

# ポーラスポリマーを用いる小形カラムの 液体クロマトグラフィー

High Performance Liquid Chromatography on the Small Column Packed with Porous Polymer

高井 信治\*・山 辺 武 郎\*  
Nobuharu TAKAI and Takeo YAMABE

## 1. はじめに

高速液体クロマトグラフィーは、天然物化合物、生体関連物質の分離や、生体内における代謝および工業的には合成過程における物質の反応機構を知る手段として、きわめて有効なことがよく知られている。

また最近では、これらの結果を基にして、高速分取を行うことにたいする興味も新たにでてきた。

このうち、熱および光などのエネルギーによる合成や分解および不均質系触媒の反応機構などを明らかにする目的で使用しようとする時、反応部分はパルスリアクターまたはマイクロリアクターなどと直結するのでこのことと考えると、できるだけ短時間に分離分析の操作が完了することが望ましい。

現在、比較的短時間に分離分析が行なえる高速液体クロマトグラフィー用の小型カラムとしては、ゾルバック (Du Pont)、マイクロパック (Varian) などが知られているが、これらはすべてあらかじめメーカー側でカラムの充てんが行なわれており長時間使用したり不純物の多いサンプルなどを使用してカラムの性能が劣化した場合、実験室で充てん剤をつめかえて再生することがむづかしい。

そこでこのような高性能カラムを実験室で容易に得る目的で、現在市販されているポーラスポリマーを用いて小型カラムを試作し、その性能について検討を行った。

## 2. 実 験

この実験に使用したポーラスポリマーは Hitachi Gel 3011 で、この基体、孔径分布などは、Hitachi Gel 3010 と同じように調整されており、異なるところは粒子径の

みが 10~15  $\mu\text{m}$  に篩い分けられているといわれているものである。

これを従来のポーラスポリマーと全く同様の方法で (Hitachi Gel 3010 については日立 634 型の取扱説明書に記載されている) 3.0  $\phi$   $\times$  250 mm のガラスカラムに充てんした。充てん時間は約 1 時間である。

実験に使用した液体クロマトグラフィーの装置は日立 634 型で、ガラスカラムの上部にセプタム注入器をとり付けた以外はそのまま使用した。また使用した試料及び溶離液はすべて試薬 1 級をそのまま用いた。

試料添加はすべて上部のセプタムからマイクロシリンジを用いて行った。

## 3. 結果及び考察

Hitachi Gel 3011 を用いて液体クロマトグラフィーの実験を行なった結果、きわめて有用な知見を得ることができた。すなわち 3.0  $\phi$   $\times$  250 mm のカラムで Hitachi Gel 3011 を用いて得られたクロマトグラムと 2.1  $\phi$   $\times$  500 mm のカラムで Hitachi Gel 3010 を用いて得られたクロマトグラムは溶離挙動がきわめてよく似ており、この結果 Hitachi Gel 3010 のクロマトグラフィーの溶離液はすべて Hitachi Gel 3011 に適用できる可能性が得られた。

さらにカラム容積が小さいので  $V_R$  (溶離容積) が小さく、したがって線速度が同一ならば  $t_R$  (溶離時間) も当然早い。その上カラムが短いので圧損失が小さくクロマトグラフの操作時に、比較的低压で線速度を大きくすることができた。

まず、ベンジルアルコール、ベンゼン、ナフタリン、

Table 1 Elution behaviours of aromatic compounds on Porons Polymer

Flow rate (ml/min)	Benzyl alcohol			Benzene			Naphthalene			Anthracene		
	$t_R$ (min)	$N$	$H$ (mm)	$t_R$	$N$	$H$	$t_R$	$N$	$H$	$t_R$	$N$	$H$
0.5	2.86	545	0.46	4.06	784	0.32	7.95	618	0.41	23.4	487	0.51
1.0	1.55	460	0.54	2.23	614	0.41	4.46	462	0.54	13.2	420	0.59
1.5	1.06	371	0.67	1.52	468	0.53	3.02	392	0.64	8.96	338	0.74
2.0	0.80	381	0.66	1.18	432	0.58	2.32	375	0.67	6.78	282	0.89

$N$ : Number of theoretical plates

$H$ : Height equivalent to a theoretical plate

\* 東京大学生産技術研究所 第 4 部

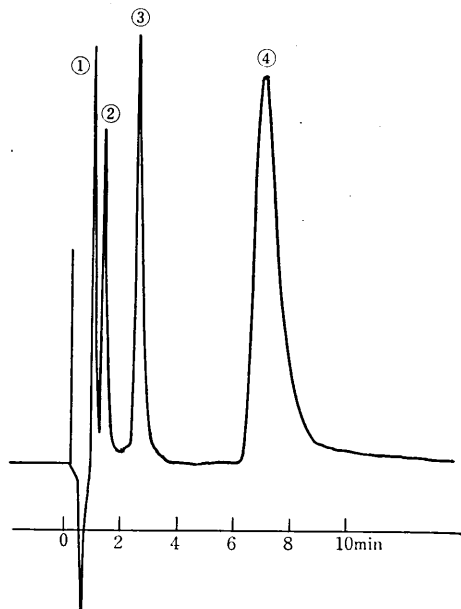


Fig. 1 Separation of Aromatic Compounds by using Hitachi Gel-3011

Sample: ①Benzyl alcohol	Column: Hitachi-Gel 3011
②Benzene	Length: 25cm Diam: 3 mm
③Naphtalene	Temperature: 室温
④Anthracene	Eluent: CH <sub>3</sub> OH
Detector: 254 nm Range=0.16	Flow Rate: 2.0ml/min
Chart Speed: 5 mm/min	Pressure: 51 kg/cm <sup>2</sup>

アントラセンを試料に、溶離液にメタノールを用いて流速を 0.5 ml/hr~2.0 ml/hr に変えた時の結果を表 1 に示す。

この結果から、流速が小さい時には理論段数 ( $N$ ) が大きく、流速が大きくなるに従って  $N$  の値は小さくなる傾向が得られた。また流速と  $t_R$  (溶離時間) との関係は流速が大きくなるに従って  $t_R$  が小さくなるが後に溶出してくる物質程その影響が大きい。そして得られたクロマトグラムはきわめてよい分離を示した。図 1 にクロマトグラムの 1 例を示す。ベンジルアルコール、ベンゼン、ナフタリン、アントラセンがこの順序に約 8 分ではほとんど完全分離されることが判る。

つぎにこのカラムの分離ができる最大量を見出す目的でベンゼンを試料として、カラムの HETP (理論段当りの高さ、 $H$  と略す) とカラムへの試料の添加量 (モル) との関係を検討した。その結果を図 2 に示す。

図 2 からこのカラム ( $3\phi \times 200$  mm) はベンゼンについてはおよそ  $25 \times 10^{-8}$  モルまでは  $H$  の値の差がきわめて小さいが、これ以上では  $H$  の値はほぼ添加量に比例して大きくなることがわかる。

次に応用例として図 3 にフタル酸エステルの分離例を示す。

図 3 で DEP はジエチルフタレート、DBP はジブチルフタレート、DOP はジオクチルフタレートであり、5 分以内に完全分離されることがわかる。

図 4 には異性体の分離として、O-ニトロフェノールと P-ニトロフェノールの例を示す。この例も 3 分以内に完全分離することができた。

しかしこれらの結果はメタノールを溶離液に使用した時の結果で、溶離液が変化すればこの値は当然変わり、また物質の種類によっても当然変わる。

以上の結果から Hitachi Gel 3011 は小形カラムの充てん剤として使用できる可能性があると考えられる。そしてこの充てん剤は、従来から行われている方法で実験室で充てんできることが見出された。しかも充てん方法を今後さらに工夫することにより、さらに性能のよいカラムを得られることが予想される。

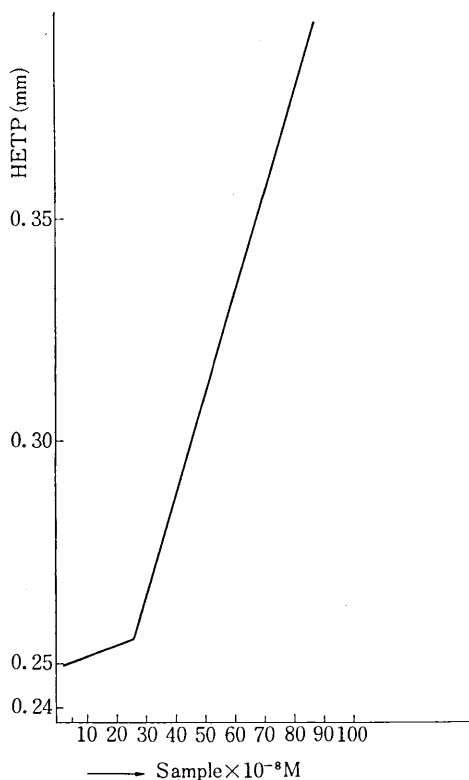
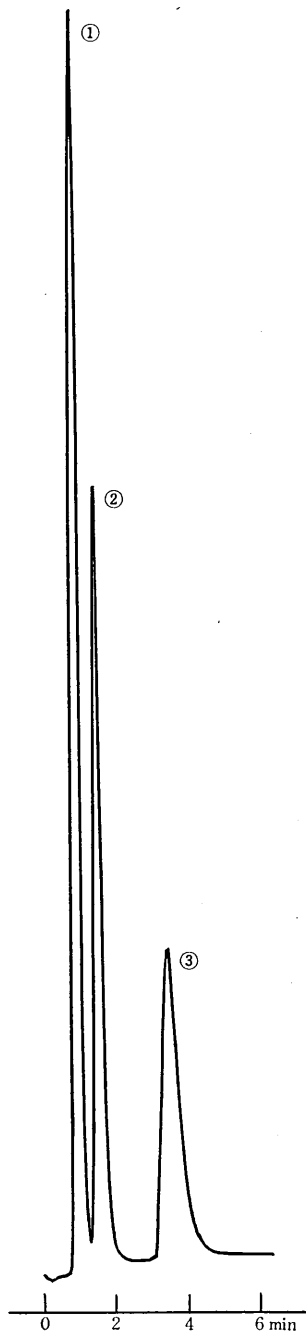


Fig. 2 Relationship between Sample Size and HETP in Benzene.

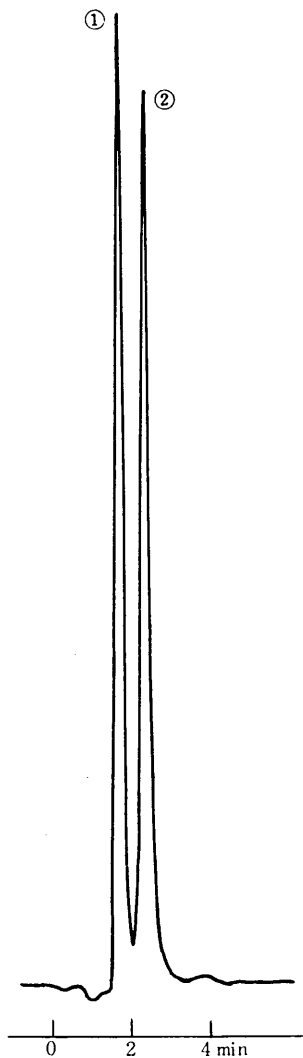
Polymer: Hitachi Gel-3011

(1974年6月12日受理)



Sample: ①DEP                      Length: 25 cm Diam: 3 mm  
 ②DBP                              Temperature: 室温  
 ③DOP                              Eluent: CH<sub>3</sub>OH  
 Detector: 254 nm                  Flow Rate: 2 ml/min  
 Chart Speed: 5 mm/min          Pressure: 51 kg/cm<sup>2</sup>  
 Column: Hitachi-Gel 3011

Fig. 3 Separation of Phthalic Acid Ester by using Hitach Gel-3011



Sample: ①D-nitrophenol              Length: 25 cm Diam: 3 mm  
 ②O-nitrophenol                      Temperature: 室温  
 Detector: 254 nm                      Eluent: CH<sub>3</sub>OH  
 Chart speed: 5 mm/min              Flow Rate: 2 ml/min  
 Column: Hitachi-Gel 3011              Pressure: 23 kg/cm<sup>2</sup>

Fig. 4 Separation of nitrophenol by using Hitachi Gel-3011