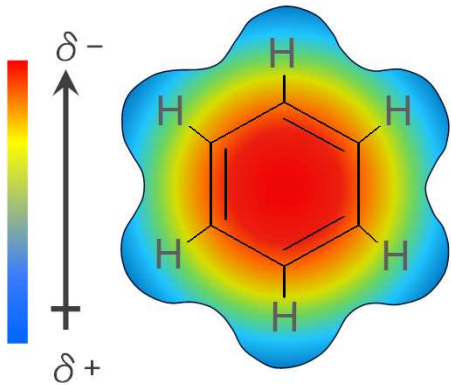
- ✓ ビフェニル基の二つのベンゼン環は約45度ねじれており、ビフェニル基は単独のフェニル基とは異なる分離挙動を示す。
- ✓ 有機溶媒を含まない水系移動相を用いても、保持の変化がなく、保持時間の再現性の高い分離が達成される。
- ✓ カフェインのような極性化合物の保持が大きくなる。
- ✓ 他社Biphenylはほとんど一官能性シリル化試薬を用いているが、弊社Biphenylは耐酸性の高い三官能性シリル化試薬を使用している。

L11固定相 (Phenyl, Biphenyl) の相互作用



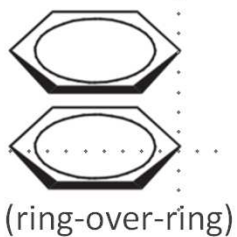
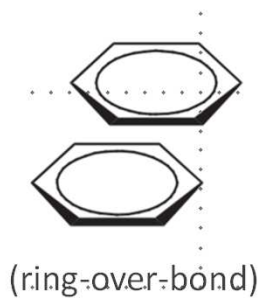
分子間にはたらく力

相互作用の種類		力の起源	特徴
静電力		電荷—電荷, 永久双極子	長距離まではたらく
van der Waals 力	配向力	永久双極子—永久双極子	距離の -6 乗で減衰し、近距離でのみ重要な寄与をする 無極性分子では分散力が支配的
	誘起力	永久双極子—誘起双極子	
	ロンドン分散力	誘起双極子—誘起双極子	
電荷移動相互作用		電子供与体—電子受容体	電荷移動吸収による着色
水素結合		OH, NHなどの官能基	特異的, 指向性強い
疎水性相互作用		極性溶媒中の無極性基	エントロピー支配

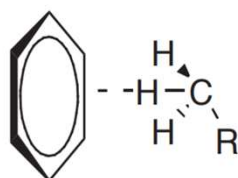
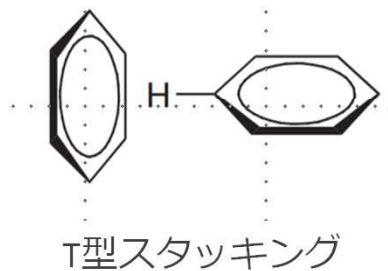


ベンゼンの静電ポテンシャルマップ

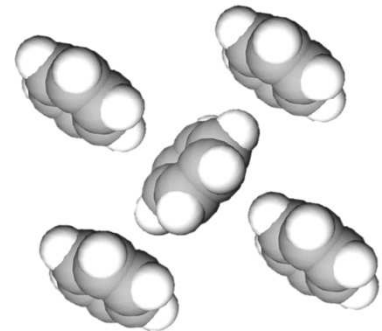
★ベンゼンは上図のように中心部が最も電子密度が高くなっており、L11固定相のPhenyl基やBiphenyl基はファンデルワールス力の配向力である双極子-双極子相互作用が働き、その一部として扱われる π - π 相互作用やCH- π 相互作用により特徴的な選択性を示します。



π - π 相互作用
 π - π スタッキング



CH- π 相互作用

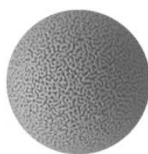


T型スタッキングによる分子配列

★ π - π 相互作用としてベンゼンの配置状態として π - π スタッキングやT型スタッキングが知られていますが、T型スタッキングはベンゼンの中心部とCHの水素との相互作用であるCH- π 相互作用に近いものと推察されます。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) が知られています。

Biphenylカラムの物性値

全多孔性シリカ 5 μm



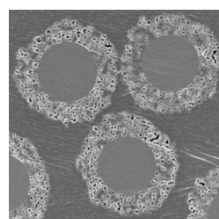
Sunniest Biphenylの物性値

	全多孔性シリカ			結合相				
	粒子径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m ² /g)	炭素含有量 (%)	固定相	USP L 番号	エンドキャッピング	使用pH範囲
Sunniest Biphenyl	5	12	340	11	Biphenyl	L11	Sunniest end-capping	1.5 - 9

Prominert Biphenylの物性値

	多孔性シリカ			結合相				
	粒子径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m ² /g)	炭素含有量 (%)	固定相	USP L 番号	エンドキャッピング	使用pH範囲
Sunniest Biphenyl	3.5	9	140	4	Biphenyl	L11	Tandem TMS	1 - 10

コアシェル型シリカ 2.6 μm



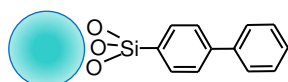
SunShell Biphenylの物性値

	コアシェルシリカ				結合相					
	粒子径 (μm)	コア径 (μm)	細孔径 (nm)	比表面積 (m ² /g)	炭素含有量 (%)	固定相	USP L 番号	エンドキャッピング	使用最高圧	使用pH範囲
SunShell Biphenyl	2.6	1.6	9	150	5	Biphenyl	L11	Sunniest end-capping	60 MPa	1.5 - 9

比較で用いた他社コアシェルBiphenylの物性値 (他社カタログより転記)

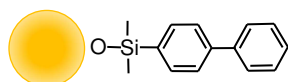
Company A Biphenyl	2.6	---	10	100	11	Biphenyl	L11	TMS	60 MPa	1.5 - 8.5
Company B Biphenyl	2.7	---	9	150	7	Biphenyldimethylsilane	L11	Yes	60 MPa	1.5 - 8.0
Company C Biphenyl	2.7	---	9	150	7	Biphenyldimethylsilane	L11	Yes	60 MPa	1.5 - 9.0

三官能性試薬を用いた結合状態



★Sunniest Biphenyl やSunShell BiphenylはBiphenyltrichlorosilane試薬を用いており、上記のような結合状態であります。三官能性試薬は耐酸性を向上させる特徴があります。

一官能性試薬を用いた結合状態

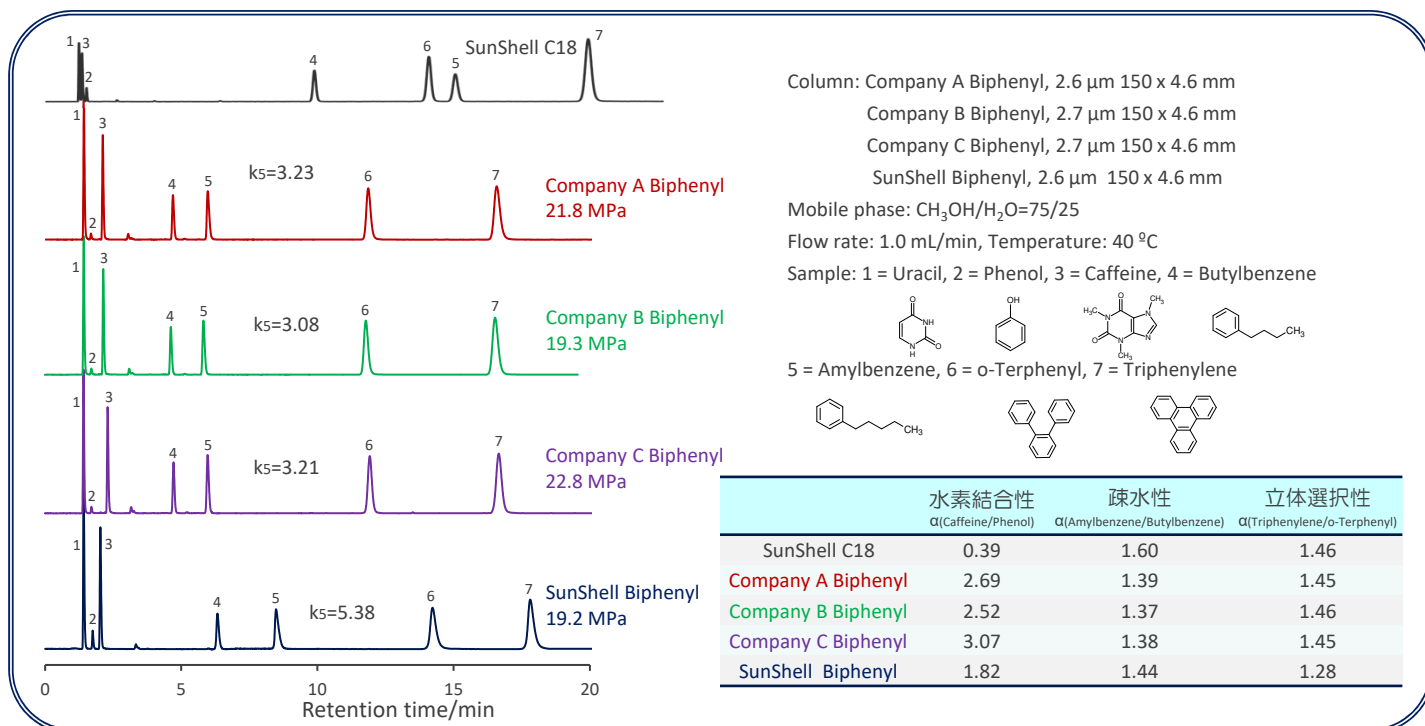


★他社A, B, C Biphenyl は全てBiphenyldimethylchlorosilane試薬を用いており、上記のような結合状態になります。耐酸性は三官能性試薬より劣ります。

コアシエル Biphenylカラムの比較

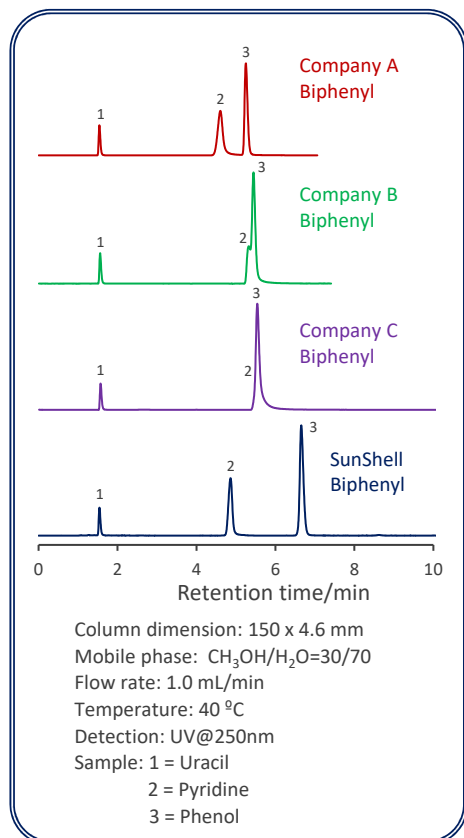
比較に用いたカラム
 1. Kinetex Biphenyl, 2.6 μm
 2. Halo Biphenyl, 2.7 μm
 3. Raptor Biphenyl, 2.7 μm
 4. SunShell Biphenyl, 2.6 μm

標準試料の分離



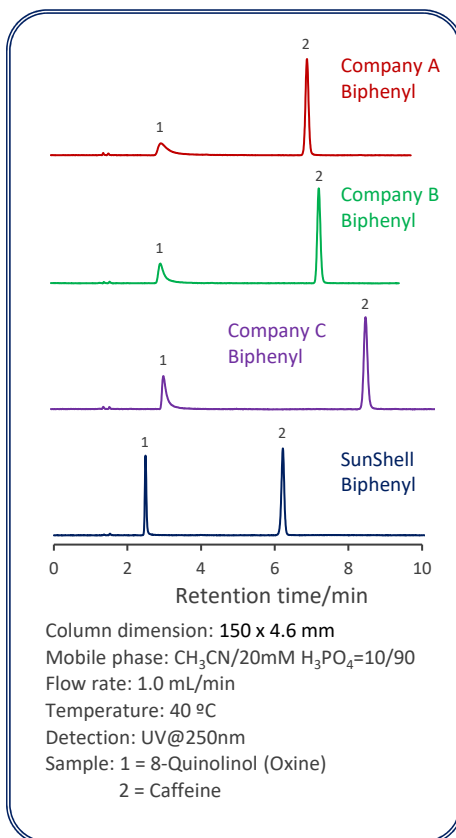
他社コアシエルタイプBiphenylとC18を比較しました。A, BおよびC社のBiphenylはよく似た分離パターンを示しました。SunShell Biphenylは5番のアミルベンゼンの保持が大きく、プチルベンゼンとアミルベンゼンの炭素一個の差の分離係数(表中の疎水性)も大きく、他社よりも疎水性が高いことが確認されました。炭素含有量は、SunShell Biphenylが5%で、他社Biphenylは全て7%以上であり、炭素含有量の最も低いSunShellが疎水性が高いことは、高密度にエンドキャッピングされていることを示しています。なお、BiphenylはC18とは大きく分離パターンが異なっております。

ピリジンのピーク比較



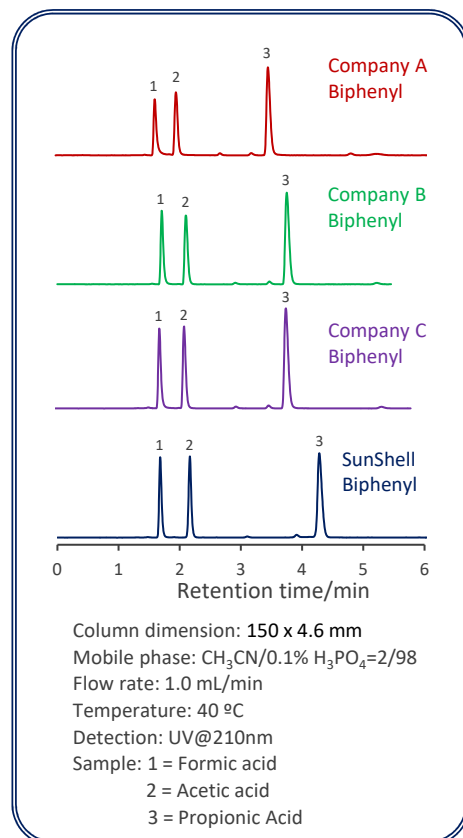
ピリジンは残存シラノール基によりテーリングが起こりやすい化合物です。移動相中の有機溶媒には、アセトニトリルよりもメタノールを用いたほうがテーリングが起こりやすく、ブランド間の差が明確になります。

オキシンのピーク比較



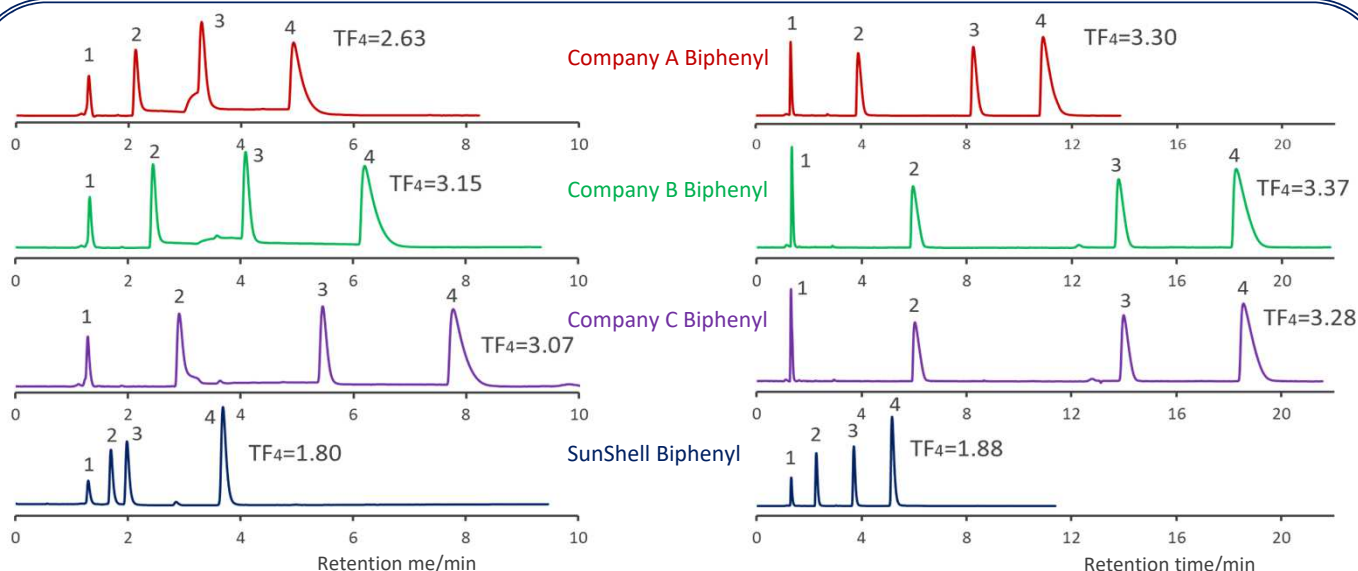
8-キノリノール(オキシン)は金属配位性化合物で充填剤内に金属不純物が存在するとテーリングピークとなります。

ギ酸のピーク比較



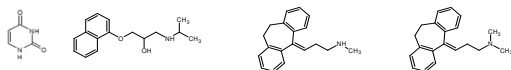
酸性化合物はほとんどのカラムで問題なく溶出しますが、ギ酸はテーリングしやすい酸性化合物の代表です。A社Biphenylはギ酸がテーリングしています。

アミトリプチリンのピーク比較



Column dimension: 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: CH₃CN/20 mM Phosphate buffer pH 7.0=60/40
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Uracil, 2 = Propranolol, 3 = Nortriptyline, 4 = Amitriptyline

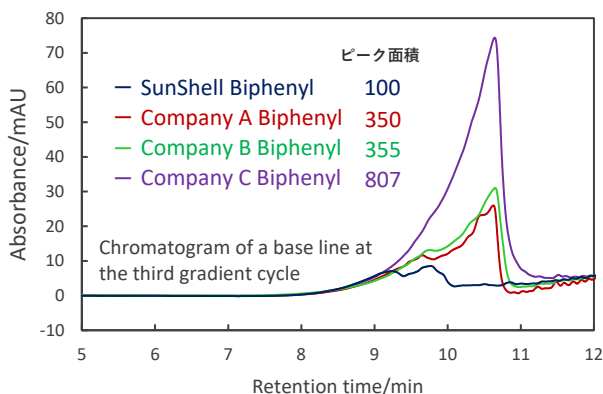
Column dimension: 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: CH₃CN/10 mM Ammonium acetate pH 6.8=40/60
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: 1 = Uracil, 2 = Propranolol, 3 = Nortriptyline, 4 = Amitriptyline



塩基性化合物（アミトリプチリン）のテーリングはメタノール/緩衝液移動相よりもアセトニトリル/緩衝液移動相で起こりやすいため、アセトニトリルと20 mMリン酸緩衝液およびアセトニトリルと10 mM酢酸アンモニウム水溶液の二種類の移動相に用いて、他社コアシェル Biphenylとの比較を行いました。他社Biphenylでは塩基性化合物のテーリング度合いが高く、残存シラノール基への吸着が影響していると思われる保持時間の増大も確認されました。

耐久性比較

酸性条件でのブリード比較



ブリード試験条件

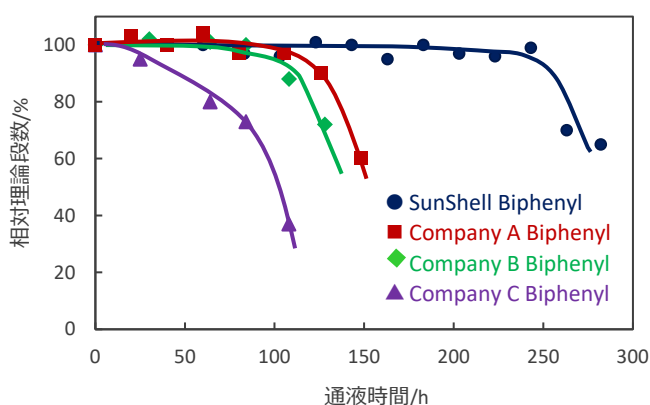
Column dimension: 50 x 2.1 mm
 Mobile phase: A) 1% H₃PO₄ (pH 1.2)
 B) Acetonitrile

Gradient program

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

Flow rate: 0.3 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@250 nm

弱アルカリ性条件での段数比較



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

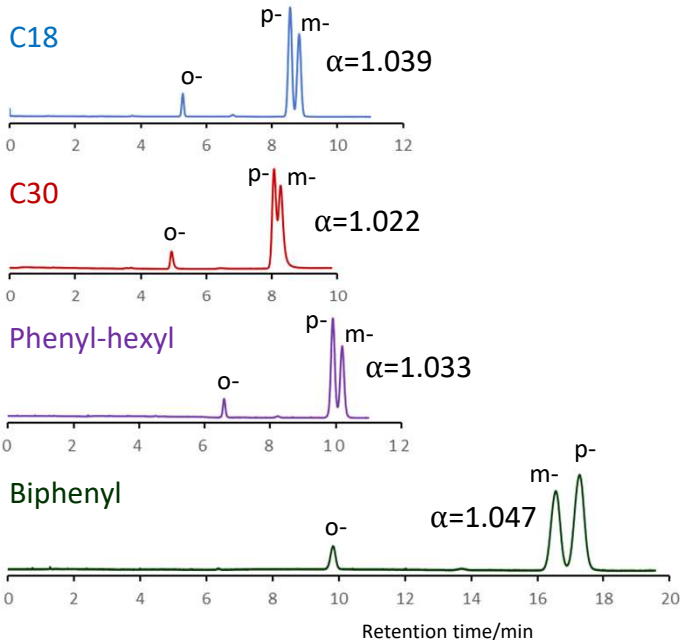
理論段数測定条件

Mobile phase: CH₃CN/H₂O=50/50
 Flow rate: 0.2 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@250 nm
 Sample: Butylbenzene

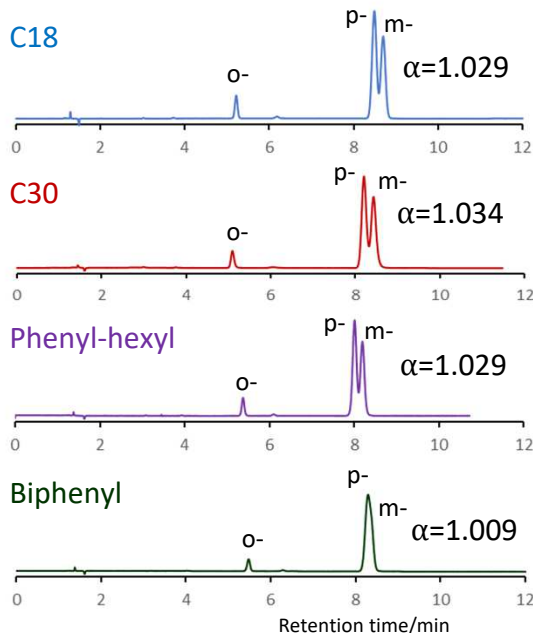
酸性条件の耐久性は1%リン酸水溶液とアセトニトリルのグラジエント溶離でのベースラインの変化を比較しました。Biphenyl基は酸性条件下ではシリカ表面から脱離し、有機溶媒の増加に伴い、カラム外に溶出します。ベースラインの変動は脱離したBiphenyl基を検出しており、SunShellは最も脱離が少なく、高い耐酸性を示しました。また、弱アルカリ性条件では充填剤のシリカが溶け出し、カラムイン側がへこむため、カラムの理論段数を比較しました。Biphenyl カラムは有機溶媒を含まない移動相でも保持時間の再現性が高く（6ページ参照）、高極性化合物の分離に有効なため、有機溶媒を含まないpH 8の条件で耐久性比較を行いました。SunShellは他社カラムと比較して、2倍から4倍の耐久性を示しました。

メチル馬尿酸の異性体の分離比較

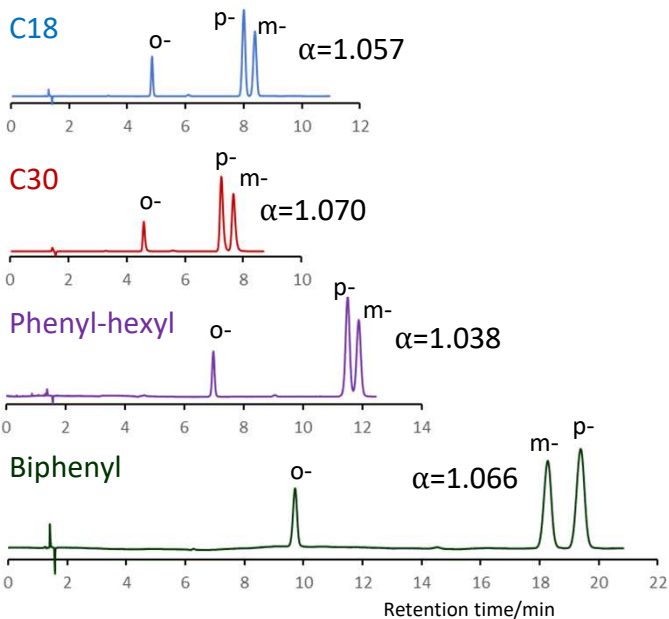
Methanol/buffer=25/75



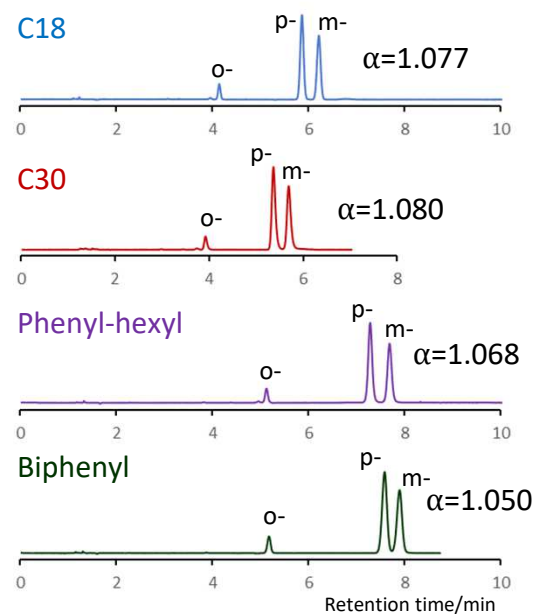
Acetonitrile/buffer=13.5/86.5



2-Propanol/buffer=7/93

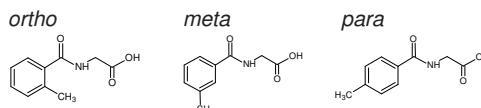


Tetrahydrofuran/buffer=10/90



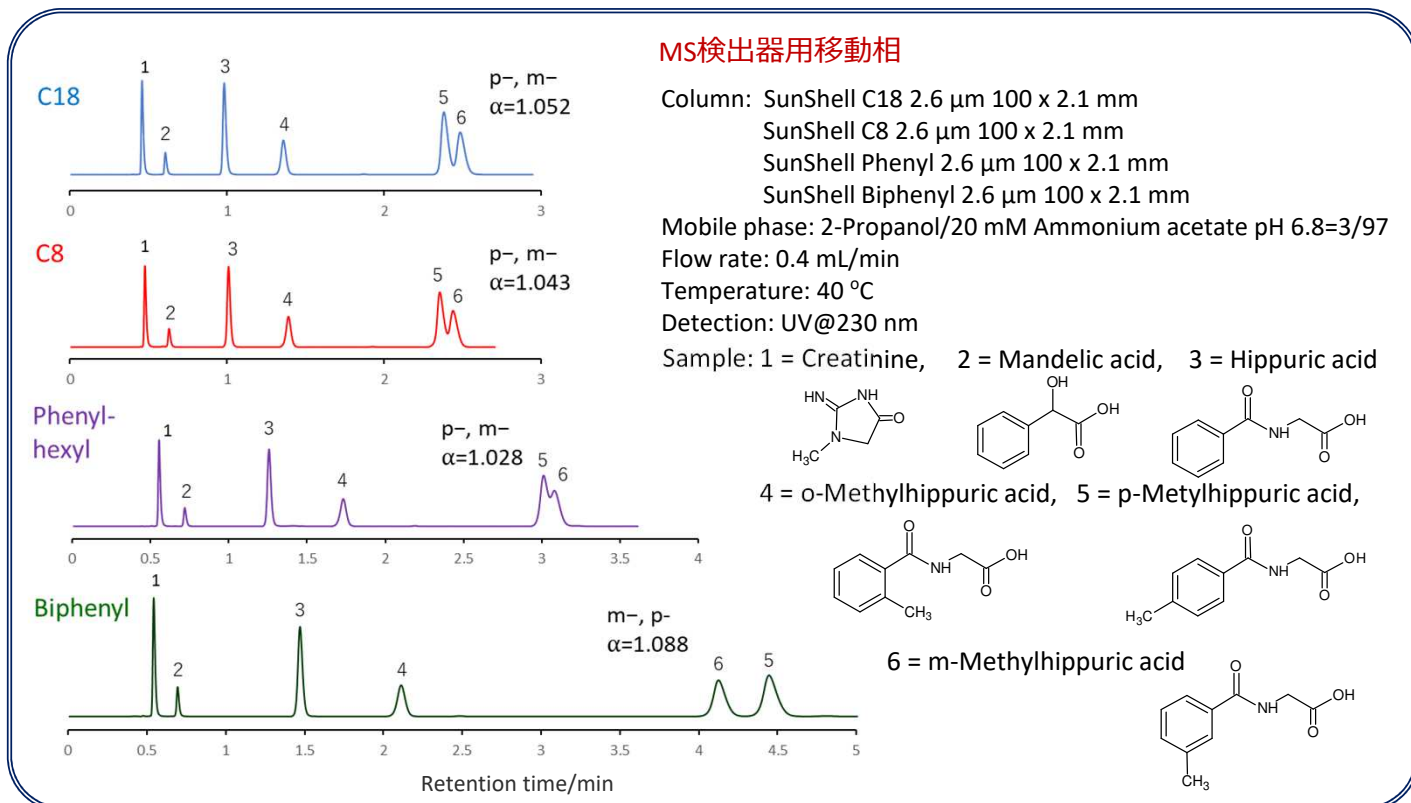
Column: SunShell C18 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 SunShell C30 2.6 μm 150 x 2.1 mm
 SunShell Phenyl 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 SunShell Biphenyl 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: Organic solvent/25 mM Phosphate buffer pH 3.0
 Flow rate: 1.0 mL/min, 0.2 mL/min for only C30

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



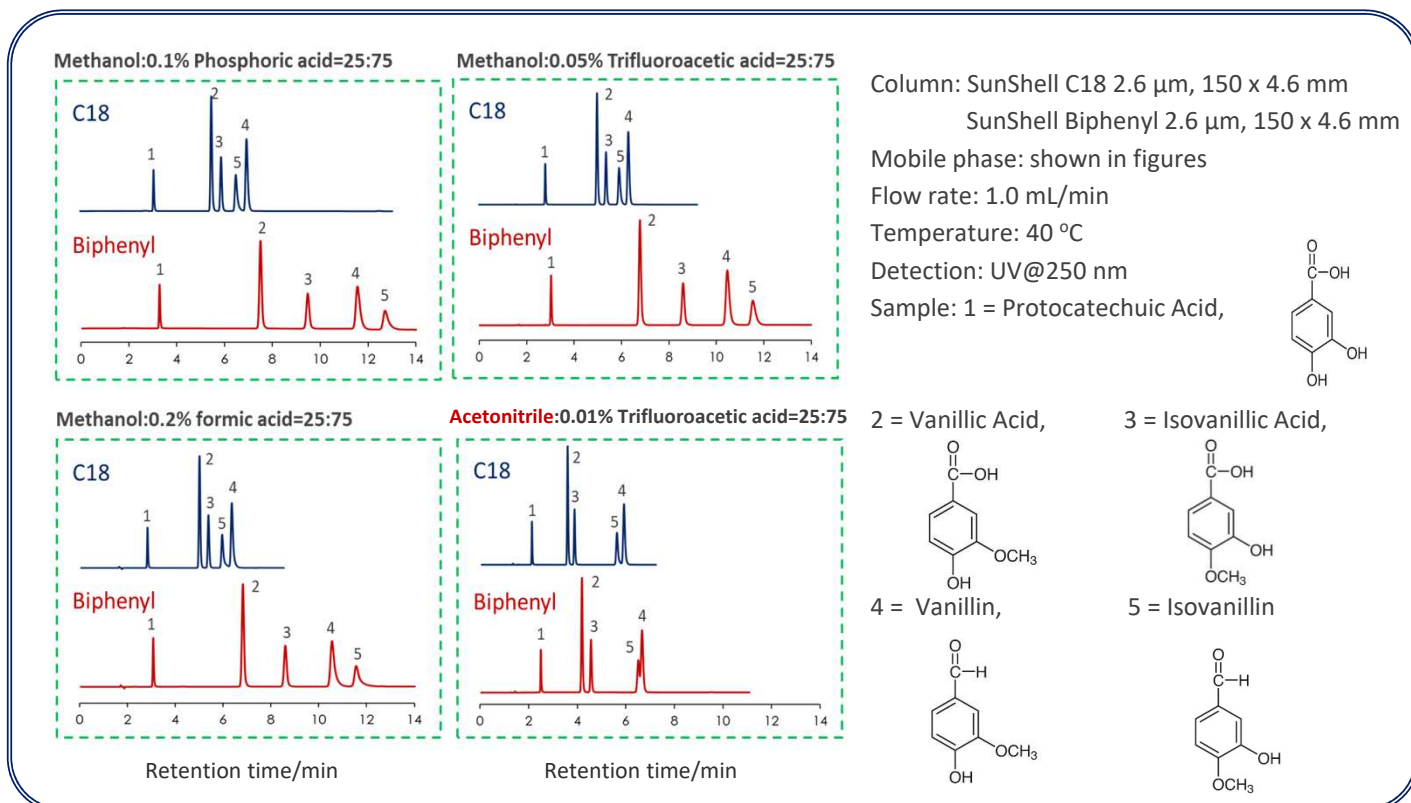
メチル馬尿酸のオルト、メタおよびパラ異性体の分離を比較しました。固定相はC18, C30, Phenyl-hexylおよびBiphenylを用い、移動相中の有機溶媒にメタノール、アセトニトリル、2-プロパノールおよびテトラヒドロフランの4種類を用いました。有機溶媒によりメタ-とパラ-メチル馬尿酸の分離は大きく変わり、アセトニトリル、メタノール、2-プロパノール、テトラヒドロフランの順に分離は最善されました。アルコールを移動相の有機溶媒として用いた場合に、Biphenylは特に大きな保持を示し、さらにメタとパラの溶出順序が他の固定相とは逆転しました。これは標準試料の分離で求められた水素結合性が高いことが起因していると考えられます。アセトニトリルを使用した場合には、溶質と固定相の π - π 相互作用がアセトニトリルのCNの三重結合により弱められるため、Biphenylの特徴を十分発揮できないと考えられます。テトラヒドロフランを用いた場合には、固定相内部にテトラヒドロフランが入り込み固定相はテトラヒドロフランと混合した状態となるため、アルコールを用いた場合とは異なった分離挙動になったと考えられます。

クレアチニン，マンデル酸，馬尿酸およびメチル馬尿酸の分離比較



前頁のメチル馬尿酸の異性体の分離には、移動相にリン酸塩緩衝液を用いましたが、クレアチニンを含めたこの分離比較ではLC/MSIに应用できる酢酸アンモニウム緩衝液移動相を用いました。有機溶媒には2-プロパノールを用いました。Biphenylは最も保持が大きく最も良好な分離を示しました。Biphenylの特徴的な分離として、異性体のメタ-メチル馬尿酸とパラ-メチル馬尿酸の溶出順序がC18, C8およびPhenyl-hexylと逆になることが挙げられます。

バニリンとイソバニリンの分離

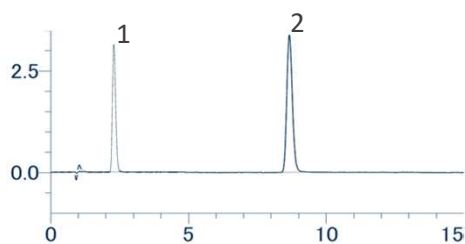


バニリンとイソバニリンの分離をC18とBiphenylで比較しました。移動相中の酸の種類を変え比較した結果、0.05%のトリフルオロ酢酸を用いた場合が最も良い分離となりました。C18とBiphenylの比較では、移動相の有機溶媒にメタノールを用いた場合4番のバニリンと5番イソバニリンの溶出順序が逆転しており、Biphenylは全体的に大きな保持を示しました。アセトニトリルを用いた場合には溶出順序は同じで、保持自体もC18とBiphenylの両カラムで大差なく、メチル馬尿酸の異性体の分離と同様な結果となりました。

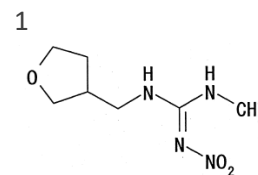
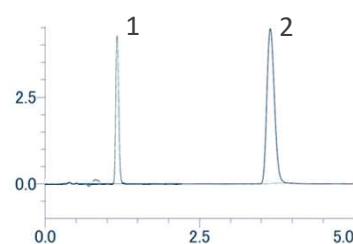
ジノテフランおよびクロチアニジンの分離

移動相：メタノール/水=10/90

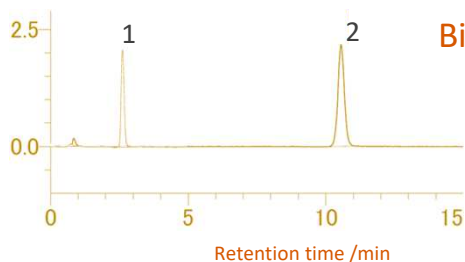
移動相：アセトニトリル/水=10/90



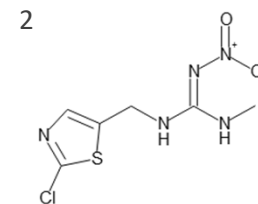
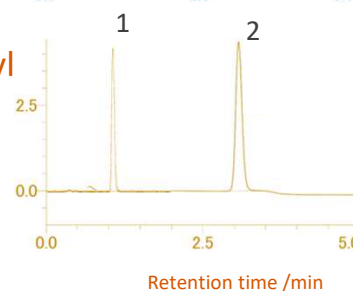
C18



ジノテフラン



Biphenyl



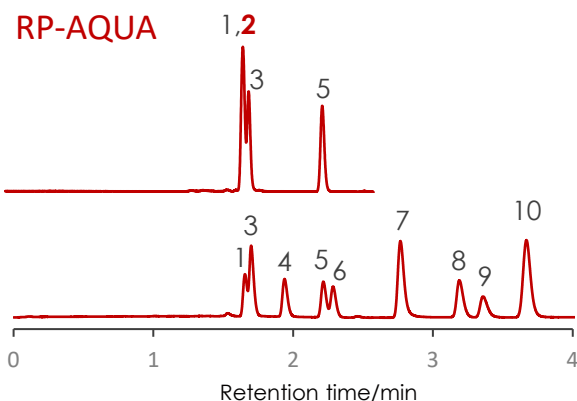
クロチアニジン

Column: SunShell C18, Biphenyl 2.6 μ m, 100 x 2.1 mm
 Mobile phase: methanol/water=10/90, acetonitrile/water=10/90
 Flow rate: 0.2 mL/min
 Temperature: 45 $^{\circ}$ C
 Detection: UV@270 nm for dinotefuran, UV@265 nm for crossianidin
 Injection volume: 5 μ L

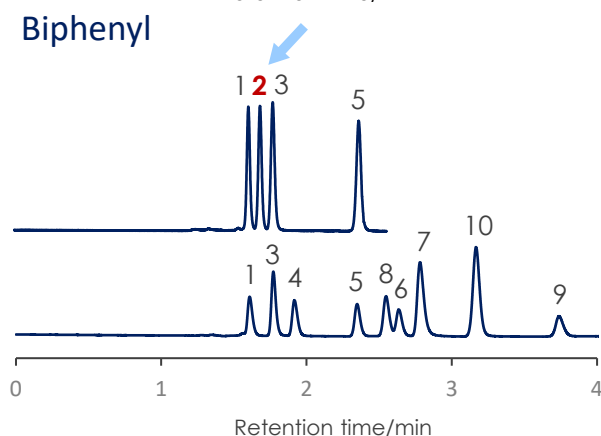
データ提供：株式会社 エスコ

BiphenylはC18よりも疎水性が低いですが、Biphenyl固定相が有する π - π 、CH- π 相互作用等により、メタノール・水移動相ではBiphenylの方が保持が大きくなります。アセトニトリル・水移動相では π 相互作用がアセトニトリルの3重結合の π 電子により弱められるため、保持挙動は逆になりました。

グリコール酸（有機酸）の分離

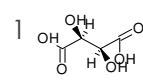


RP-AQUA

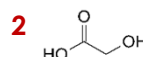


Biphenyl

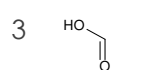
Column: SunShell RP-AQUA, Biphenyl 2.6 μ m, 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: 0.1% H₃PO₄
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Column pressure: 18 MPa
 Temperature: 40 $^{\circ}$ C
 Detection: UV@210nm
 Injection volume: 1 μ L



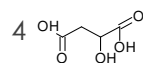
Tartaric acid



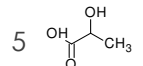
Glycolic acid



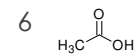
Formic acid



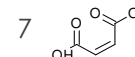
Malic acid



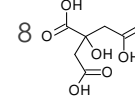
Lactic acid



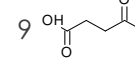
Acetic acid



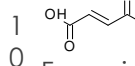
Maleic acid



Citric acid



Succinic acid

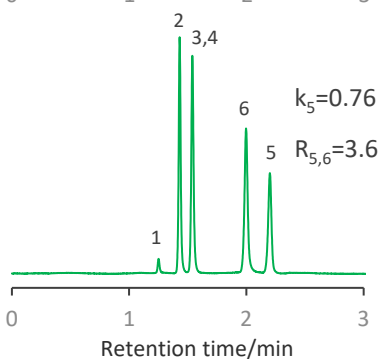
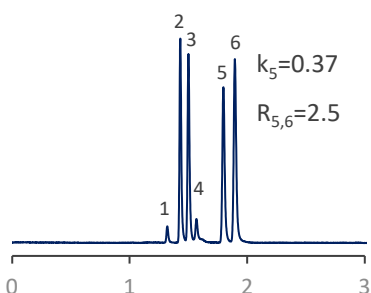
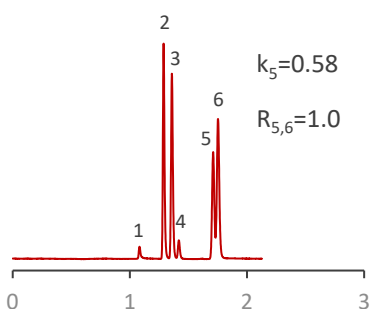


Fumaric acid

C18やRP-AQUAのようなアルキル基系固定相では1番2番の酒石酸とグリコール酸ピークは重なってしまいますが、Biphenylでは1番2番3番の酒石酸、グリコール酸およびギ酸がほぼベースライン分離します。また、有機酸の溶出順序が大きく異なりました。

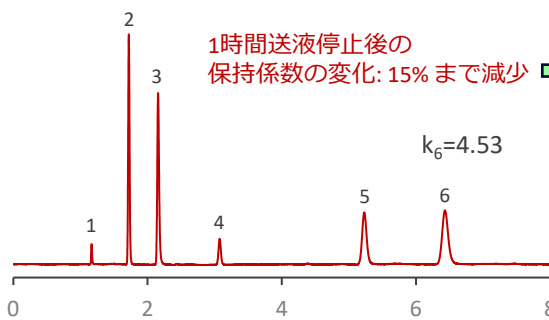
核酸塩基の分離比較

A) Methanol/10 mM ammonium acetate pH6.8=20/80

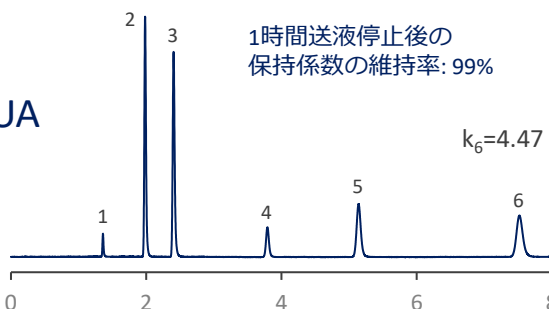


B) 10 mM ammonium acetate pH6.8

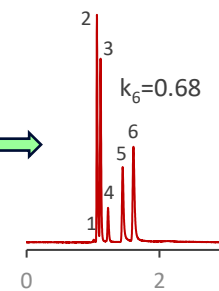
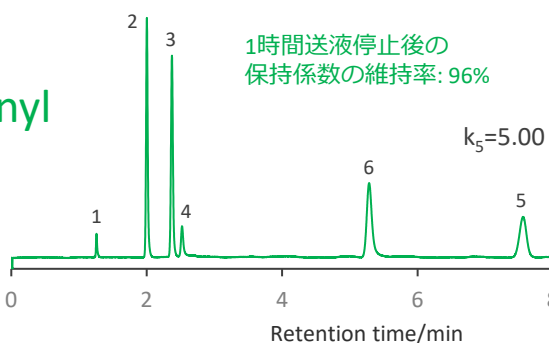
C18



RP-AQUA



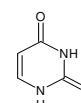
Biphenyl



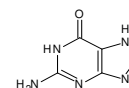
1. NaNO₂
2. Cytosine



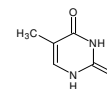
3. Uracil



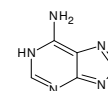
4. Guanine



5. Thymine



6. Adenine



Column: SunShell C18 2.6 μm, 150 x 4.6 mm (pore size: 9 nm)
 SunShell RP-AQUA 2.6 μm, 150 x 4.6 mm (pore size: 16 nm)
 SunShell Biphenyl 2.6 μm, 150 x 4.6 mm (pore size: 9 nm)
 Mobile phase: A) Methanol/10 mM ammonium acetate pH 6.8=20/80
 B) 10 mM ammonium acetate pH 6.8

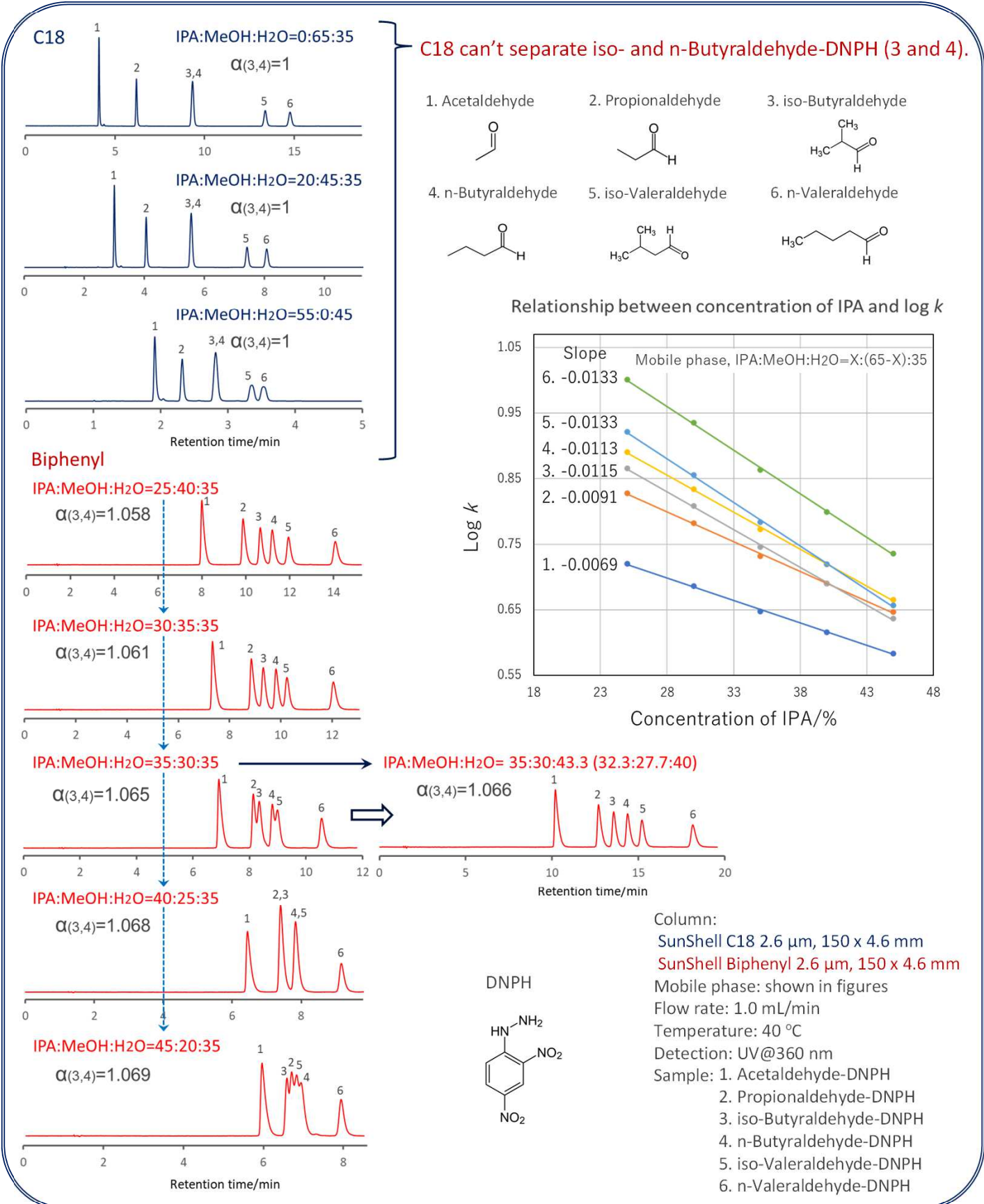
Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@250 nm

Sample: 1 = Sodium nitrite, 2 = Cytosine, 3 = Uracil, 4 = Guanine, 5 = Thymine, 6 = Adenine

核酸塩基類の分離をC18, RP-AQUAおよびBiphenylカラムで行いました。移動相としてメタノール/10 mM酢酸アンモニウムpH 6.8=20/80と10 mM酢酸アンモニウム水溶液の二種類を用いました。上記核酸塩基はメタノールが20%含まれる移動相でも分離できますが、保持時間は短くなります。この20%メタノールを含む移動相の比較では、5番ピークのアデニンの保持係数(k₅)はBiphenylが最も大きく、チミンとアデニンの5、6番ピークの間隔度(R_{5,6})もBiphenylが最も大きくなりました。有機溶媒を含まない水系移動相を用いた場合には、Biphenylの最後に溶出するチミンの保持係数は5.00で、C18およびRP-AQUAの最後に溶出するアデニンはそれぞれ4.53と4.47となり、最後に溶出した成分についてはBiphenylが最も大きな保持係数となりました。BiphenylはRP-AQUAやC18と試料の溶出順序が異なるなど、選択性が大きく異なっております。また、水系移動相を用いた場合の保持時間安定性は、RP-AQUAと同様にBiphenylでも高いことが確認されております。C18は送液を1時間停止した後、再度測定した保持係数は15%まで減少しており、再現性の低いことが確認されました。

★Biphenyl固定相は水素結合性が高く、極性化合物の保持に有効です。しかも100%水系移動相でも保持時間の再現性が高い分離が可能です。

6種類のDNPH-アルデヒドの分離



Iso-ブチルアルデヒド-DNPHとn-ブチルアルデヒド-DNPHはC18では分離できませんが、Biphenylでは分離可能です。移動相の有機溶媒にメタノール(MeOH)と2-プロパノール(IPA)を混合して用いた場合、2-プロパノールの組成比が大きくなるにつれIso-ブチルアルデヒド-DNPHとn-ブチルアルデヒド-DNPHの分離係数 $\alpha(3,4)$ は大きくなり、分離が良くなりました。双極子-双極子相互作用は、C18では作用せず、Biphenylでは作用していると考えられ、Iso-ブチルアルデヒド-DNPHとn-ブチルアルデヒド-DNPHの分離は双極子-双極子相互作用により達成されたと考えられます。この双極子-双極子相互作用はメタノールよりも2-プロパノールの方がより強く発揮されたと考えられ、メチル馬尿酸の異性体の分離比較で、移動相中の有機溶媒がメタノールよりも2-プロパノールの方が分離係数が大きくなることと同様な結果となりました。

SunShell Biphenylの価格表 (コアシェルカラム)

	内径 (mm)	1.0		2.1		3.0		4.6		USP category
		長さ (mm)	型番	価格	型番	価格	型番	価格	型番	
SunShell Biphenyl, 2.6 μm	30	-----	-----	C86931	¥67,000	C86331	¥67,000	C86431	¥67,000	L11
	50	-----	-----	C86941	¥69,000	C86341	¥69,000	C86441	¥69,000	
	75	-----	-----	C86951	¥75,000	C86351	¥75,000	C86451	¥75,000	
	100	-----	-----	C86961	¥84,000	C86361	¥84,000	C86461	¥84,000	
	150	-----	-----	C86971	¥89,000	C86371	¥89,000	C86471	¥89,000	

※内径0.5 mmから0.075 mmのマイクロ・ナノカラムはお問い合わせ願います。
 ※上価格には消費税は含まれておりません。上記価格表は2022年9月現在の国内販売価格です。
 ※外観および仕様は改良のため、予告なく変更する場合がございますのでご了承願います。

Prominert Biphenylの価格表 2022年 10月 より発売開始

	内径 (mm)	2.1		3.0		4.6		USP category
		長さ (mm)	型番	価格	型番	価格	型番	
Prominert Biphenyl, 3.5 μm	50	P89941	¥65,000	-----	-----	-----	-----	L11
	100	P89961	¥72,000	P89361	¥72,000	P89461	¥72,000	
	150	P89971	¥79,000	P89371	¥79,000	P89471	¥79,000	
	250	-----	-----	P89381	¥95,000	P89481	¥95,000	

※上価格には消費税は含まれておりません。上記価格表は2022年10月現在の国内販売価格です。
 ※外観および仕様は改良のため、予告なく変更する場合がございますのでご了承願います。

Sunniest Biphenylの価格表

	内径 (mm)	2.0		3.0		4.6		10		20		USP category
		長さ (mm)	型番	価格	型番	価格	型番	価格	型番	価格	型番	
Sunniest Biphenyl, 5 μm	50	E83241	¥60,000	E83341	¥60,000	E83441	¥60,000	-----	-----	-----	-----	L11
	100	E83261	¥65,000	E83361	¥65,000	E83461	¥65,000	-----	-----	-----	-----	
	150	E83271	¥67,000	E83371	¥67,000	E83471	¥67,000	-----	-----	-----	-----	
	250	E83281	¥70,000	E83381	¥70,000	E83481	¥70,000	E83781	¥240,000	E83881	¥480,000	

※上価格には消費税は含まれておりません。上記価格表は2022年9月現在の国内販売価格です。
 ※外観および仕様は改良のため、予告なく変更する場合がございますのでご了承願います。

開発・製造・発売元

2209

株式会社 クロマニックテクノロジーズ

代表取締役社長 長江 徳和

552-0001 大阪府大阪市港区波除6-3-1

TEL: 06-6581-0885 FAX: 06-6581-0890

E-mail: info@chromanik.co.jp URL: http://chromanik.co.jp