

## ボルタンメトリ検出器を用いたHPLCの基礎的研究

Fundamental Research of HPLC by Using of VMD

高橋 浩\*・馬場 昭乃\*\* 高井 信治\*

Hiroshi TAKAHASHI, Akino BABA and Nobuharu TAKAI

## 1. はじめに

高速液体クロマトグラフィーの検出器は、カラム充填剤の性能が向上し、今まで分離分析が不可能であるような場合や極微量の物質についても検出する必要が生じてきたので高感度化が要求されている。さらに共存する物質が多い生体関連物質等については、その系の中の特定の性質を持つ物質だけを検出したい要求もでてきた。

最近、このような目的で溶液中の易酸化性物質のみを検出することのできるボルタンメトリ検出器が開発された。しかし、この検出器は開発されて間もないので、その詳細については未知な部分が多い。そこで、これらの事柄を少しでも明らかにするために、試料にアルキルフェノールを用いHPLCに繁用されるメチルアルコール、アセトン、アセトニトリルを溶離液に用いた場合の溶離挙動を調べた。

## 2. 実験

実験に使用したボルタンメトリ検出器は、VMD-101型(柳本製作所)でカラムは4φ×150mmにHITACHI GEL 3053を充填して用いた。また、ポンプはレシプロタイプKSD-25(協和精密)ペローズダンパー(梅谷精機)を組み合わせて用いた。

サンプルは種々のアルキルフェノールをメタノールで0.01 mol/lに調整し、マイクロシリングで10μlずつとりインジェクター(レオダイン)に注入した。流量は0.375 ml/minとし検出器の加電圧は1Vに固定した。溶離液はメチルアルコール、アセトン、アセトニトリルの試薬特級を用い、またこの他に、これらの各々にイオン交換水を加えた水-有機溶媒混合液を用いた。さらに、溶離液には各々1%の過塩素酸リチウムを溶解させて支持電解質として使用した。電位電流曲線を求めるときは0.4V~1.0Vまで0.1Vずつ徐々に電圧を増加させて測定した。

\* 東京大学生産技術研究所 第4部

\*\* 東京理科大学

## 3. 結果および考察

まず使用するカラムの性能を調べる目的でTable 1に用いた溶離液と理論段数(N)および一理論段当たりの高さ(HETP)を示す。またFig. 1に溶離液の誘電率とカラムの中における分配係数との関係を示す。Fig. 1からわかるように誘電率と見かけの分配係数の間には特別な関

Table 1 理論段数(N)と一理論段当たり高さ(HETP)

溶離液	N	HETP(mm)	サンプル
CH <sub>3</sub> OH	2020	0.074	O-iso propylphenol
CH <sub>3</sub> OH:H <sub>2</sub> O = 9:1	907	0.165	O-tert butylphenol
CH <sub>3</sub> OH:H <sub>2</sub> O = 8:2	925	0.162	O-tert butylphenol
CH <sub>3</sub> CN	3044	0.049	O-iso propylphenol
CH <sub>3</sub> CN:H <sub>2</sub> O = 9:1	1137	0.132	O-tert butylphenol
CH <sub>3</sub> CN:H <sub>2</sub> O = 8:2	1783	0.084	O-tert butylphenol
CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	1272	0.118	P-n-propylphenol
CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub> : H <sub>2</sub> O=9:1	1084	0.138	O-tert butylphenol
CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub> : H <sub>2</sub> O=8:2	1556	0.096	O-tert butylphenol

① phenol  
② p-n-propylphenol

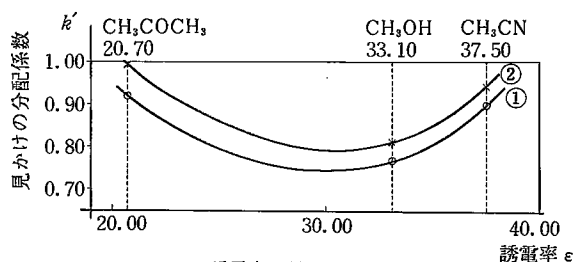


Fig. 1 誘電率と見かけの分配係数

Table 2 フェノールを基準としたときの相対感度

溶離液 サンプル	CH <sub>3</sub> OH	CH <sub>3</sub> OH:H <sub>2</sub> O = 9:1	CH <sub>3</sub> OH:H <sub>2</sub> O = 8:2	CH <sub>3</sub> CN	CH <sub>3</sub> CN:H <sub>2</sub> O = 9:1	CH <sub>3</sub> CN:H <sub>2</sub> O = 8:2	CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub> :H <sub>2</sub> O=9:1	CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub> :H <sub>2</sub> O=8:2
Phenol	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
O-Cresol	1.44	1.02	0.70	2.02	1.77	1.01	1.69	0.89	1.35
m-cresol	0.88	0.60	0.48	1.42	0.70	0.76	0.76	0.73	1.04
P-cresol	1.18	0.78	0.56	2.83	0.95	0.70	1.60	0.77	1.25
O-ethyl phenol	0.63	0.29	0.16	2.83	0.42	0.55	1.02	0.31	0.99
P-ethyl phenol	0.80	0.46	0.29	2.22	0.52	0.69	1.32	0.47	1.14
O-iso propylphenol	0.12	0.07	0.03	0.54	0.07	0.18	0.29	0.09	0.23
P-iso propylphenol	0.28	0.12	0.06	1.20	0.13	0.22	0.75	0.15	0.80
O-n propylphenol	0.25	0.13	0.07	0.84	0.11	0.35	0.68	0.12	0.72
P-n propylphenol	0.20	0.26	0.14	0.78	0.16	0.49	0.59	0.20	0.46
O-tert butylphenol	0.04	0.02	0.01	0.35	0.02	0.07	0.17	0.03	0.13
P-tert butylphenol	0.07	0.03	0.01	0.44	0.04	0.09	0.28	0.05	0.36
O-sec butylphenol	0.04	0.02	0.01	0.20	0.02	0.05	0.17	0.03	0.14

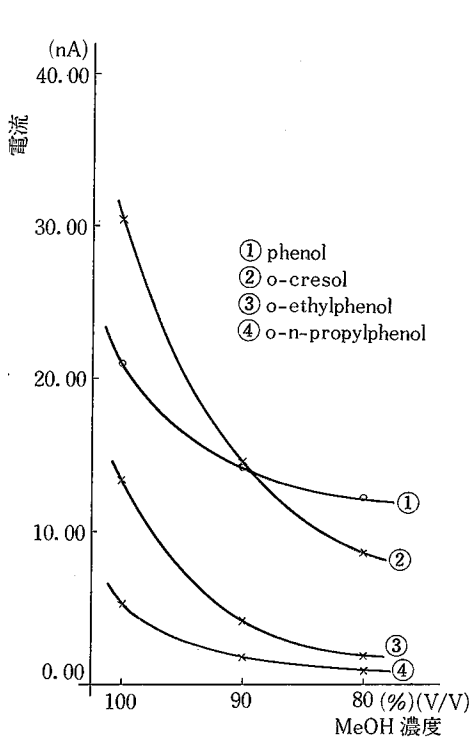


Fig 2 メタノール濃度と電流との関係

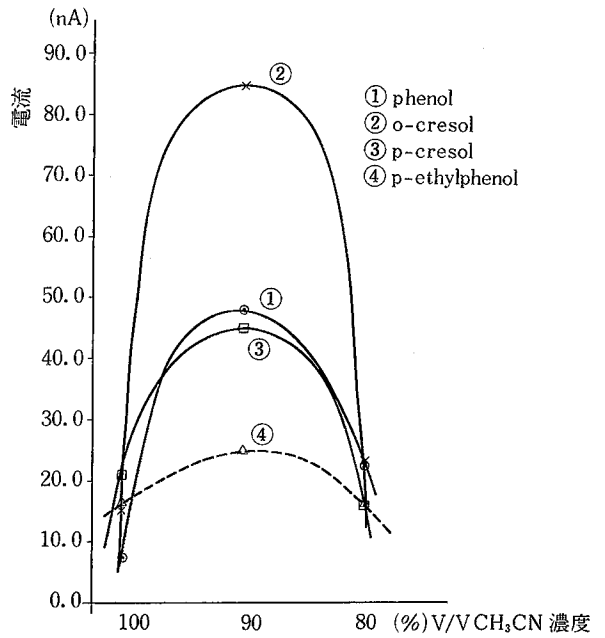


Fig 3 アセトニトリル濃度と電流との関係

係は見られないようである。またアセトン、アセトニトリルではほぼ同程度に分配されることが分かった。

Table 2 にはフェノールを基準としたときの相対感度を

示す。この結果は、クレゾール>フェノール>エチルフェノール>プロピルフェノール>ブチルフェノールの順で易酸化性であることを示す。またo, p異性体の比較では、クレゾールではo>p (CH<sub>3</sub>CN以外), 他の物質では2,3の例外はあるが一般的にp>oとなる。

メタノール濃度と電流の関係をFig.2に示す。これより、溶離液にメタノールを用いると水の混合割合が多くなれば酸化されにくくなることがわかった。

Fig.3にアセトニトリルの濃度と電流の関係を示す。

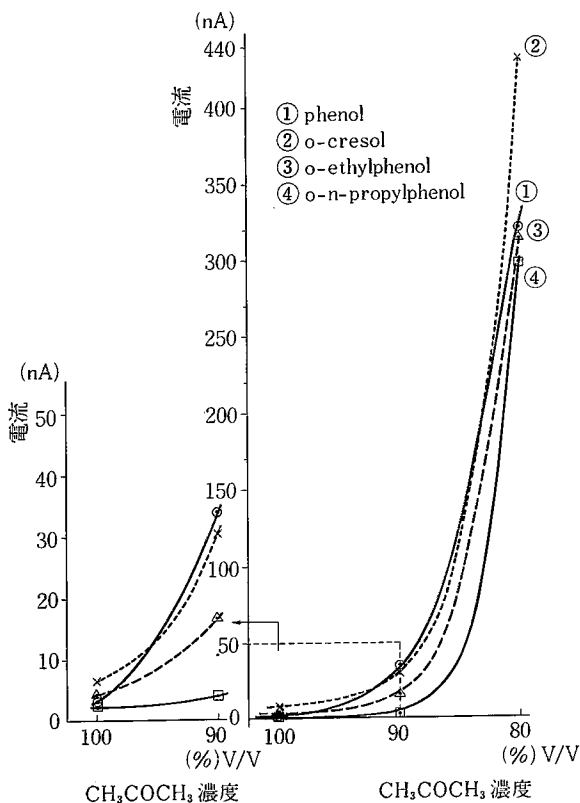


Fig.4 アセトンの濃度と電流

これより溶離液がCH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O=9:1のとき最もよく酸化することがわかる。

Fig.4はアセトンの濃度と電流の関係を示す。これより、溶離液中の水の割合が多いほど酸化されやすいことがわかる。

Fig.5は溶離液の誘電率がアルキルフェノール類の酸化還元反応に及ぼす影響を示した図である。図のように、

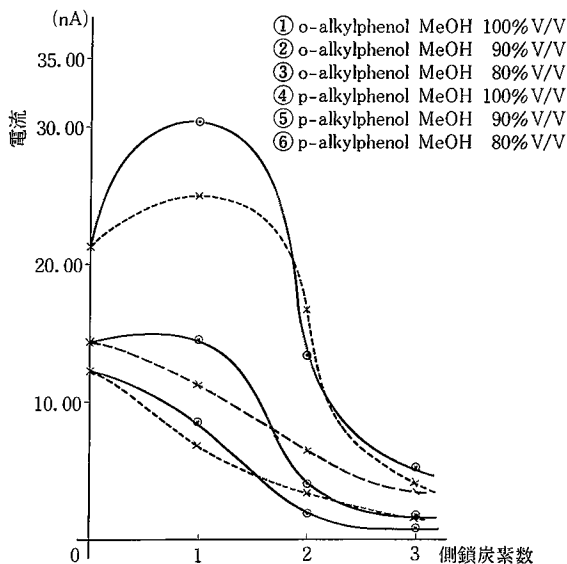


Fig.6 メタノール—水系における側鎖炭素数と電流

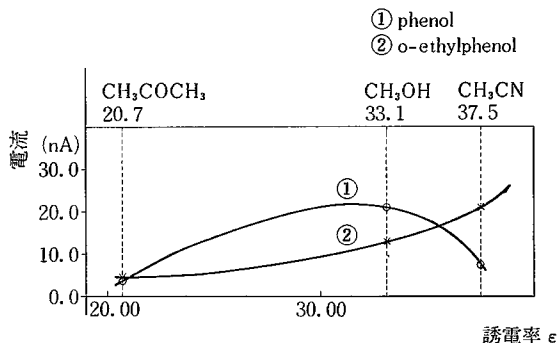


Fig.5 溶離液の誘電率と電流の関係

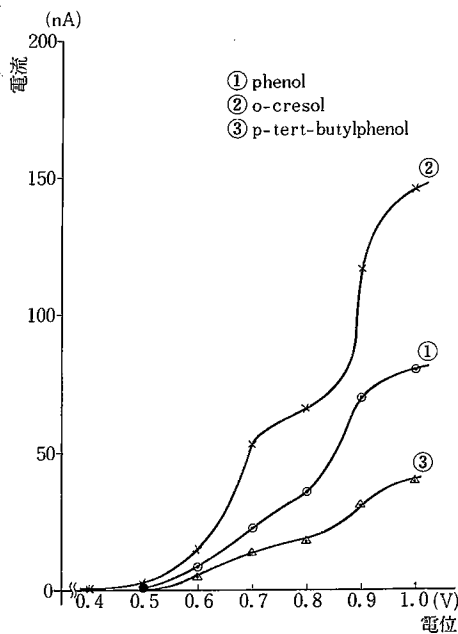


Fig.7 電位電流曲線

## 研究速報

2種類のパターンがあり、①の型はフェノール、クレゾールが示し、②の型はエチル、プロピル、ブチルフェノールが示す。

Fig. 6 は溶離液がメタノール-水系のときのサンプルの側鎖炭素数と酸化還元電流の関係を示した図である。一般に側鎖炭素数が多くなれば酸化されにくくなる。

Fig. 7 は電位電流曲線である。これより電位が高くなれば酸化還元電流が多く流れることがわかる。

この実験によりLC用に開発されたボルタンメトリー検出器は有機溶媒を溶離液として用いても検出すること

が可能であることがわかった。しかし有機溶媒の種類、水との混合割合により同一濃度の試料でも、異なったピーク高さを示し実質的に感度の差があることが知られた。

また支持電解質としては過塩素酸リチウムが非水溶媒中で比較的良好な性質を持っていて、有機ポーラログラフイーの結果とよく一致する。

今後、この方法を利用して非水溶媒中の易酸化性物質を高感度で測定する可能性が得られた。

(1979年12月7日受理)

