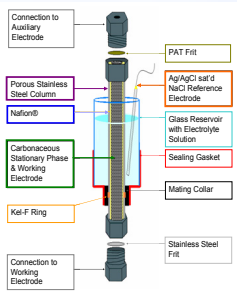


# 高温高圧水を用いた反応選択的分離分析システムの開発

## 背景・目的

高温高圧下(100-200°C, 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の化学平衡(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を開発した。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。

## オンカラム電気化学的酸化還元化学種変換HPLCの開発



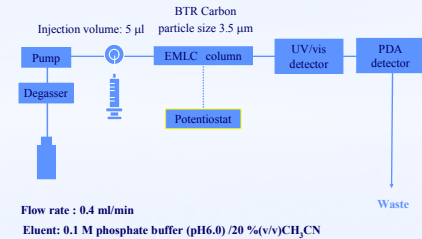
M. D. Porter et al., *Analyst*, 126, 2001, 1841

Names, chemical structures, acid dissociations ( $pK_a$ ) and hydrophobicity parameter ( $\log P$ ) of model compounds.

Analyte	Structure	$pK_a$	$\log P$
catechol		9.26; 11.75	1.00 <sup>a</sup>
resorcinol		9.30; 11.06	0.80 <sup>a</sup>
hydroquinone		9.96; 10.85	0.59 <sup>a</sup>
L-3-(3,4-dihydroxyphenyl)alanine (DOPA)		2.3; 8.7; 13.4	-2.74 <sup>b</sup>
L-tyrosine		2.2; 9.2; 10.46	-2.26 <sup>b</sup>

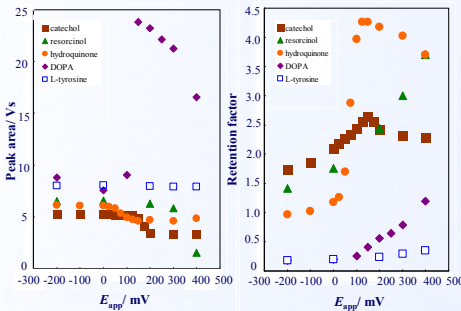
<sup>a</sup> J. Knox, P. Ross, *Adv. Chromatogr.*, 37, 1997, 73

<sup>b</sup> D. Thiebaut, J. Vial, M. Michel, M.-C. Hennion and T. Greibrokk, *J. Chromatogr. A*, 1122, 2006, 97

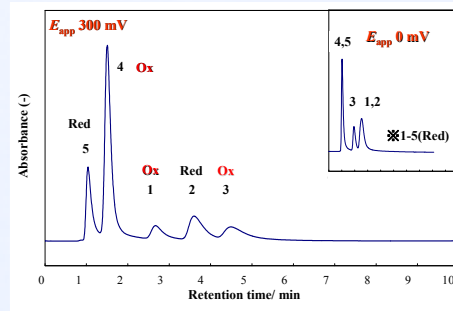


Schematic diagram of the EMLC system.

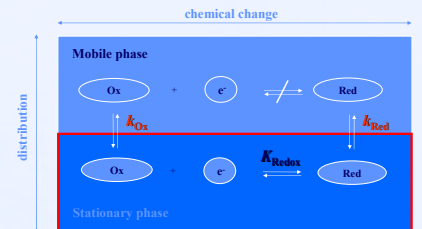
## Electrochemically Modulated Liquid Chromatography (EMLC) column



Dependence of peak area and retention factor of catechol, resorcinol, hydroquinone, DOPA and L-tyrosine on applied potential.

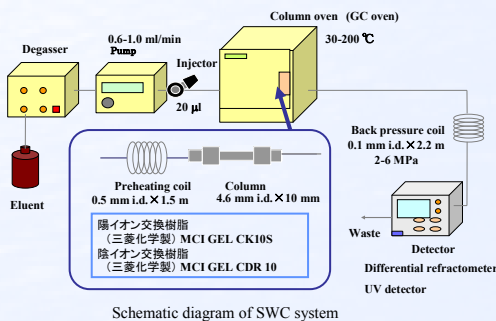


Separation of mixture of catechol(1), resorcinol(2), hydroquinone(3), DOPA(4) and L-tyrosine(5) by EMLC. Detection wavelength; 220 nm.



Schematic representation for redox reaction as secondary chemical equilibrium

## 超高温水イオン交換HPLCの開発



Schematic diagram of SWC system

## イオン交換反応

$$Z_A E^{z_A} + Z_E A^{z_A} = Z_E A^{z_A} + Z_A E^{z_E}$$

### 選択係数

$$K_A^E = \frac{[A]^{z_A}}{[E]^{z_A}} \frac{[E]^{z_E}}{[A]^{z_E}}$$

### 試料イオンの分配係数

$$K_D(A) = \frac{[A]}{[A]} = \frac{V_R - V_m}{V_s}$$

### 溶離イオンの分配係数

$$K_D(E) = \frac{[E]}{[E]} = \frac{Q}{V_s[E]}$$

### 固定相体積

$$V_s = V_R - V_m$$

- [E] 移動相中の溶離イオンの濃度
- [A] 移動相中の試料イオンの濃度
- [E] 交換体相中の溶離イオンの濃度
- [A] 交換体相中の試料イオンの濃度
- z<sub>E</sub> 溶離イオンの電荷
- z<sub>A</sub> 試料イオンの電荷
- Q カラムあたりのイオン交換容量
- V<sub>s</sub> 固定相体積
- V<sub>r</sub> カラム体積
- V<sub>m</sub> 移動相体積

## Gibbs-Donnanの式

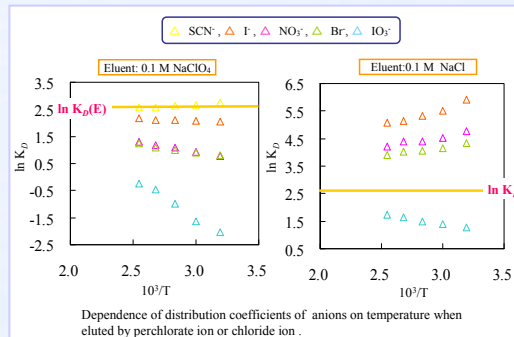
$$\ln K_E^A = \frac{\Pi}{RT} (z_A [v_E^* - z_E [v_A^*]) + \ln \frac{\gamma_A^{z_A} \gamma_E^{z_E}}{\gamma_A^{z_E} \gamma_E^{z_A}})$$

If  $\gamma_A = \gamma_E$  and  $\bar{\gamma}_A = \bar{\gamma}_E$

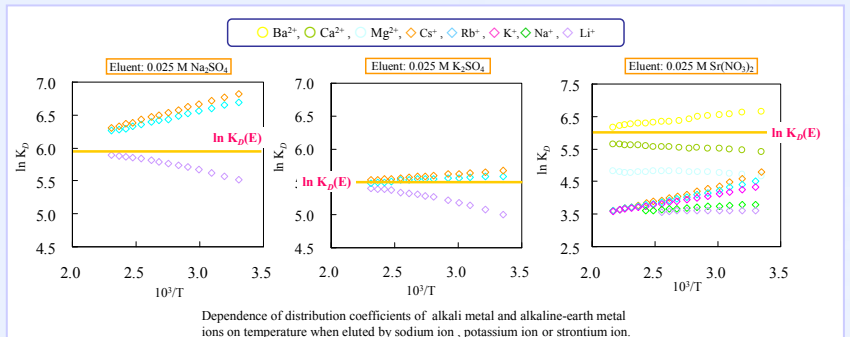
$$RT \ln K_E^A = \Pi (z_A [v_E^* - z_E [v_A^*]) \quad \text{Gregorの古典的イオン交換モデル}$$

$$\ln K_D(A) = \ln K_D(E) - \ln K_E^A = \frac{\Pi}{RT} (v_E^* - v_A^*)$$

v 水和イオンの部分モル体積  $\Pi$  膨潤圧  $\gamma$  活量係数



Dependence of distribution coefficients of anions on temperature when eluted by perchlorate ion or chloride ion.



Dependence of distribution coefficients of alkali metal and alkaline-earth metal ions on temperature when eluted by sodium ion, potassium ion or strontium ion.

## まとめと今後の展望

酸化還元反応を対象にして、電導性固定相(PGC粒子)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酸化還元化学種変換HPLCシステムの構築を行った。ヒドロキノンとカテコールの保持体積およびピーク面積と印加電位の関係から、可逆的な酸化還元反応を示す物質については酸化還元反応を二次的の化学平衡としてHPLCに導入できること、およびカラムには電位が均一に印加されていることを明らかにした。これらの結果に基づいて、印加電位を制御することにより、*m*、*p*-ジヒドロキシベンゼン、チロシン、ドーパの相互分離を達成した。一方、高温高圧水を移動相とするクロマトグラフィー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。その結果、無機イオンの保持に及ぼす温度効果はイオンの水和構造の変化によって定性的に説明できた。これにより、これまで不明であった無機イオンの保持の温度依存性が溶離電解質によって異なる現象を説明することが可能になった。今後は高温高圧水を移動相とする酸化還元化学種変換HPLCへと研究の展開をはかる。