

1 3. 液体クロマトグラフィ (liquid chromatography)

[1] 装置

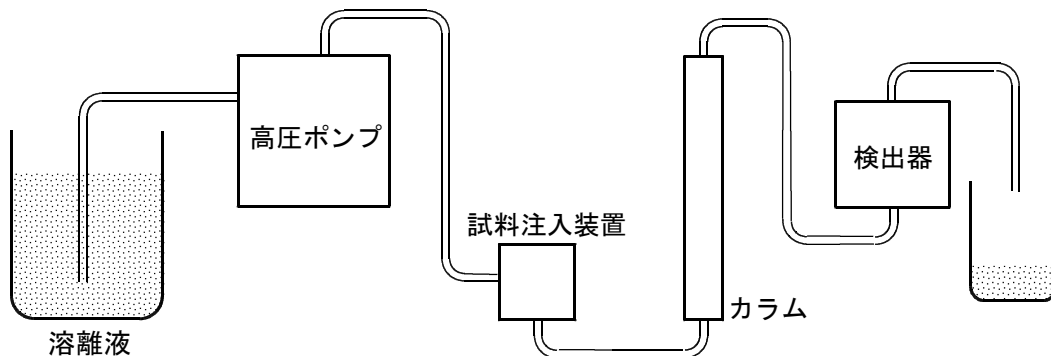


図1. 液体クロマトグラフ

[2] ポンプ

最大送液圧力 350 kg/cm²

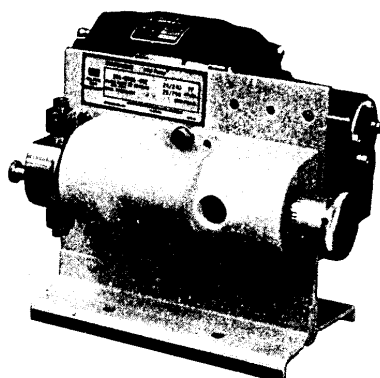


図2. 液体クロマトグラフ用高圧ポンプ

[3] 試料注入装置

(I) 試料溶液の充填および分析をするとき

(II) 試料をカラムへ注入するとき

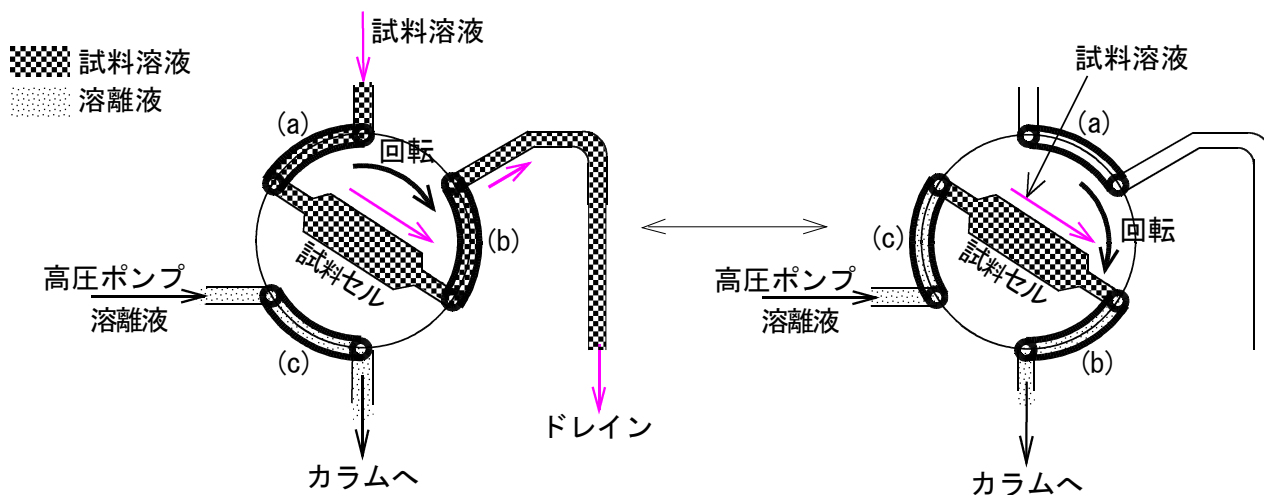


図3. 6方コックによる試料の注入装置

[4] 吸着型固定相

シリカゲル, アルミナ, 細孔多孔質

表 1. 吸着型固定相の例

品 名	分離モード	内 容	粒 径
LiChrosorb SI-60	吸 着	シリカゲル 細孔径 60Å 表面積 500m ² /g 細孔容量 0.75ml/g	5μm
			10μm
			30μm
			40μm
LiChrosorb SI-100	吸 着	シリカゲル 細孔径 100Å 表面積 300m ² /g 細孔容量 1.0ml/g	5μm
			10μm
			30μm
LiChrosorb A10x T	吸 着	アルミナ 細孔径 150Å 表面積 70m ² /g 細孔容量 0.27ml/g	5μm
			10μm
			30μm
PARTISIL 5	吸 着	Silicagel 細孔径45Å 表面積400m ² /g	5μm
PARTISIL 10	吸 着	Silicagel 細孔径45Å 表面積400m ² /g	10μm
PARTISIL 20	吸 着	Silicagel 細孔径45Å 表面積400m ² /g	20μm

[問1] ある吸着型固定相は1gあたり、細孔表面積 500m²、細孔容量 0.75cm³ をもっている。
この固定相の細孔径が 60Å で一定であるとする、細孔の総延長はどれほどか。

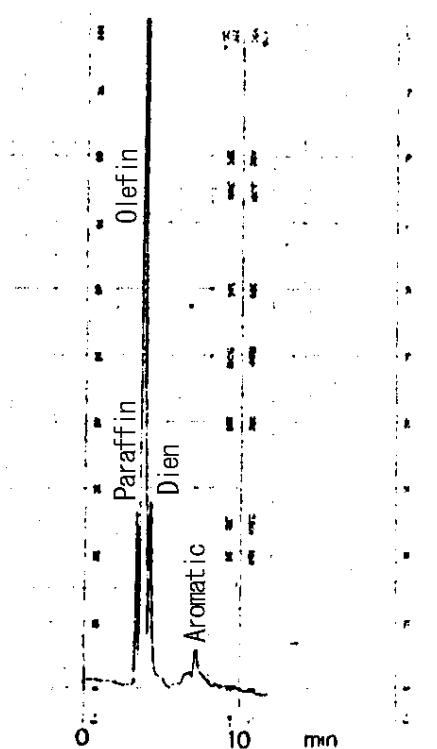


図4. 吸着型固定相による炭化水素の分析

[問2] 酢酸とエタノール、酢酸エチルの混合物を、吸着型固定相を使った液体クロマトグラフィで分析した。溶離液として、クロロホルム、アセトン、アセトニトリルを使った場合の大凡なクロマトグラムを書け。ただし、溶離液以外の条件は同じものとする。

[ヒント：これらの溶離液の極性は、クロロホルム < アセトン < アセトニトリル である]

[5] 分配型固定相

化学結合, $-(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{CN}$

表 2. 分配型固定相の例

品名	分離モード	内容	粒径
NUCLEOSIL 5C ₈ 7C ₈ 10C ₈	逆相	Chemical Bonded Octyl (C ₈)	5μm
			7μm
			10μm
NUCLEOSIL 5C ₁₈ 7C ₁₈ 10C ₁₈	逆相	Chemical Bonded ODS (C ₁₈)	5μm
			7μm
			10μm
NUCLEOSIL 5NH ₂ 10NH ₂	順相	Chemical Bonded Amino phase	5μm
	逆相		10μm
NUCLEOSIL 5CN 10CN	順相	Chemical Bonded Nitrile phase	5μm
			10μm
NUCLEOSIL 5NO ₂ 10NO ₂	順相	Chemical Bonded Nitro phase	5μm
			10μm

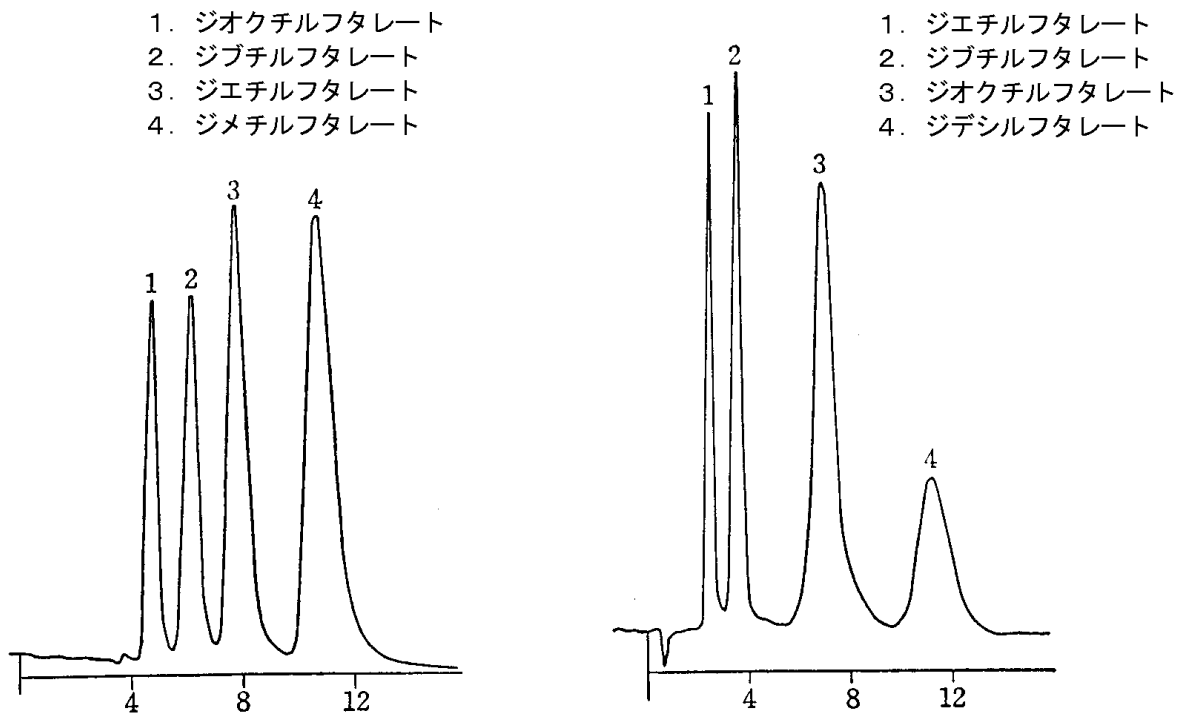


図 5. 分配型固定相によるフタル酸エステル分析
移動相: (左) n-ヘキサン, (右) メタノール

(a) 極性：固定相 > 移動相

(b) 極性：固定相 < 移動相

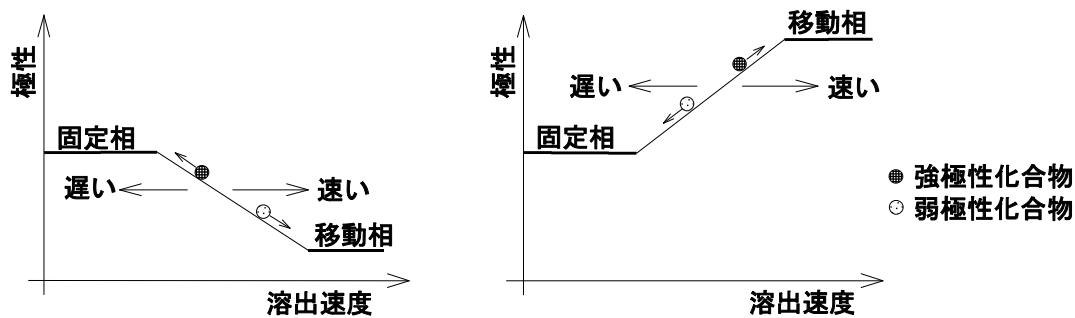


図6. 移動相の極性と成分の溶出速度

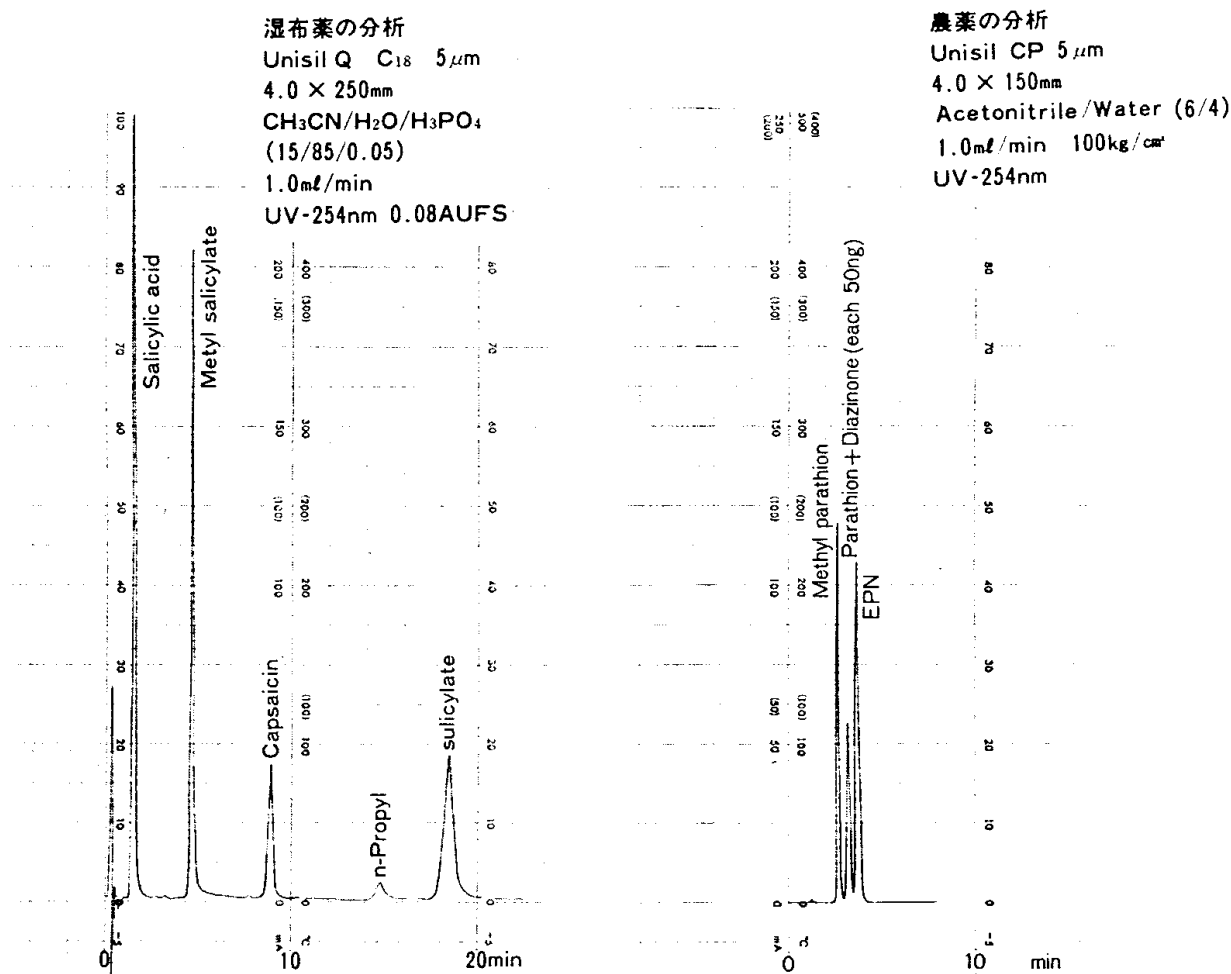


図7. 分配型固定相を使用した分析例
(左) 湿布薬, (右) 農薬

[問3] つぎの条件で、①アセトアルデヒド CH_3CHO 、②ブチルアルデヒド $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CHO}$ 、③1-ヘキサナール $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CHO}$ を含む混合物試料を分析した。それぞれの場合のクロマトグラムを描き、溶出ピークに化合物を表わす番号①～③を記入せよ。ただし、問題に記された測定条件以外はすべて同じであるから、溶出に時間がかかる場合には、溶出ピークをより右側に描け。

- (a) シリカゲルを固定相
 (b) シリカゲルと $n\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{Cl}$ を反応させたものを固定相、メタノールを移動相
 (c) シリカゲルと $n\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{Cl}$ を反応させたものを固定相、テトラヒドロフランを移動相
 (d) シリカゲルとアミノ基を持つ化合物を反応させたものを固定相、 n -ヘキサンを移動相
 (e) シリカゲルとアミノ基を持つ化合物を反応させたものを固定相、メタノールを移動相
 (f) シリカゲルにアミノ基を持つ化合物を反応させたものを固定相、酢酸を移動相


溶	媒	UV Cutoff	R.I.
n-Pentane	無極性  強極性	210	1.358
n-Hexane		200	—
iso-Octane		210	1.404
Cyclohexane		210	1.427
Cycloheptane		209	1.404
Carbon Disulfide		380	1.626
Carbon Tetrachloride		265	1.466
o-Xylene		288	1.500
Toluene		285	1.496
Benzene		280	1.501
Ethyl Ether		220	1.353
Chloroform		245	1.443
Methylene Chloride		245	1.424
Methyl iso-Buthyl Ketone		334	1.394
Tetrahydrofuran		220	1.408
Ethylen Dichloride		230	1.445
Acetone		330	1.359
Dioxane		220	1.422
Ethyl Acetate		260	1.370
Dimethyl sulfoxide		—	1.480
Acetonitrile	210	1.344	
Pyridine	330	1.510	
n-Propanol	210	1.380	
Ethanol	210	1.361	
Methanol	210	1.329	
Acetic Acid	210	1.329	
Water	—	1.333	

表3. 溶媒の極性と紫外吸収最短波長、屈折率

[6] 紫外分光光度検出器

紫外吸収

選択的検出器

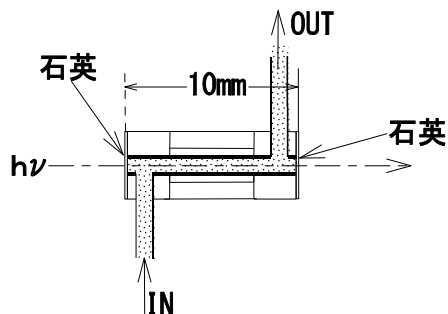
 5×10^{-5} AU

図8. 紫外分光光度検出器の吸収セル部分

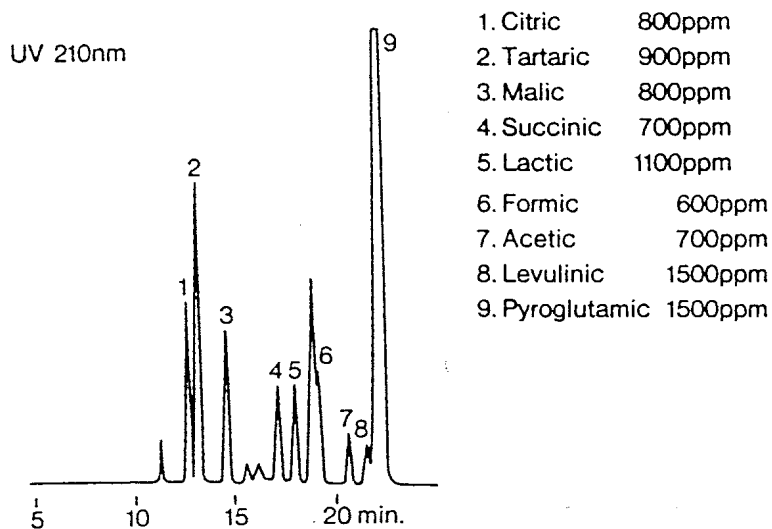


図9. 紫外分光光度検出器によるクロマトグラム

[問4] 紫外分光光度検出器の吸収セルの構造において、液の入り口が下方、出口が上方にある理由を述べよ。

[問5] acetophenone は波長 240 nm でモル吸光係数 13000 のK-バンド吸収を持っている。この化合物の検出限界を求めよ。

[7] 示差屈折検出器

屈折率

汎用検出器

0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (sucrose)

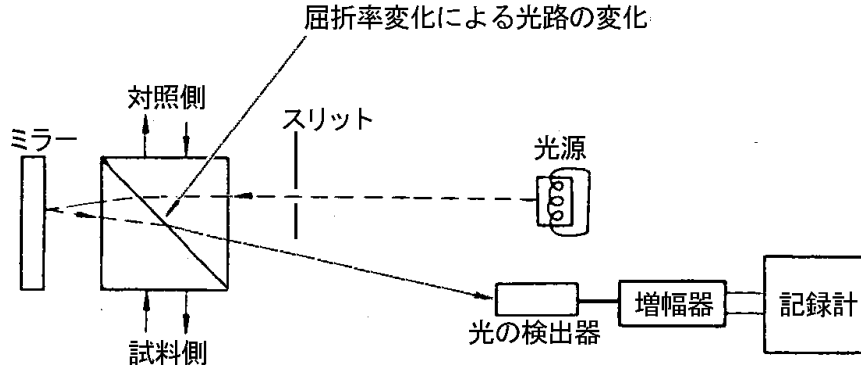


図10. 示差屈折検出器

[問6] 示差屈折検出器において、試料側溶液の屈折率が大きくなったときの光の進路を描け。

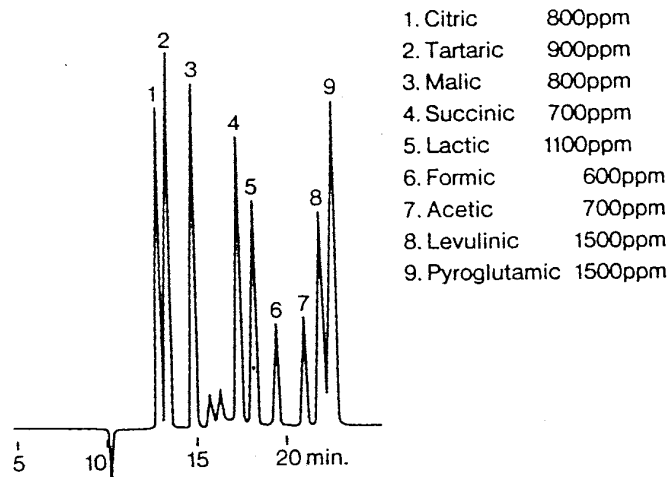


図11. 示差屈折検出器によるクロマトグラム

[8] 電気伝導度検出器

電気伝導度, イオン

選択的検出器

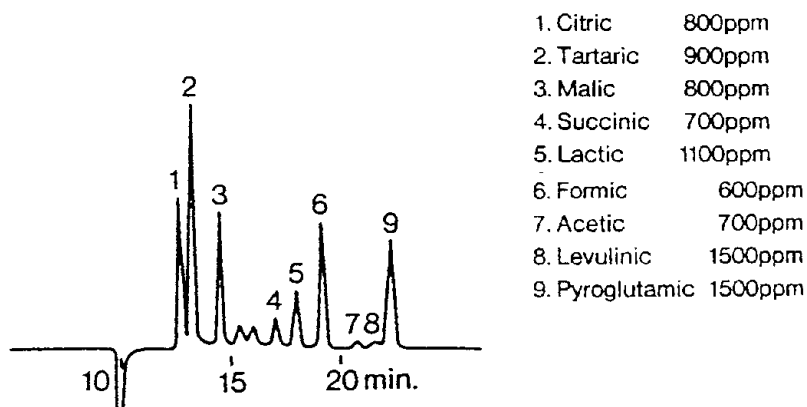


図 1 2. 電気伝導度検出器によるクロマトグラム

[9] 蛍光光度検出器

蛍光

選択的検出器

1 p p b (quinine sulfate)

[1 0] エレクトロケミカル検出器

電極 (酸化還元) 反応

選択的検出器

1 p g

[1 1] 参考図書

(1) 武内 次夫編「工業分析化学 下巻」学術図書, 1977, p 545

[1 2] 総合問題

[問7] * 液体クロマトグラフィに関する以下の問に答えよ。

(1) 1970年以降、カラムクロマトグラフィが高速液体クロマトグラフィ(HPLC)として飛躍的に高性能化することを可能にした大きな要因を2つ挙げよ。

(2) HPLCを分離の原理に従って4種類に分類し、それぞれの原理・特徴・適用範囲などを簡単に説明せよ。

(3) HPLCにおいてしばしば用いられる勾配溶離法(gradient elution)を、ガスクロマトグラフィで用いられる昇温プログラミング法と対比しながら説明せよ。

(4) HPLCにおいて用いられる代表的な検出器を2つ挙げ、それぞれの原理・特徴などを簡単に述べよ。

