

高温高圧水を用いた反応選択的分離分析システムの開発

プロジェクト代表者：渋川雅美（理工学研究科・教授）

1 緒言

高温高圧下（100-200℃，数MPa）の水を分離溶媒，反応溶媒として利用することによって従来にはない環境適合型分離分析システムの実現が可能である。超高温水クロマトグラフィー(SWC)は，この高温高圧水を移動相とするクロマトグラフィーで，有機溶媒を全く使用せずに水だけを移動相として疎水性有機化合物を分離する逆相 HPLC の可能性が開かれた。しかし，これまでのところ，SWC の特長としては単に移動相に添加される有機溶媒を低減する効果と移動相-固定相間の物質移動速度が高まることによる高分離能化の可能性が示されているのみで，従来の HPLC に優る分離選択性，高分離能を獲得できていない。一方研究代表者は，これまで HPLC 分離場に化学反応を導入して分離選択性を向上させる研究を行い，酸化還元反応を接触的に加速する多孔質グラファイト(PGC)をカラム充填剤として用いることにより，酸化還元反応を二次的平衡(SCE)として HPLC に組み込んだオンカラム酸化還元化学種変換 HPLC を創案した。本研究では，高温高圧水を用いる環境適合型反応選択的高速分離分析システムの開発を目指して，特に酸化還元反応を対象にし，電導性固定相を作用電極として外部から電場を印加することにより酸化還元平衡を制御するオンカラム電気化学的酸化還元化学種変換 HPLC システムの構築を行った。一方，このシステムの SWC への適用と分離の高速化を目的として，イオン交換 SWC システムの構築を行い，SWC の操作条件を検討した。前者については渋川が，また後者については研究分担者である鎗田が主に担当した。

2 実験

オンカラム電気化学的酸化還元化学種変換 HPLC カラムは，多孔性ステンレス管（Mott Metallurgical）に Nafion 陽イオン交換膜チューブ（Perma Pure）を挿入したものに多孔質グラファイト(PGC)粒子（3.5 μm BTR carbon, Biotech Research）を充填して作製した。多孔質ステンレス管は対極として機能し，PGC は HPLC の固定相および作用電極として機能する。参照電極は Ag/AgCl 電極（飽和 NaCl）を用い，多孔質ステンレス管を浸漬した電解質溶液内に設置した。カラムへの外部電位の印加は，ポテンシostat（Model HA-151, 北斗電工）により -200~+400 mV の範囲で行った。検出は，フォトダイオードアレイ検出器（Model 996, Waters）を用いて行った。

イオン交換 SWC カラムは，陰イオン交換樹脂および陽イオン交換樹脂として三菱化学製の MCI GEL CDR10 と MCI GEL CK10S を選び，それぞれをステンレス管に充填して作製した。カラムと溶離液の温度はガスクロマトグラフィー用のオープンを用いて 30 °C から 200 °C の間で設定した。カラムと検出器の間に内径 0.1 mm のステンレス管を設置して 2-6MPa の背圧をかけ，高温下でも水が液体状態を保つようにした。

3 結果と考察

カテコール，レゾルシノール，ヒドロキノン，ドーパ，L-チロシンをモデル化合物として，印加電位 E_{app} に対するピーク面積および保持係数の依存性を検討した。得られた結果を Fig. 1 に示す。L-チロシンを除く化合物は，それぞれの化合物の酸化還元電位にほぼ対応する電位でピーク面積および保持係数に変化が生じた。これは，それぞれ対応する電位で化学種が変換し，それにとまって保持係数が変化したことを示している。これは，溶出前後の吸収スペクトルの変化からも確認された。L-チロシンは測定した電位範囲内では化学種の変換が生じないため，ピーク面積に変化は見られない。さらに，ヒドロキ

ノンは $E_{app} = 25-125$ mV においてヒドロキノンとその酸化体である *p*-ベンゾキノンの平衡混合物として、またカテコールは、 $E_{app} = 150-200$ mV においてカテコールとその酸化体である *o*-ベンゾキノンの平衡混合物としてカラム内を移動していることが明らかとなった。酸化還元平衡がカラム内のどの位置でも成立していると仮定できるならば、SCE として機能しているはずであり、その保持係数は(1)式で与えられる。

$$k = \alpha_{Ox} k_{Ox} + \alpha_{Red} k_{Red} \quad (1)$$

ここで、 k_{Ox} と k_{red} および α_{Ox} と α_{Red} はそれぞれ酸化体と還元体の保持係数と化学量論的

分率を示している。しかし、もしカラム内の特定の位置で酸化または還元されていたり、電位が不均一でカラムの上部と下部とで酸化還元平衡が異なっていたりするようであれば、 α 値はカラム内で異なる値をとることになり、その場合保持係数から求められる α 値は、カラム内で存在していた化合物の平均化学量論的分率に対応する。一方、カラムから溶出した溶質ピークの面積 A は(2)式で与えられる。

$$A = \alpha_{Ox}^E A_{Ox} + \alpha_{Red}^E A_{Red} \quad (2)$$

ここで、 A_{Ox} と A_{red} および α_{Ox}^E と α_{Red}^E はそれぞれ酸化体と還元体のピーク面積と溶出バンド内でのそれぞれの分率を示す。したがって、保持係数から求めた α 値とピーク面積から求めた α^E 値が等しければ、分析対象化合物はカラム内を常に一定の化学量論比を保った平衡混合物として溶出していることを示すことになる。各種印加電位におけるヒドロキノンとカテコールの α 値と α^E 値を算出して比較したところ、両者はそれぞれ互いに良く一致していることがわかった。このことから、ヒドロキノンとカテコールはカラム内をそれぞれの還元体と酸化体の平衡混合物として移動しており、印加電位により酸化還元反応を SCE として制御できることが明らかとなった。また、このことは同時にカラムに電位が均一に印加されていることを示している。

本システムを用いて 5 種モデル化合物の混合試料の分離を試みた。印加電位 0 mV のときには、相互に分離することは困難であったが、+300 mV の電位を印加すると、ドーパ、ヒドロキノン、カテコールの酸化反応を利用して 5 つの化合物をすべて分離できることが明らかになった。

一方、SWC システムについてイオン交換クロマトグラフィーを対象として基礎検討を行った結果、電解質濃度が 0.1 M 以上の超高温水を移動相として用いるとステンレス配管が数週間で腐食すること、対イオンの種類によるが、高温下ではポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体樹脂上のイオン交換基が脱離することなどの問題点が明らかになった。前者の問題は Hastelloy 管を用いることによって克服できたが、カラム充填剤の耐熱性は大きな問題になりうる。電気化学的酸化還元化学種変換 HPLC に用いた PGC 充填剤は比較的耐熱性が高いといわれているが、今後はこれらの基礎的条件を検討して、高温高圧水を移動相とする酸化還元化学種変換 HPLC の実現へと研究を展開する。

4 発表論文

- (1) K. Saitoh, K. Koichi, F. Yabiku, Y. Noda, M. D. Porter, M. Shibukawa, *J. Chromatogr. A*, **1180**, 66-72 (2008).
- (2) K. Saitoh, S. Naitoh, M. Endo, M. Washiya, M. Shibukawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **80**(5), 951956 (2007).

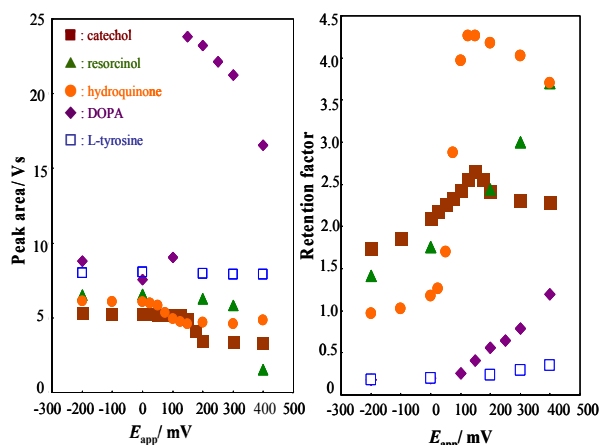


Fig.1 Dependence of peak areas and retention factors of catechol, resorcinol, hydroquinone, DOPA and L-tyrosine on applied potential.