

非接触型参照電極を用いた電気化学クロマトグラフィーカラムにおける 溶質保持挙動に関する基礎的研究

日大生産工(院)○長野 高明, 日大生産工(学部) 小谷 聖矢, 齋藤 大翔
日大生産工 朝本 紘充, 中釜 達朗, 齋藤 和憲

1. 緒言

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は、固体微粒子を充填したカラムに混合試料溶液を注入し成分ごとに分離する分析法である。試料の固体微粒子への吸着力の差で分離され、簡便な操作で短時間且つ高精度の分離・分析が可能であり、溶媒に溶解する試料であれば適用可能なため様々な試料の分析ができ、幅広い分野で活用されている分析法である。しかし、複数試料の分離が困難な場合、吸着力を変化させるために溶液の変更やカラムの交換など非常に煩雑な操作が必要であり測定者への負担が非常に大きい。一方、HPLCと電気化学を融合させた電気化学クロマトグラフィー(EMLC)が開発された。これは、HPLCの分離場であるカラムに電気化学的作用場を導入したものである。カラム外にある参照電極(RE)を用いて固定相への印加電位を変化させることで、溶質保持の制御が可能になり、測定者への負担軽減が期待される。

Porterらが開発したEMLCカラムの構造は、カラム本体に多孔質ステンレス管を用い、中にセパレーターとして陽イオン交換膜であるNafionチューブを挿入し、固定相としてガラス状炭素(GC)や多孔質グラファイトカーボン(PGC)などの導電性微粒子を充填したもので、このカラムを電解質溶液に浸漬して使用する¹⁾。このとき、固定相が作用電極(WE)、多孔質ステンレス管が対極(CE)として作用する。電解槽の陽イオンがNafionを介してカラム内外を行き来することで固定相への印加電位の制御が可能である。また、保持機構の解析により二次電池や燃料電池などの開発において重要である電極界面などの分析への応用が期待されている²⁾。しかし、Porterらが開発したEMLCカラムの構造では適用できる試料が限定的であるとともに、印加される電位を長時間安定して維持することが困難なため、実用化には至っていない。これらは、カラム本体に使用している多孔質ステンレス管及びNafionに起因することが考察されているが、EMLCシステムで採用されている三電極法では同一槽にWE、CE、REが浸漬している必要がある。

一方、本研究室では試料溶液非接触型REを用いた電位制御法について検討している。本制御法は塩橋や液絡を使用せず、試料溶液に接触していないREを用いて試料溶液内に浸漬したWEの電位を制御するものである³⁾。この電位制御法を導入し、多孔質ステンレス管やNafionを使用しないEMLCカラムの作製を行った。多孔質ステンレス管を無孔質のものに変更し、Nafionの代わりに多孔質PTFEを用いた。これに非接触型REを用いた電位制御法を導入し、カラムへの電位の印加が確認されたが、保持挙動については検討されていない⁴⁾。

そこで当研究では、Porterらが開発したEMLCシステムで保持挙動の検討が確認されたヒドロキノン測定試料として用い⁵⁾、溶質保持挙動についての基礎的検討を行った。

2. 実験

2-1. サイクリックボルタンメトリー測定

サイクリックボルタンメトリー(CV)測定のWEにはGC電極、CEには白金電極、REには銀/塩化銀(Ag/AgCl)電極をそれぞれ用いた。測定試料は、0.1 M 過塩素酸リチウムおよび10 (w/v)% アセトニトリルを含む0.1 M リン酸緩衝溶液(pH 6)を用いてヒドロキンを溶解し、10 mMに調製したものをを用いた。スイープ速度は20 mV/sに設定した。

2-2. EMLC測定

Fig. 1に非接触型REを用いたEMLCカラムの模式図を示す。EMLC測定は、試料には0.1 mM ヒドロキンを、移動相には0.1 M リン酸緩衝溶液 (pH 6)に10 (w/v)のアセトニトリルを添加し、支持電解質として0.1 M 過塩素酸リチウムを添加したものをを用いた。カラム外に用意した電解セルは電解質溶液として移動相で満たし、電極を浸漬した。WEには白金電極、CEにはワイヤー状白金電極、REにはAg/AgCl電極をそれぞれ用い、印加電位は-0.7 V~+0.4 Vの電位を非接触型REによる電位制御法により印加して測定した。また、試

A Fundamental Study on Retention Behavior of Electrochemically Modulated Liquid Chromatography Columns Using a Non-Contact Reference Electrode
Takaaki NAGANO, Seiya KOTANI, Hiroto SAITOH,
Hiromichi ASAMOTO, Tatsuro NAKAGAMA and Kazunori SAITOH

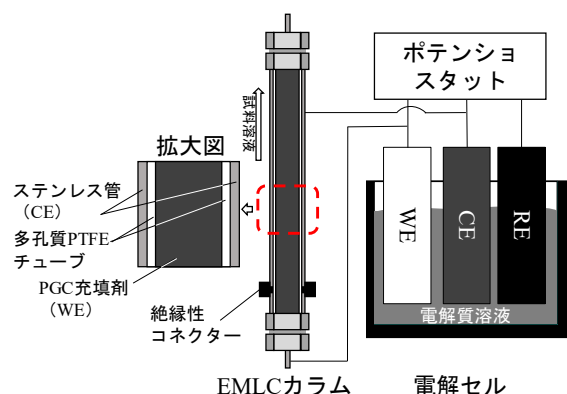


Fig. 1 非接触型参照電極を用いたEMLCカラムの概念図

料注入は全てオートサンプラーを用いて5 μL 注入し、検出器にはUV-VIS検出器を用いて波長220 nmで測定した。

3. 結果

3-1. ヒドロキノンの酸化還元挙動

EMLC測定を行う際に印加する電位範囲を決定するため、ヒドロキノンのCV測定を行った。得られたサイクリックボルタモグラムをFig. 2に示す。Fig. 2から分かる通り、-0.1 V付近で酸化ピーク、+0.3 V付近に還元ピークが確認された。以上の結果より、酸化ピーク電位および還元ピーク電位の値から0.1 V付近にヒドロキノンの酸化還元電位があるものと推定される。また、0.1 V以上の電位を印加すると、ヒドロキノンに酸化反応が生じ、酸化体である p -ベンゾキノンに変換し、この電位を印加したEMLCカラムにおいてヒドロキノンの保持に特異的な変化が生じるとものと考えられる。

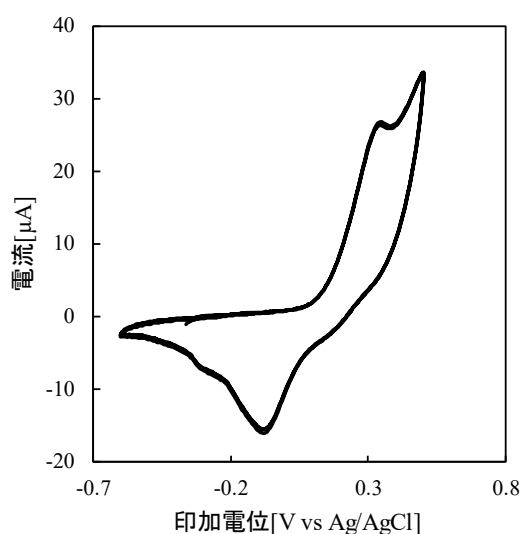


Fig. 2 ヒドロキノンのサイクリックボルタモグラム

3-2. EMLCにおけるヒドロキノンの保持挙動

非接触型REを用いた電位制御法を用いたEMLCカラム測定して得られたクロマトグラムをFig. 3に示す。印加電位を正に大きくすると、保持が増加している。Porterらが開発したEMLCカラムにおいて、ヒドロキノンの保持挙動について調査した既往の研究では、ヒドロキノンは電位を正に大きくすると保持が増加したが、高い印加電位で酸化体である p -ベンゾキノンに変換した場合でも保持は増加した⁵⁾。 p -ベンゾキノンに変換した際は、ピーク面積が減少することを確認しており、同様に本測定でのピーク面積を調べたところ、減少していた。これより、ヒドロキノンの酸化変換により保持が増加したことが示唆された。しかしながら、Porterらが開発したEMLCカラムの変化に比べて小さく、これは、セパレーターに用いた多孔質PTFEによるものと考えられる。

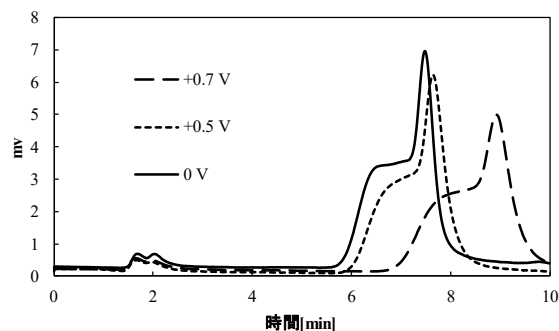


Fig. 3 非接触型参照電極を用いたEMLCカラムにおけるヒドロキノンのクロマトグラム

また、観察されたピークはショルダーピークの形状であった。これは、固定相であるPGCとセパレーターとして使用している多孔質PTFEの両方に保持している可能性が考えられる。そこで、溶離液に用いる有機溶媒をアセトニトリルの代わりにテトラヒドロフラン(THF)を添加したところ、ピーク形状が改善された。

参考文献

- 1) M. D. Porter, et al, *Analyst*, 126 (2001) 1841
- 2) M. D. Porter, et al, *J. Phys. Chem. C.*, 123 (2019) 28157
- 3) 日本大学, 齊藤, 中釜, 電気化学測定装置, 特開 2021-038931
- 4) 増野, 朝本, 中釜, 齊藤, 日本分析化学会第70年会講演要旨集, Y1141 (2021)
- 5) K. Saitoh, et al, *J. chromatogr. A*, 1180 (2008) 66