

多孔質グラファイトカラムによるヘキサシアノ鉄酸イオンの  
オンライン酸化還元化学種変換とその HPLC 分離への展開

日大生産工 (院)                      ○添田 直希  
日大生産工                      齊藤 和憲, 渋川 雅美

【緒言】

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は、分離・検出の科学技術として最も広く利用されている分析法の一つである。しかし、分析対象となる物質は増加の一途をたどり、多成分混合試料中の微量成分の分離および正確な定量が要求されている。それに応えるため、新たな分離機構をもつHPLCの開発が進められている。最近、多孔質グラファイトカーボン(PGC)が、酸化還元作用を示すことが明らかにされ、これを利用して一般に反応速度の小さい酸化還元反応をHPLCに導入したシステムが報告されている<sup>1,2,3)</sup>。

その一つとして、2つの分離カラムの間に酸化または還元を行う化学種変換ユニットを組み込んだオンライン酸化還元化学種変換HPLCが開発された<sup>3)</sup>。これは変換前後の化合物の移動速度を変化させて選択的分離を目指すものである。これまでに銅合金中の微量Coの定量に適用して、その分離選択性の高さを実証した<sup>3)</sup>。本研究はこのシステムの適用性の拡大を目的とするものである。化学種変換ユニットであるPGCの酸化還元電位から変換可能なモデル化合物として $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ と $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ を選択し、オンライン酸化還元化学種変換HPLCにおける化学種変換およびHPLC分離の条件の検討を行った。

【実験】

化学種変換ユニットとしては、BTR Carbon Column (10 mm×4.6 mm i.d., 3.5 μm) を用いた。

溶離液はpH 6に調整した0.1 Mリン酸緩衝溶液(pH 6.00) / 50 mM過塩素酸ナトリウムを用い、流量0.5 ml/min で通液した。試料は0.1 mMに調製した $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ と $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ を用い、サンプルループ体積は20 μlとした。分離カラムはL-column (100 mm×4.6 mm i.d., 5 μm)またはCapcell Pak C18 UG120(50 mm×4.6 mm i.d., 3 μm)にトリメチルステアリルアンモニウムクロリド溶液(TMSA)を通液し、陰イオン交換性を持たせたものを用いた。カラム温度は20°Cとし、検出はUV検出器を用いて210 nmで行った。化学種変換ユニットの還元処理は、10 mM亜硫酸ナトリウムを含む0.1 Mリン酸緩衝溶液(pH 6.00)を通液して行った。

【結果および考察】

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ と $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ を試料としてPGCカラムを組み込んだフローシステムに注入し、ピーク面積の比較を行った。その結果、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ のピーク面積に変化がみられた。これは $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ がPGCカラムを通過する際に一部 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ に還元されたためと考えた。そこで、PGCカラムの還元処理を行い同様の測定を行った。Fig.1にそれぞれ得られたピーク面積をPGCカラムを除いたフローシステムで得られたものと比較して示す。還元処理をしたPGCカラムを組み込んだフローシステムを通過すると、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ と $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ のピーク面積は等しくなることがわかる。これらのピークのスペクトルを調べたところ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ がPGCによ

---

**On-line redox derivatization by a porous graphite column and its application to enhancement of HPLC separation of hexacyanoferrate ion.**

**Naoki SOETA, Kazunori SAITOH and Masami SHIBUKAWA**

って $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ に還元されたことがわかった。一方、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ はPGCカラムを通過しても変化は見られなかった。このことより、PGCカラムを還元処理することにより $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ を $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ に還元できることが明らかになった。

次に、分離カラムの検討を行った。比較に用いたカラムはいずれも $\text{C}_{18}$ シリカを充填したものであるが、Capcell Pakはステンレス製クロマト管、L-columnはPEEK製クロマト管を用いている。これらに1 mM TMSAを一定量通液し陰イオン交換性を持たせたものを使用した。それぞれのカラムを用いて $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ および $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ を試料として注入し、得られたクロマトグラムをFig.2に示す。Capcell Pakに $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ を注入した際に得られたクロマトグラムは $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ と同じ保持時間に小さなピークが生じた。しかし、L-columnを用いたときには同様のピークはほとんど見られなかった。これはクロマト管に用いられているステンレス鋼中の金属が還元剤として働き $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ を一部 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ に還元してしまったためと考えられる。この結果からL-columnを分離カラムとして用いることとした。

次いで、分離カラムの前段に還元処理したPGCカラムを連結したシステムを用いて得られたクロマトグラムをFig.3に示す。 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ と $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ のいずれを注入しても保持時間およびピーク面積が等しいピークが得られた。これはPGCカラムにより $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ が $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ に還元されたためである。一方、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ に保持の変化は見られなかった。

以上の結果より $\text{Na}_2\text{SO}_3$ により処理したPGCを用いて $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ を $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ に還元できること、およびこれをHPLCに組み込むことによって、その保持時間を変化させ得ることが明らかになった。

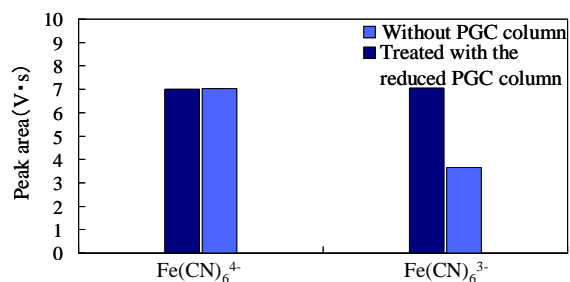


Fig.1 Effect of treatment by the reduced PGC column on the peak areas of  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  and  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ .

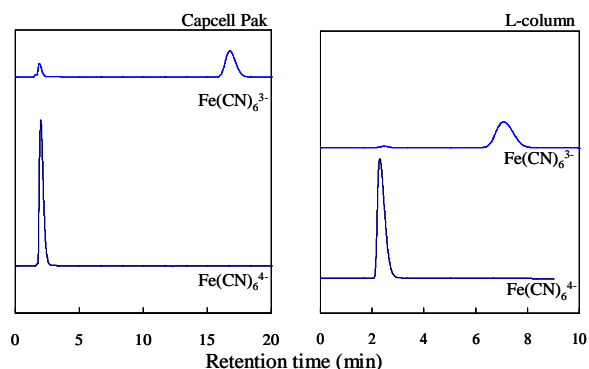


Fig.2 Chromatograms of  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  and  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  obtained using a Capcell Pak and a L-column.

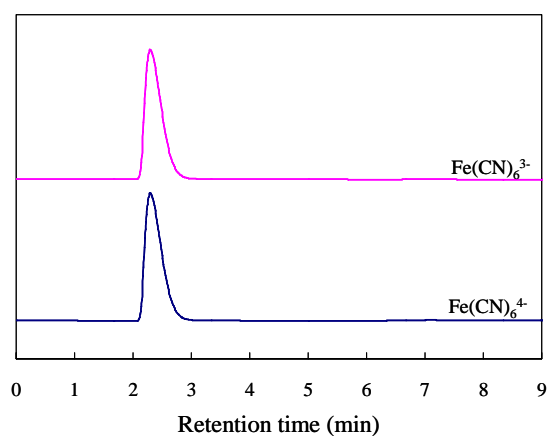


Fig.3 Chromatograms of  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  and  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  obtained using PGC-ODS column.

#### 【参考文献】

- 1) M. Shibukawa, A. Unno, T. Miura, A. Nagoya, K. Oguma, *Anal.Chem.*, 75 (2003) 2775
- 2) M. Shibukawa, A. Unno, Y. Oyashiki, T. Miura, A. Nagoya and K. Oguma, *Anal. Commun.*, 34 (1997) 397
- 3) K.Saitoh, N.Yamada, E.Ishikawa, H.Nakajima, M. Shibukawa, *J.Sep.Sci.*, 2005,in press.