

多孔質グラファイトカーボンを用いたオンライン酸化還元化学種変換 HPLC による ヘキサシアノ鉄酸イオンの分離

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¹⁻³⁾。

その一つとして、2つの分離カラムの中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³⁾。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³⁾。本研究はこの方法の適用の拡大を目的とし、モデル化合物として $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ と $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ を用いて、化学種変換および分離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 10 mM 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 に調整した $\text{Fe}(\text{II})$, $\text{Fe}(\text{III})$, $\text{Co}(\text{III})$, $\text{Ni}(\text{II})$,

$\text{Pd}(\text{II})$, $\text{Au}(\text{I})$, $\text{Pt}(\text{II})$ の金属シアン化物錯体を用い、サンプルループ体積は 20 μl とした。分離カラムは L-column (PEEK 製, 100 mm × 4.6 mm i.d., 5 μm) にトリメチルステアリルアンモニウムクロリド溶液を通液して、陰イオン交換性を持たせた。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は、10 mM 亜硫酸ナトリウムを含む 10 mM リン酸緩衝溶液(pH 6.00)-50 mM 過塩素酸ナトリウムを用いて還元処理を、500 μM 過酸化水素を含む 10 mM リン酸緩衝溶液(pH 6.00)-50 mM 過塩素酸ナトリウムを用いて酸化処理を行った。

【結果および考察】

PGC カラムの還元処理による金属シアン化物錯体のピーク面積の変化について検討を行った。還元処理をした PGC カラムを組み込んだフローシステムにより得られた各金属シアン化物錯体のピーク面積と PGC カラムを組み込んでいないフローシステムで得られたピーク面積を比較して Fig.1 に示す。還元処理した PGC カラムを通過すると、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ のピーク面積が $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ と等しくなっている。このことから $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ が $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ に還元されたとがわかった。

そこで、これを分離カラムの前段に連結したシステムを用いて測定を行ったところ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 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。オンライン酸化還元化学種変換 HPLC

Separation of Hexacyanoferrate Ion by On-Line Redox Derivatization HPLC Using a Porous Graphitic Carbon.

Naoki SOETA, Kazunori SAITOH and Masami SHIBUKAWA

システムにおいて，得られたクロマトグラムを Fig.2 に示す．比較のために化学種変換ユニットを除いたシステムでも同様の測定を行った．化学種変換ユニットを除いたシステムでは $\text{Ni}(\text{CN})_4^{2-}$ と同じ位置に溶出する $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ が，オンライン酸化還元化学種変換 HPLC では $\text{Co}(\text{CN})_6^{3-}$ の前に溶出した．これは前段のカラムでは $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ として，後段のカラムでは $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ として移動したためである．

ついで PGC カラムの酸化処理を行い，これを用いた際の各金属シアン化物錯体のピーク面積の変化を Fig.3 に示す．酸化処理した PGC カラムを通過すると $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ のピーク面積が $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ と等しくなった．このことから酸化処理した PGC カラムにより $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ が $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ に酸化されることがわかった．酸化処理した PGC カラムをオンライン酸化還元化学種変換 HPLC に組み込んで得られたクロマトグラムを Fig.4 に示す．比較のために化学種変換ユニットを除いたシステムでも同様の測定を行った．化学種変換ユニットを除いたシステムでは 4 分に溶出した $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ がオンライン酸化還元化学種変換 HPLC システムでは 7 分に溶出した．これは前段のカラムでは $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ として，後段のカラムでは $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ として移動したためである．これにより $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ をシステムピークから分離することができた．

このようにオンライン酸化還元化学種変換 HPLC によりヘキサシアノ鉄酸イオンの溶出位置を変化させ，選択的に分離することが可能であることが明らかになった．

【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.Comm.*, 34 (1997) 397
- 3) K.Saitoh, N.Yamada, E Ishikawa, H. Nakajima, M. Shibukawa, *J.Sep.Sci.*, 29 (2006) 49

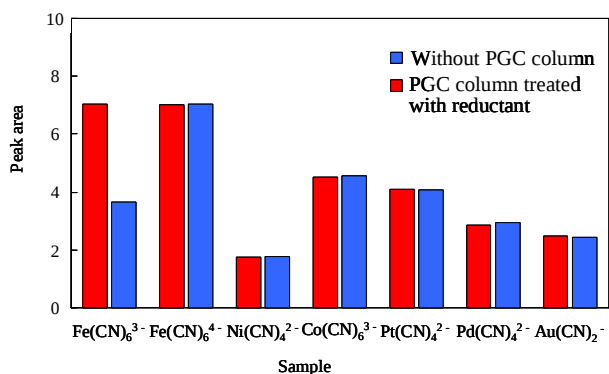


Fig.1 Effect of derivatization by the reduced PGC column on the peak areas of metal cyanide complexes.

Reducing agent : 10 mM Na_2SO_3

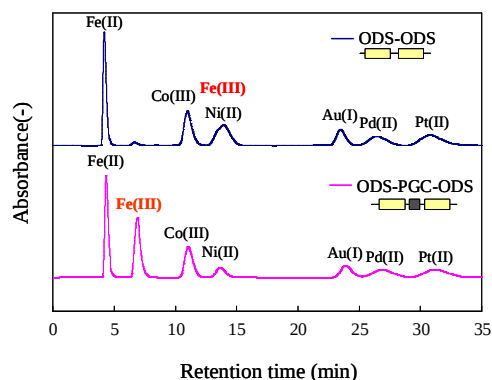


Fig.2 Chromatograms of a mixture of metal cyanide complexes obtained using the ODS-ODS system and the ODS-PGC-ODS system.

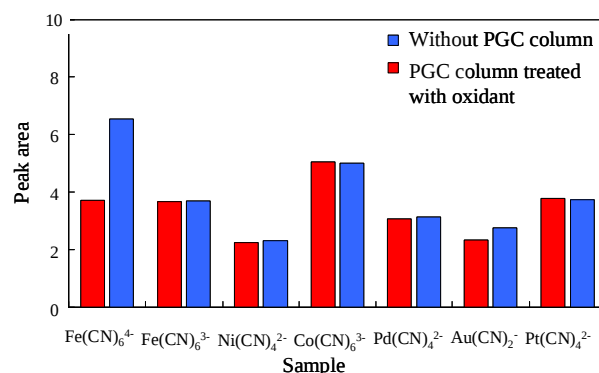


Fig.3 Effect of derivatization by the oxidized PGC column on the peak area of metal cyanide complexes.

Oxidizing agent : 500 μM H_2O_2

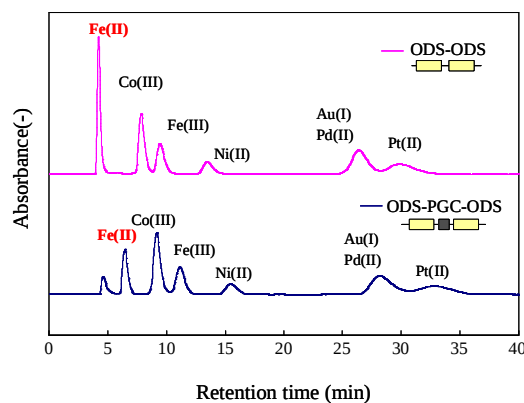


Fig.4 Chromatograms of a mixture of metal cyanide complexes obtained using the ODS-ODS system and the ODS-PGC-ODS system.