

## 電解セルを用いたオンライン酸化還元化学種変換 HPLC の選択的分離

ーベンゼンジオール類の電解酸化と保持挙動ー

日大生産工(院) ○辻本 洋 日大生産工 齊藤 和憲, 中釜 達朗  
埼玉大院理工 渋谷 雅美

### 1. 緒言

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は優れた分離分析法であり、幅広い分野で用いられている。しかし、多成分混合試料中の微量物質の正確な分離・定量は容易ではなく、新しい分離選択性をもつシステムの開発が常に求められている。この要求に答えるため Shibukawa らは、オンライン酸化還元化学種変換 HPLC を開発した<sup>1-3)</sup>。この方法は、二つの分離カラムの間に酸化還元化学種変換ユニットを組み込み、ユニット内で目的物質を化学種変換させることで、前段のカラムでは注入された状態で移動し、後段のカラムでは、その酸化体および還元体として移動するため、それぞれの分離カラムで移動速度が変化し、高選択的分離を可能とする。これまでに、合金中の微量コバルトや食塩中の微量鉄の選択的分離・定量に成功した<sup>2,3)</sup>。しかし、有機化合物での報告例はない。そこで、本研究ではベンゼンジオール類をモデル化合物とし、オンライン酸化還元化学種変換 HPLC の選択的分離における基礎研究として、それらの酸化還元挙動および保持挙動について検討を行った。

### 2. 実験

本実験で用いたオンライン酸化還元化学種変換 HPLC の概略図を Fig.1 に示す。酸化還元化学種変換ユニットとして、電解セル(ESA Model 5010 Analytical Cell)を使用した。分離カラムは化学物質評価研究機構製 L-Column2 ODS(5  $\mu$ m, 4.6  $\times$  50 mm)を使用した。試料には、ヒドロキノン(HQ)、カテコール(CC)、レゾルシノール(RC)および *p*-ベンゾキノン(*p*-BQ)を用いた。試料は溶離液で溶解し、濃度 0.1 mM に調整し LC 測定に供した。溶離液には 0.1 M リン酸緩衝溶液 (pH 5-7)/5%(w/v)アセトニトリルを用い、流量は 0.5 mL/min とした。カラム温度は 30°C に設定し、検出器はフォトダイオードアレイ検出器(PDA)を用い、200-360 nm の波長で測定した。

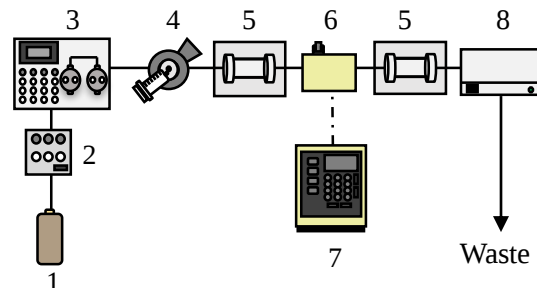


Fig.1 Schematic diagram of the on-line redox derivatization HPLC system equipped with electrolytic cell.

1) Eluent: 0.1 M Phosphate buffer (pH 5-7)/5% (w/v)

Acetonitrile; 2) On-Line degasser; 3) HPLC Pump; Flow rate: 0.5 mL/min; 4) Injector: Injection volume: 20  $\mu$ L; 5) Column (5  $\mu$ m, 4.6 mm  $\times$  50 mm) 6) Electrolytic cell; 7) Potentiostat; 8) PDA detector: Wavelength, 200-360 nm

### 3. 結果および考察

#### 3.1 ベンゼンジオール類の保持挙動

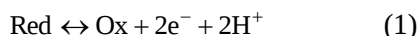
Fig.1 に示したオンライン酸化還元化学種変換 HPLC から前段のカラムを取り外したシステムを用い、HQ、CC、RC および *p*-BQ の各印加電位における保持挙動について検討した。なお、溶離液は pH 6.0 のものを用いた。Fig.2 は各印加電位における HQ のクロマトグラムを示したものである。HQ は -400 mV の電位を印加したときには、HQ のピークしか見られないが、-100 mV では HQ の一部が酸化され、HQ とは異なる溶出位置に *p*-BQ のピークが生じている。さらに +100 mV の電位を印加すると HQ のピークは消失し、*p*-BQ のピークのみ見られる。これは、HQ が完全に酸化され *p*-BQ に変換されたことを示している。同様に CC、*p*-BQ も所定の電位を印加することで、その酸化体および還元体である *o*-ベンゾキノンや HQ にそれぞれ変換され、溶出位置が変化した。一方、RC は電位を印加することで、二つの異なる化学種へ変換された。RC は *m* 位にヒドロキシル基を持つ物質であり、その酸化体は安定に存在することができず、他の化学種に変換されたと推測される。

Study on Separation Selectivity by On-Line Redox Derivatization HPLC Using Electrolytic cell  
- Retention Behavior and Electrolytic Oxidation of Benzenediols -

Hiroshi TSUJIMOTO, Kazunori SAITOH, Masami SHIBUKAWA and Tatsuro NAKAGAMA

### 3.2 ベンゼンジオール類の電解酸化におよぼす pH の影響

ベンゼンジオール類の酸化還元反応は式(1)のように反応にプロトンが関与しており, このような反応において, ネルンストの式から標準酸化還元電位( $E^0$ )が pH に依存することが示されている。



$$E_{\text{app}} = E^0 + \frac{RT}{Fz} \log \frac{[\text{Red}]}{[\text{Ox}][\text{H}^+]^2} \quad (2)$$

$$= E^0 - \frac{RT}{F} \text{pH} - \frac{RT}{Fz} \log \frac{[\text{Red}]}{[\text{Ox}]} \quad (3)$$

$E_{\text{app}}$  は印加電位,  $R$  は気体定数,  $T$  は絶対温度,  $z$  は反応に関連した電子数,  $F$  はファラデー定数である。そこで, 3.1 と同様のシステムを用い, HQ, CC, RC の電解酸化におよぼす pH の影響について検討した。Fig.3 は HQ の各印加電位とピーク面積の関係を示したものである。pH 7.0 での変換電位は -60 mV であったが, pH 6.0 では +20 mV, pH 5.0 では +50 mV と酸性条件では変換電位が正にシフトしており, ネルンストの式に基づく予想と一致した。また, CC も同様の傾向を示した。一方, 不可逆反応である RC は酸化されることで, 各 pH で異なる化学種に変換され, 酸性条件では化学種が減少する傾向が見られた。

### 3.3 オンライン酸化還元化学種変換 HPLC によるベンゼンジオール類の分離

Fig.1 に示したオンライン酸化還元化学種変換 HPLC システムを用いて, ベンゼンジオール類の分離を試みた。なお, 溶離液は pH 6.0 のものを用いた。Fig.4 はオンライン酸化還元化学種変換 HPLC に電解セルを組み込んだシステムおよび組み込んでいないシステムにおける, ベンゼンジオール類のクロマトグラムである。電解セルを組み込んでいないシステムでは, HQ, CC, RC は完全に分離されているが, RC と  $p$ -BQ が分離できていない。一方, 電解セルを組み込んだシステムでは, -400 mV の電位を印加することで, 前段のカラムでは  $p$ -BQ として移動するが, 中間の電解セルで HQ に変換され, 後段のカラムでは HQ として移動速度することで, RC から選択的に分離された。以上の結果より, オンライン酸化還元化学種変換 HPLC が有機化合物へ適用可能であることが示唆された。

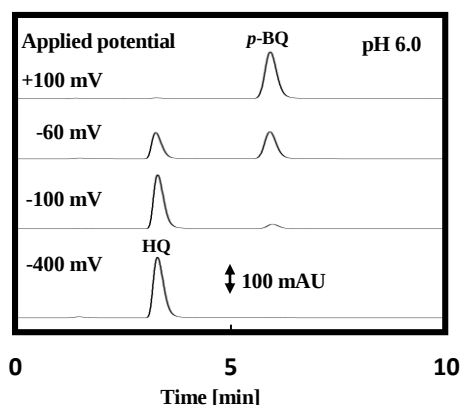


Fig.2 Chromatograms of hydroquinone obtained by the HPLC system equipped with an electrolytic cell.

Wavelength: 221 nm.

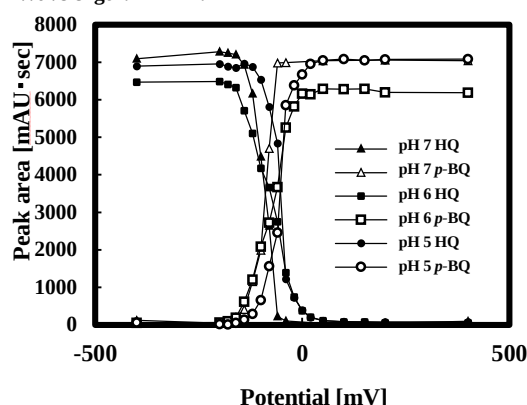


Fig.3 Effect of the pH of eluent on plots of peak area of hydroquinone and  $p$ -benzoquinone vs. applied potential.

Wavelength: 221 nm.

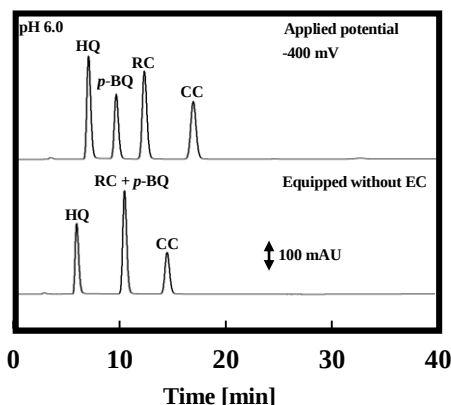


Fig.4 Chromatograms of benzendiols obtained by the on-line redox derivatization HPLC system.

Wavelength: 221 nm

## 4. 参考文献

- 1) K. Saitoh, M. Shibukawa *et al.*, *J. Sep. Sci.*, **2006**, 29, 49.
- 2) K. Saitoh, M. Shibukawa *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2007**, 80, 951.
- 3) K. Saitoh, M. Shibukawa *et al.*, *Anal. Sci.*, **2013**, 29, 715.