

5-Br-PADAP を用いたオンライン酸化還元化学種変換 HPLC による
Fe(II)と Fe(III)の選択的分離

日大生産工(院) 安田 卓也 日大生産工 齊藤 和憲
九大院工 中嶋 秀 日大生産工 渋川 雅美

【緒言】

鉄は地殻中で4番目に豊富な元素であり、海洋の生物生産を規定する重要な元素として近年注目されている。鉄を効率的に獲得することは生物にとって重要であり、鉄の存在形態を明らかにする必要性が近年論じられている。本研究室では、2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol(5-Br-PADAP)を誘導体化試薬として逆相 HPLC により水試料中の Fe イオンを酸化状態別に定量することに成功した¹⁾。一方、酸化還元反応を示す多孔質グラファイトカーボンにより目的物質を選択的に化学種変換して分離を行うオンライン酸化還元化学種変換 HPLC を開発した²⁾。本研究では、化学種変換ユニットとしてグラファイトフィルターを組み込んだオンライン酸化還元化学種変換 HPLC による水溶液中の Fe(II)と Fe(III)の選択的分離について検討した。

【実験】

鉄イオンの酸化状態は金属に接触することにより変化する可能性があるため、HPLC 装置はすべて PEEK 製のものを使用した。カラムは関東化学製 Mightysil RP-18 (5 μm)を PEEK 製クロマト管(100 mm x 4.6 mm i.d.)に充填したも

の、グラファイトフィルターはクーロメトリック用プレフィルター(1 mm x 3.3 mm i.d.)を用い、温度は 35 °C とした。検出は UV-VIS 検出器を用い、検出波長を Fe(III)錯体は 586 nm、Fe(II)錯体は 553 nm とした。溶離液は、10 mM Bis-Tris-HClO₄ (pH 4.5) / 0.1 M NaClO₄ / 10 or 20 μM 5-Br-PADAP / 50 % (w/v) アセトニトリル-水混合溶液を用いた。流量は 0.8 ml/min に設定した。また、溶離液は窒素ガスを通気して溶存酸素を除去した。グラファイトフィルターは測定を行う前に、50 mM Na₂SO₃ / 10 mM Bis-Tris-HClO₄ (pH 4.5) / 0.1 M NaClO₄ / 10 % (w/v) アセトニトリル-水混合溶液を流量 0.8 ml/min で 75 分間通液することにより還元処理を行った。

Fe(III)溶液は、原子吸光用鉄標準溶液を pH 2 の HClO₄ で希釈したものをを用いた。同様に Cu(II)、Ni(II)および Co(II)溶液は各標準溶液を用いて調製した。Fe(II)溶液は、モール塩を使用した。混合金属試料溶液は Fe(III)、Fe(II)、Cu(II)、Ni(II)および Co(II)溶液の濃度をそれぞれ 100 ppb、5-Br-PADAP の濃度を 50 μM とした。

Selective Separation of Iron(II) and Iron(III) by On-Line Redox Derivatization HPLC
with 2-(5-Bromo-2-Pyridylazo)-5-Diethylaminophenol

Takuya YASUDA, Kazunori SAITOH, Hizuru NAKAJIMA and Masami SHIBUKAWA

【結果および考察】

ODS カラムのみでは, Cu(II), Co(II), Fe(III), Ni(II), Fe(II) 錯体の順に溶出した(Fig. 1)。Fe(II) 錯体は他の共存イオンと分離することができたが, Fe(III) 錯体は過剰に添加した 5-Br-PADAP および Ni(II) 錯体と溶出位置が近接しており分離することができなかった。

ODS カラムの前にグラファイトフィルターを組み込んだシステムでは, Fe(III) 錯体は Fe(II) 錯体と同じ保持時間で溶出した(Fig. 2)。この結果より, グラファイトフィルターで Fe(III) 錯体が Fe(II) 錯体に還元されることが明らかになった。そこで, 2 本の ODS カラムの間にグラファイトフィルターを組み込んだ HPLC システムを構築して, 金属混合試料の測定を行った。その結果, Fe(III) 錯体は過剰に添加した 5-Br-PADAP および Ni(II) 錯体から分離することができた(Fig. 3)。これはグラファイトフィルターで Fe(III) 錯体が還元され, 後段のカラムで Fe(II) 錯体として移動したためであり, 2 つの分離カラムのサイズは同じであるので Fe(III) 錯体はその本来の保持時間である 5-Br-PADAP の保持時間と Fe(II) 錯体の保持時

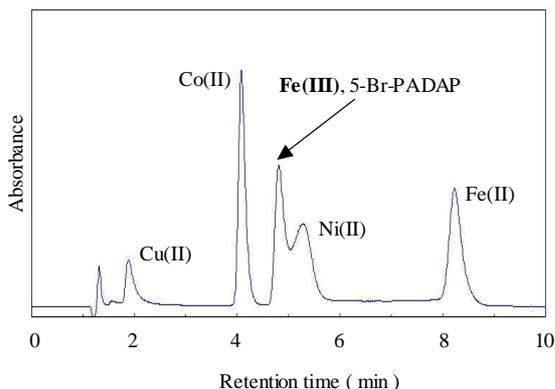


Fig. 1 Chromatogram of a mixture of metal-5-Br-PADAP complexes obtained on an ODS column.

Eluent : 10 mM Bis-Tris-HClO₄ (pH 4.5) / 0.1 M NaClO₄ / 20 μM 5-Br-PADAP / 50 % (w/v) CH₃CN-H₂O

Sample solution : 50 μM 5-Br-PADAP containing 100 ppb Fe(III), Fe(II), Cu(II), Ni(II) and Co(II)

Detection wavelength : 553 nm

間の中で溶出するためである。以上の結果は, 本法が Fe(II) および Fe(III) の選択的な分離に非常に有効であることを示している。

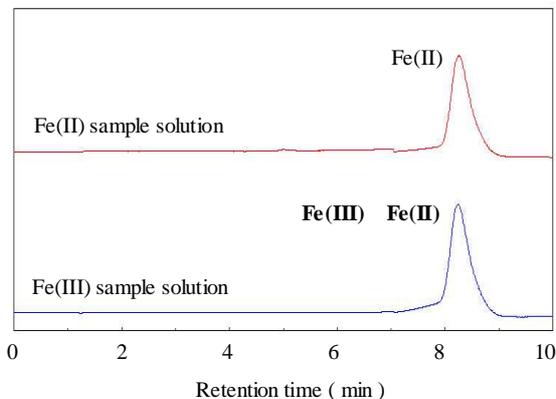


Fig. 2 Chromatograms of Fe-5-Br-PADAP complex using GF+ODS system.

Eluent : 10 mM Bis-Tris-HClO₄ (pH 4.5) / 0.1 M NaClO₄ / 10 μM 5-Br-PADAP / 50 % (w/v) CH₃CN-H₂O

Sample solution : 5 μM 5-Br-PADAP containing 100 ppb Fe(III) and Fe(II)

Detection wavelength : 0-7 min ; 586 nm, 7 min - ; 553 nm

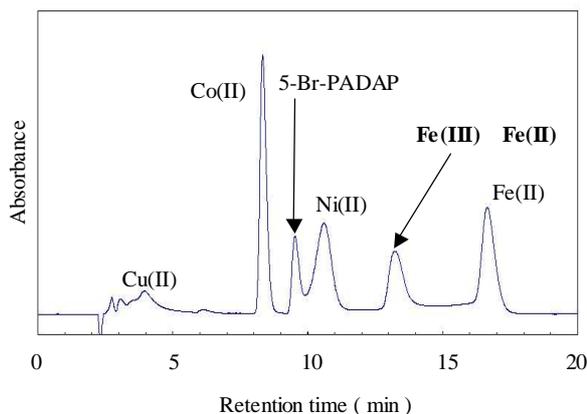


Fig. 3 Chromatogram of a mixture of metal-5-Br-PADAP complexes with ODS + GF + ODS system.

Eluent : 10 mM Bis-Tris-HClO₄ (pH 4.5) / 0.1 M NaClO₄ / 20 μM 5-Br-PADAP / 50 % (w/v) CH₃CN-H₂O

Sample solution : 50 μM 5-Br-PADAP containing 100 ppb Fe(III), Fe(II), Cu(II), Ni(II) and Co(II)

Detection wavelength : 553 nm

【参考文献】

- 1) 安田卓也, 齊藤和憲, 中嶋秀, 渋川雅美, 第 66 回分析化学討論会講演要旨集, p. 226.
- 2) K.Saitoh, N.Yamada, E.Ishikawa, H.Nakajima, M.Shibukawa, *J.Sep.Sci.*, 29 (2006) 49.