

微量汚染物質分取用高速液体クロマトグラフィーの試作

Experimental Data by a Self-designed High Performance Preparative High Liquid Chromatograph for Pollutants

三井英夫*・高井信治*・熊野裕従*・山辺武郎*

Hideo MITSUI, Nobuharu TAKAI, Ju KUMANOTANI and Takeo YAMABE

1. はじめに

環境汚染に関する情報は汚染物質の正しい分析結果に基づいて作られなければならない。しかし、一般に、汚染物質の分析では、例えば揮発性物質についてはガスクロマトグラフィーなどの手段による例が多く、この方法は未知物質に対しては必要にして十分な分析法であるとは考え難い。このような方法が一般に用いられ易い理由として、(1)汚染物質の濃度が小さいこと、したがって物質を多量集めることが容易でない。(2)汚染物質は一般に構造未知の混合物で分離が困難である物質系から成り立っていることが多いなどをあげることができる。

一般に物質の効率の大きい分離法としては、蒸留のほか、ガスクロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー(カラムクロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィー)、高速液体クロマトグラフィーなどがある。蒸留法、ガスクロマトグラフィーは揮発性物質に適用できるが処理能力が小さい。これに比して、カラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーは、揮発性物質ばかりでなく、とくに揮発性の小さい“オリゴマー”の分離分析に有用である。最近処理能率、分離能率の優れている高速液体クロマトグラフィーの利用とその研究が盛んになっている。しかしその1回当りの処理量は必ずしも大でなく最大200mg程度である。

この報告では、多量の汚染物質を能率よく分離できる高速液体クロマトグラフィー用カラム、分離操作上必要である溶媒輸送ポンプ、検出器セルなどを新しく設計・試作して、試作カラムについて物質分離に必要な基本的データを得た。

ここで試作したカラムを用いると5g程度の試料を約1hr程度で能率よく分離分取できる見通しを得た。汚染物質への自動化分析をさらにすすめる予定である。

2. 実験

a) 装置

実験に使用した装置は、ポンプ、カラム及び検出器

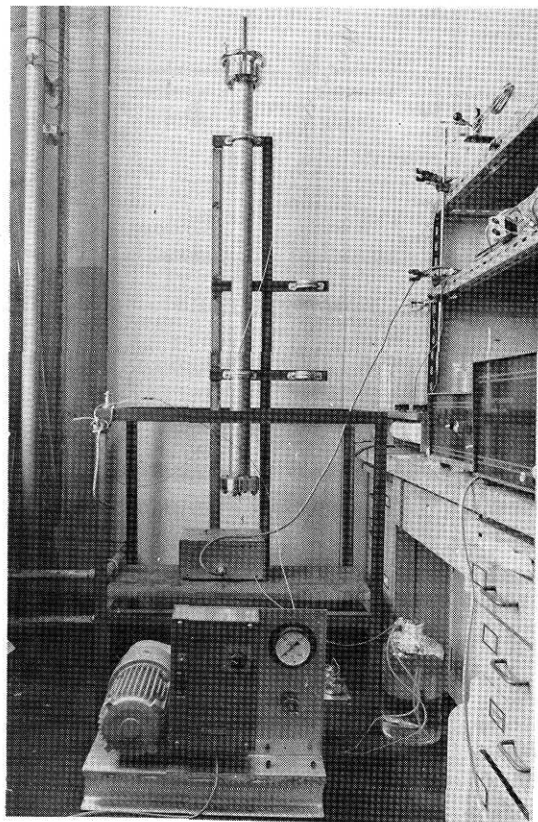


写真1

から成り立っている。写真1はその全景を示すもので、図1はその概略図である。

図2にポンプの概略図を示した。ダブルプランジャー型で、リニャーカムを用いて、無脈動送込ポンプを設計し梅谷鉄工所で製作した。このポンプの流量は20~200ml/minの範囲で使用できる。

またクロマト管は、内径53, 5mm, 長さ1,200mmでその材質はSUS32である。耐圧強度は常用300kg/cm²で、フランジのシールは、バイトン、テフロン[®]のOリングを用いて二重シールを行ない溶媒のもれなどを防いだ。また使用中に充てん剤の体積が変化し分離能を著しく妨げることが分かったので、カラムの上部に工夫を加え、充てん剤が最もよい状態で使用できるように

* 東京大学生産技術研究所 第4部

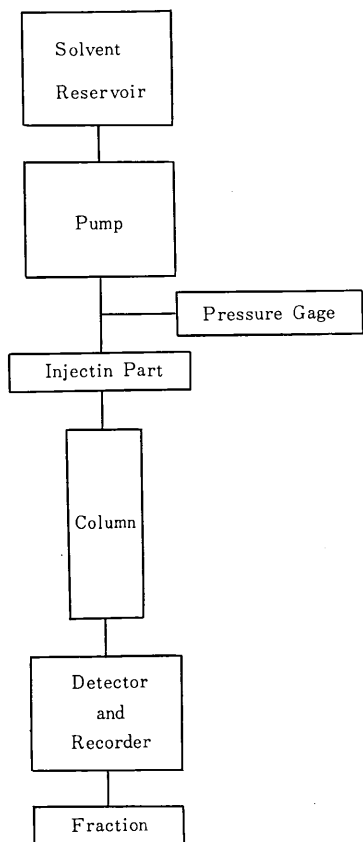


Fig. 1 Block diagram of high performance HLC

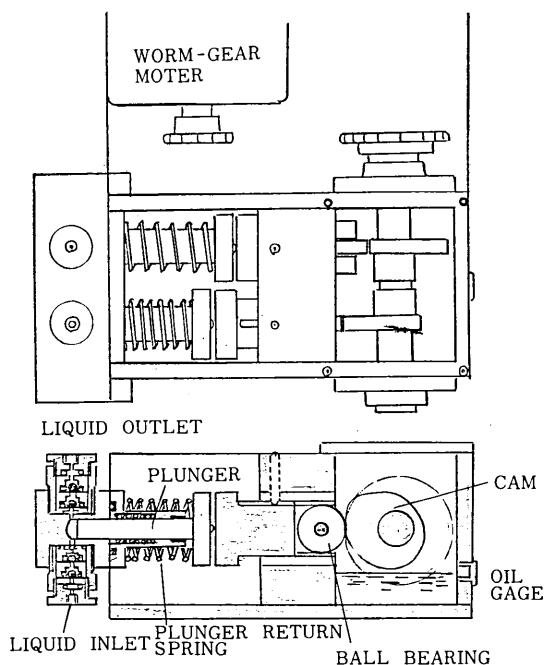


Fig. 2 Diagram of pump

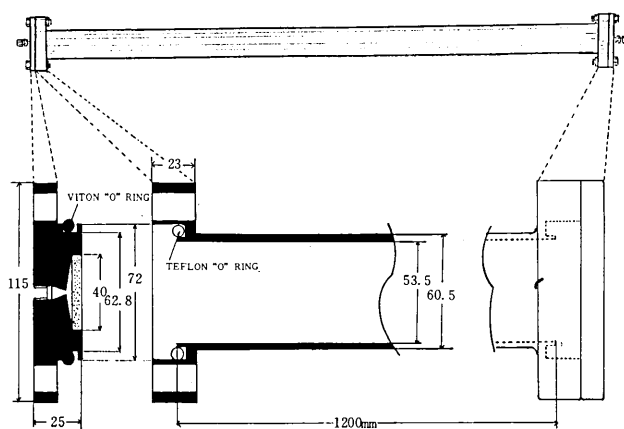


Fig. 3 Design of stainless steel column

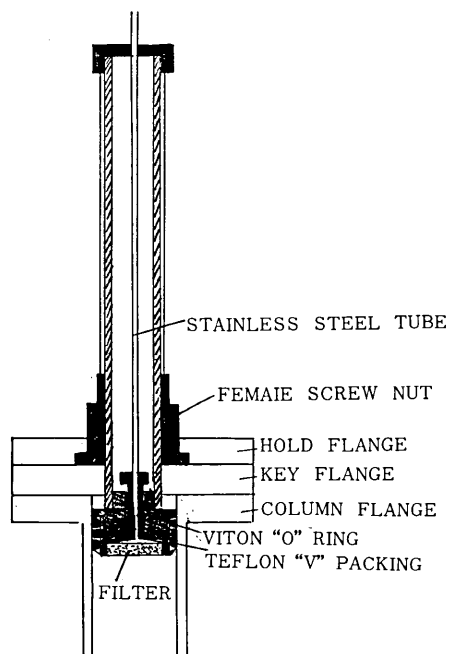


Fig. 4 Diagram of column fitting

可動栓を設けた。これを図3、図4に示す。またカラムの出口の構造は、分離能に大きい影響を与えることが知られているので、いくつかの構造を異にするものを試作した。最終的には図5に示す構造のものが予備実

験でよい結果を与えることが分った。

次に、一般に高速液体クロマトグラフィーに用いら

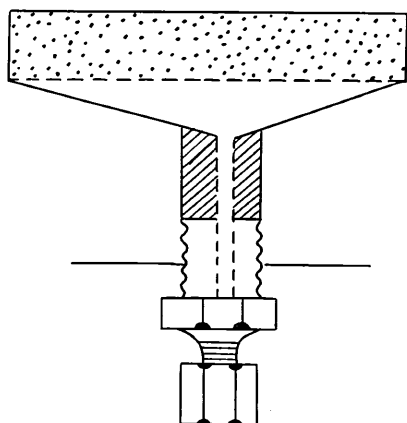


Fig. 5 Column and fitting

れている検出器は高感度である。高濃度の溶液を分取するための検出器は現在市販されていない。そこで光学パスを異にする検出セルを自由に交換できる UVIGRAPH LC-1 (ヤトロン社製) に分取用セル (5φ×3mm) を試作し取り付け付けた。検出光の波長として波長254mmの光源を使用し、試料濃度が、さらに大きい溶出液の検出では光学パス1mmのセルを用いた。さらに濃度が大きで検出困難のさいには360mmの光源を検出に用いた。

b) カラムの調製とその操作

高速液体クロマトグラフィーでは分離カラムを調製する場合、カラムへの充てん剤の充てん性が、カラムのクロマトグラフにおける分離能を決定する重要な因子であることはよく知られている。また分析用の小型カラムでは専用の充てん用の付属装置が種々考案されているが、これと同じタイプの装置は大型カラムには実用化できない。したがって本実験では、充てん剤と溶剤のスラリーを予じめ作り、これを少量ずつクロマト管に流し入れて自然沈降により充てんし、その後、可動カラム栓と充てん剤の間を10mm位あけて、ポンプの最大流量(200ml/min)で約50時間流した後、可動カラム栓を固定した。この操作を行なわないと、カラムの下部と上部のみが充てんされ中間部が充てん不十分になるため、カラムの分離能は著しく低下する。

サンプルの注入は、ポンプとカラムの間に市販のセプタム注入器を配管し5mlのガラス製注射器を用いて行なった。注入時にはポンプを停止した。また定量的にサンプルを注入する目的で市販の三連四方コックを使用した。系が高圧になるため使用できなかった。ポンプの吐出口の圧力は流速100ml/minで50kg/cm²であった。この点は今後の検討が必要と考えている。

なお実験に使用した充てん剤は、スチレン-ジビニルベンゼン系の粒径30~50μmのポーラスポリマー(日立ゲル3019)であり、使用した試薬はすべて1級品である。

3. 結果

まず試作したカラムを用いて分離分析を行なう場合に必要である操作条件を知るために以下の実験を行なった。すなわち分離能などの諸性質を明らかにする目的で、流速-理論段の高さ、流速-分離能および試料の添加量と理論段の高さの関係を求めた。その結果を図6~図8に示す。

図6に流速と理論段の高さの関係を示した。試料に1gのベンジルアルコールを、溶離液にメタノールを用いた際の結果である。実験の結果、カラムの線速度0.07

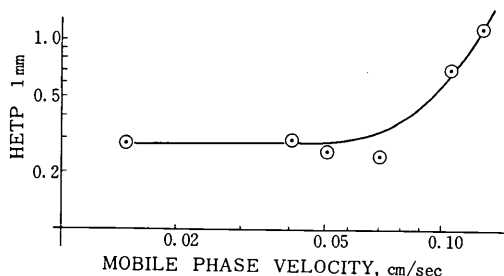


Fig. 6 Effects of mobile phase velocity on HETP column, 50.3mm i.d×1,200mm, with 30-50μm HITACHI 3019; mobile phase, methyl alcohol; sample, 1g benzyl alcohol

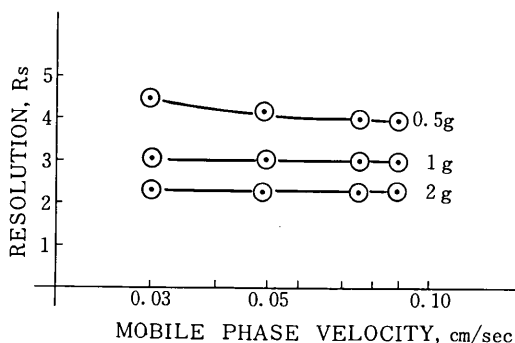


Fig. 7 Effects of mobile phase velocity on resolution, Rs with respective weights of total sample, 0.5g, 1g and 2g: sample, benzyl alcohol and benzene.

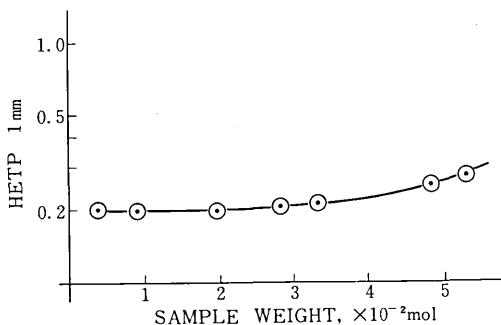


Fig. 8 Effects of the weight of total sample on HETP: pressure, 48kg/cm^2 ; mobile phase velocity, 0.07cm/sec ; sample, benzyl alcohol

cm/sec (102m l/min)までは理論段の高さの値は変わらないが、これ以上では理論段の高さの値は急激に増加した。

図7は試料にベンジルアルコールとベンゼンを用い

て流速と分離能の関係を求めたものである。両者の混合物を $500\text{mg} \sim 2\text{g}$ まで添加した際の結果である。この範囲では、流速の変化に比べ添加量の方が大きい影響を持つことが分った。

図8には流速 100m l/min における試料の添加量と理論段の高さの関係を示した。試料にはベンジルアルコールを希釈しないでそのまま用いた。その結果、このカラムでは約 5g 程度まで理論段の高さの値が変化することなく使用でき、溶出時間は 30min であった。このときの理論段数はほぼ $5,000$ 段に達した。この段数は、一段の分析用の高速流体クロマトグラフィーのカラムのそれに比べると著しく優れている。

以上、高分離能を持つ分取型的高速液体クロマトグラフィーの装置が試作できた。

廃液中などに含まれる微量成分の分離ばかりでなく、有機混合物の分離に有効な手段に用いられることが期待される。

最後に本実験のためクロマト管、ポンプなどの試作、改良製作にお手数をわずらした梅谷鉄工所に感謝の意を表します。

(1967年2月4日受理)

