

高速液体クロマトグラフ用誘電率検出器の開発

馬 場 信 行
渡 辺 秀 夫
相 浦 淳

Development of a Dielectric Constant Detector for High Speed Liquid Chromatograph

Nobuyuki BAMBA
Hideo WATANABE
Makoto AIURA

This report describes the development of a new high pressure liquid chromatography (HPLC) detector based on dielectric constant. The detector adopts the so-called heterodyne detection system, which reads the frequency shift resulting from the changes in solution dielectric constant by comparing the oscillation frequency of the sample with that of the reference solution.

The detector cell consists of a combination of thin plates; a Teflon sheet is held between a stainless steel plate and a gilded glass plate. This simple assembly makes the construction of the cell and finishing of its surface quite easy. Further features of the cell include easy removal of air bubbles and nearly negligible detector effect on peak spreading.

The HPLC detector of this type appears promising because the preliminary test proved it to be sensitive and adaptable enough to compete with the commonly used differential refractive index detectors.

1. はじめに

高速液体クロマトグラフ用の検出器としては UV (紫外吸収) 検出器と RI (示差屈折率) 検出器とが一般に用いられており、特殊なケースとして蛍光検出器や VIS (可視吸収) 検出器, IR (赤外吸収) 検出器などがあり、各々特長を有している。

このうち RI 検出器は最も汎用的ではあるが感度の面では十分とは言えない。また前出の各種の検出器は高感度ではあるが測定溶媒や試料に制約される場合が多く汎用的ではない。

そこで屈折率とは同質の誘電率を測定することによって汎用的で感度面でも RI 検出器と相補する液体クロマトグラフ用検出器を試作、検討したので報告する。

誘電率をはじめとする高周波導電率、透磁率、透電率などの物性に着目し、クロマトグラフ用検出器として検

討されたのは比較的新しく、ガスクロマトグラフに誘電率検出器が用いられたのは1958年 D. W. Torner らによって報告されており、液体クロマトグラフには1963年 Gordon らによって用いられた。いずれの場合も誘電率を周波数に変換する、すなわち電気容量への変換である。1971年 Haderka¹⁾ は測定法のいくつかの提案を行ない wheatstone bridge type の装置を試作したが、室温変動の影響と装置主要部の振動が S/N を悪化させかつ、液のフロー時のレスポンス不良が認められ検出器としては問題があった。1972年 R. Vespalec²⁾ らはセル容量 $11.7 \mu\text{l}$ の液体クロマトグラフ用検出器を試作し、最も高感度化の期待できる n -ヘキサンを移動相溶媒に用い各種の試料測定を行なったが流速依存性が大きく、かつ S/N も悪く汎用検出器としては不十分な結果であった。またフローセルの容量が $0.1 \sim 0.7 \text{ ml}$ と大きく実際の高速液体クロマトグラフとして問題はあ

試作し検討したものに1975年の Erbeling³⁾ や難波田⁴⁾ らの報告がある。

以上のことから高速液体クロマトグラフ用検出器として必要な、例えばセルに起因するクロマトグラムの不要な拡がりの防止；通常測定流量範囲で流速依存性がない、検量線が直線である、などの条件を満足し、理論的にも十分対応のつく装置を試作し良好な結果を得たので開発途上得た経験をも含めて報告したいと考える。

2. 誘電率検出器の概要

Fig. 1 に試作した装置の外観と内部構造の一部を、Fig. 2 にブロック図を示す。Fig. 1 の内部構造写真の手前に見えるのがフローセルで基準側と試料側の2つが熱交換機を構成するアルミニウムブロックの上に設置されている。2つのフローセル (Fig. 3 に構造を示す) でコンデンサを作り、これを可変インダクタンスと組み合わせ周波数安定度の高いクラップ型発振回路を構成する。移動相溶液の誘電率によりコンデンサの容量が決まり ($cd = \epsilon_0 s/d$), 発振周波数が決まる ($f = 1/2\pi\sqrt{LC}$)

移動相溶液の誘電率が変化すれば発振周波数もそれに応じて変化する。従来一般的な方法は基準側には水晶発振器を用い基準周波数(通常 10 MHz 程度)を設定し、試料側セルの容量変化にともなう発振周波数との差をとる方式であるが、この方法は測定溶媒を頻繁に取りかえた時の補正が面倒であり、かつドリフト対策上好ましくないので本研究では同一の発振器 2 台を設け、一方は基準側として移動相溶媒のみを流し、他方は試料側として分離カラムを通った溶液を流す方式とした。

2つの発振回路はフローセルの構成と発振回路の設置場所の制約から発振回路の相互干渉を防ぐため、あらかじめ 50 KHz の周波数差を設定し、可変インダクタン

スの微調整により、セル内が空気のとのおよそ 9 MHz に設定した。2台の発振器からの高周波はミキサに入り、2つの高周波の和 ($f_s + f_r$) と差 ($f_s - f_r$) に分ける。このうち差の成分だけを T-T filter によるローパスフィルタで取り出し、一段増巾したのち F/V コンバータにより電圧に変換する。F/V コンバータはテレダイン社の4710で 100 KHz が 10 V に相当するものを使用した。さきに設定した 50 KHz の周波数差は減算回路によるバランスボリュームによってこれを相殺し、レンジ切換スイッチを径て記録計に入れ、通常のクロマトグラムとして記録した。

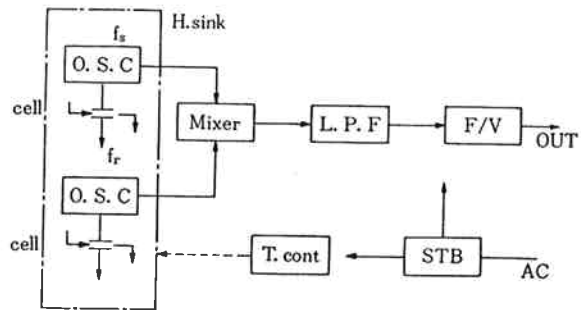
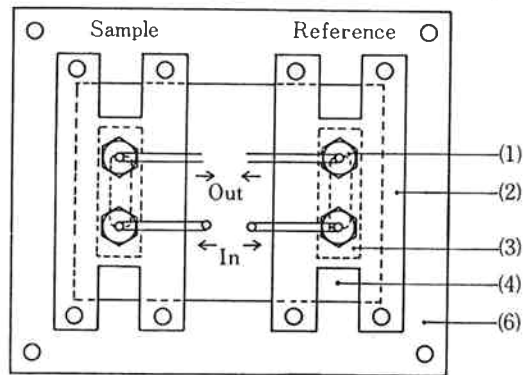


Fig. 2 Block diagram of dielectric constant detector



- (1) Nut (2) Gasket (3) Packin (4) Glass plate
- (5) Packin (6) Plate (7) H.sink block (8) H. sink tube

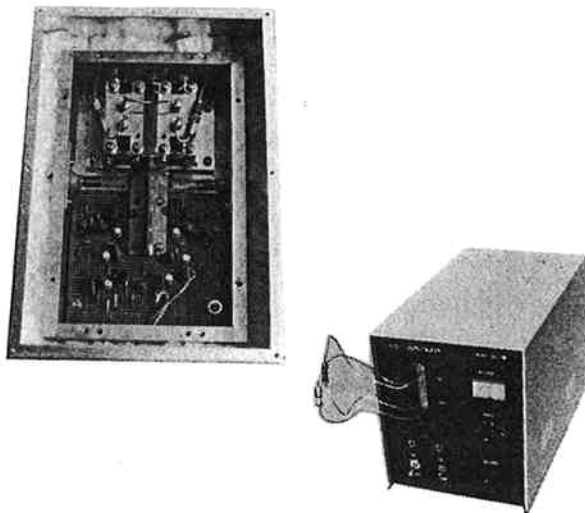


Fig. 1 General view of dielectric constant detector

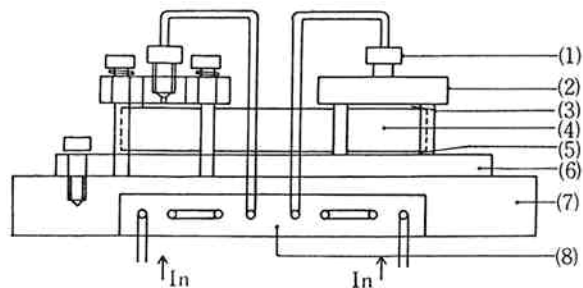


Fig. 3 Schematic profile of detection cell

本装置の製作上もっとも注意を要する点は発振周波数の安定であり、周波数を安定させるため次の点に留意し設計した。

(1) フローセルは数式より明らかな様に面積 s と間隙 d が周囲の環境変化によって変化しない構造のものが要求されるため Fig. 3 に示す構造とした。フローセル部はガラスプレート上にクロムメッキした上に金を蒸着し陽極を作り、厚さ $100 \mu\text{m}$ のテフロンシートを液の流通部分のみくり抜き陰極であるステンレスプレートではさみ込む構造で、内容量は約 $8 \mu\text{l}$ となっている。液の流入は熱交換パイプを通ったのちオシネ型ユニオンによってセルに入り出口側のユニオンより流出させる構造とした。また周波数安定のため、フローセルは基準側と試料側を同一プレート上に配し、熱交換機上に設置した。

(2) 発振回路に使用する各電気部品は温度特性のそろったものを選び製作し、フローセル電極との配線も極力短かく、かつ温度や振動で浮遊容量が変化しない様工夫した。更に発振回路を構成するプリント基板もフローセルと同じ箱内に設置し一定温度で制御を行ない発振周波数の安定に努めた。

3. 検出器の原理

発振回路を構成する同調回路は Fig. 4 で示される。

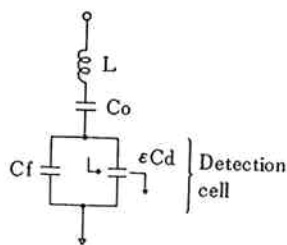


Fig. 4 Equivalent circuit for determining oscillation frequency

c_0 はセルに直列のセル以外の容量で本回路の場合は 270 PF 2 コの直列容量と考えてよい。 L は可変インダクタンスでコマー入りのポピンに25ターンのコイルを巻いて構成し、およそ $9.4 \mu\text{H}$ である。フローセルは $100 \mu\text{m}$ の厚みのテフロンシートを $16 \times 5 \text{ mm}$ 幅でくり抜いたものを用いた。セル内が空気の場合の容量は次式により求められる。

$$c_0 = \epsilon s / d \text{ [F]} \dots\dots\dots(1)$$

s : 面積 $[\text{m}^2]$

d : 間隙 $[\text{m}]$

ϵ : 誘電率

真空中の透磁率を μ_0 , 光速 C とした場合, 真空中の誘電率 ϵ_0 は

$$\epsilon_0 \mu_0 = 1 / C^2 \dots\dots\dots(2)$$

$\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7}$, $C = 3 \times 10^8 [\text{m/s}]$ として ϵ_0 を求めると約 $8.85 \times 10^{-12} [\text{F/m}]$ となり, 従って空隙時の計算容量は約 9 PF となるが, 実際にはテフロンシートは締めつけにより 80μ 程度であることが実験で判明したため実際の容量は約 17 PF となる。

一方発振周波数は $f = 1 / 2\pi \sqrt{LC}$ より, 誘電率 ϵ の液体を詰めた時の容量を $c_f + \epsilon cd$ として扱くと次式で示される。

$$f = \frac{1}{2\pi} \left\{ \frac{(K + \epsilon)cd + c_0}{L(K + \epsilon)cd \cdot c_0} \right\}^{1/2} \dots\dots(3)$$

ここで K は浮遊容量 c_f とセル容量 cd の商であり $K = c_f / cd$ とした。(3)式を用いてフローセル内がテトラヒドロフラン (T. H. F) とアセトンの場合の発振周波数をそれぞれ測定し, 計算によって c_f と L を求めた。

c_f は予想より大きく約 44 PF であったが浮遊容量の変化しない構造のため直接影響はない。

一方, 十分低濃度で理想溶液の場合, 溶液の誘電率 ϵ は溶媒および溶質の誘電率をそれぞれ ϵ_m, ϵ_s として m を溶質の体積分率とすると, 屈折率の場合と同じく次式で近似できる。

$$\epsilon = (1 - m)\epsilon_m + m \cdot \epsilon_s = \epsilon_m + m(\epsilon_s - \epsilon_m) \dots\dots(4)$$

ここでフローセルおよび発振回路の定数は, その構成からはほぼ等しいと見なされるので基準側の発振周波数 f_r と試料側の発振周波数 f_s はそれぞれ

$$f_r = \frac{1}{2\pi} \left\{ \frac{(K + \epsilon_m)cd + c_0}{L(K + \epsilon_m)cd \cdot c_0} \right\}^{1/2} \dots\dots(5)$$

$$f_s = \frac{1}{2\pi} \left\{ \frac{(K + \epsilon_m + m(\epsilon_s - \epsilon_m))cd + c_0}{L(K + \epsilon_m + m(\epsilon_s - \epsilon_m))cd \cdot c_0} \right\}^{1/2} \dots\dots(6)$$

となり両発振周波数の差 Δf は $f_s - f_r$ より求められる。液体クロマトグラフでカラムに注入される試料は通常十分低濃度であるため $\frac{m|\epsilon_s - \epsilon_m|}{K + \epsilon_m} \ll 1$ として Δf を近似的に求めると

$$\Delta f' = \frac{m|\epsilon_s - \epsilon_m|c_0 f_0}{2\{(K + \epsilon_m)cd + c_0\}(K + \epsilon_m)} \dots\dots(7)$$

と与えられる。 Δf と $\Delta f'$ の誤差を計算によって確認したところ, アセトン~T. H. F 系で濃度 1% ($m = 10^{-3}$) で 0.8% , 2% で 1.6% 程度であり, 注入濃度はカラム内ではほぼ10倍程度希釈されることを考慮すれば通常の検出器応答 Δf の計算は(7)式で十分近似できる。

Fig. 5 に溶媒に T. H. F 試料にアセトン, ベンゼン, ジメチルホルムアンド (DMF) をそれぞれ用い, 各濃度に対する Δf を求めたものを示す。

Fig. 6 は m を 10^{-3} に固定した場合の溶質の誘電率に対し Δf を求めたもので移動相溶媒に n -ヘキサンとうの誘電率の小さなものを用いた時に高感度であること

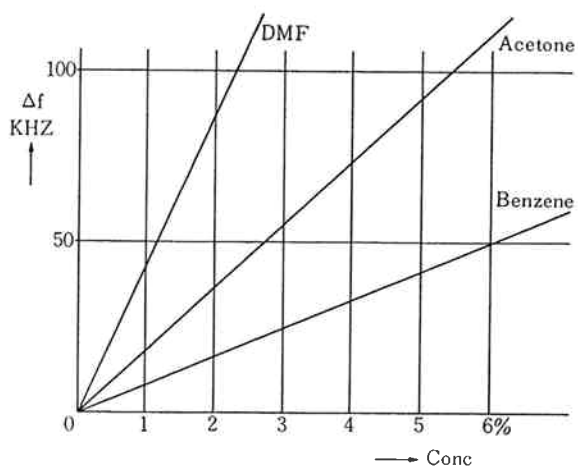


Fig. 5 Responses of detector and solute concentration

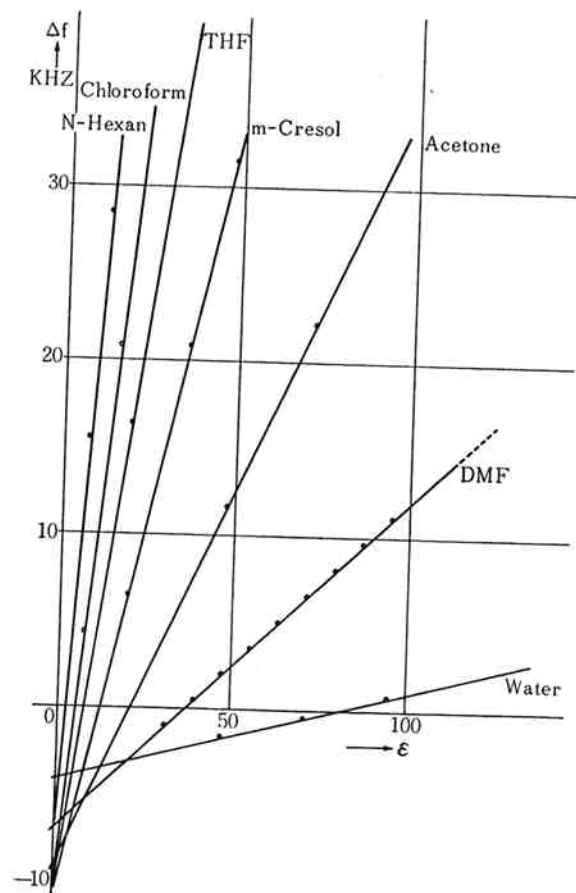


Fig. 6 Responses of detector and dielectric constant of solute

が判る。Fig. 5, Fig. 6 はいずれも直線を示し、検出器の応答 Δf は体積分率 m および溶質の誘電率 ϵ_s に対し1次であることが判り検出器として正常に使用できることを示している。

4. 実 験

[1] 装置および試薬

高速液体クロマトグラフ装置は東洋曹達製 H L C-802 R に G P C ゲル T S K-2000 を内径 7.9 mm, 長さ 60 cm カラムに充てんしたものを 2 本直列に接続したものを試料側とし, TSK-GRC 2 本直列に接続したものを基準側として用いた。溶媒は市販特級の T. H. F を用い, 試料として用いた試薬類も市販, 特級をそのまま用いた。周波数の測定はタケダ理研のユニバーサルカウンタ UC-7841 を用い, $L, c_f, f_0, \Delta f$ の計算には MDS のミニコンピュータを用いた。

[2] 測定範囲の確認

本装置に用いている F/V コンバータは 100 KHZ が 10 V 出力であり, 出力信号は 100 mV/FS の記録計に接続される。従ってレンジ切換えスイッチを通らない場合の記録計のフルスケールは $\Delta f=1$ KHZ となる。Fig. 5 でも明らかなように計算上は広範囲の測定が可能であるが, F/V コンバータの性能から $\Delta f=100$ KHZ までが限界である。Fig. 7 に溶媒に THF, 試料に DMF を用い,

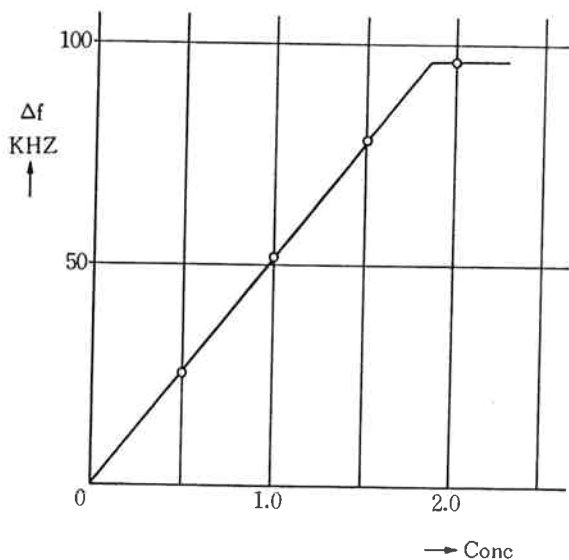


Fig. 7 Response of detector and solute concentration for dynamic range

濃度に対する Δf を求めたものを示す。測定に際してはカラムを接続せず, 注入量を 1000 μ l とし, フローセル内に溶質が満たされた状態でのピーク高さから Δf を求めてプロットした。この結果は Fig. 5 で示した計算結果とほぼ一致を見た。 S/N とレンジ設定の関係から $\Delta f=10$ Hz を一応の検出限界とするとダイナミックレンジは略々 10^4 であり広範囲の測定が可能であることがわかる。

[3] 検量線

Fig. 8 に低濃度領域での溶質濃度に対する検出器の応答 Δf を示す。測定はカラムを接続した状態でない,

横軸はカラム注入時の溶質の体積分率で示した。

Fig. 9 は高濃度領域での結果であり、試料は DMF を用いた。測定に際してはカラムを接続せず直接配管により注入量を 100 μ l として行なった。

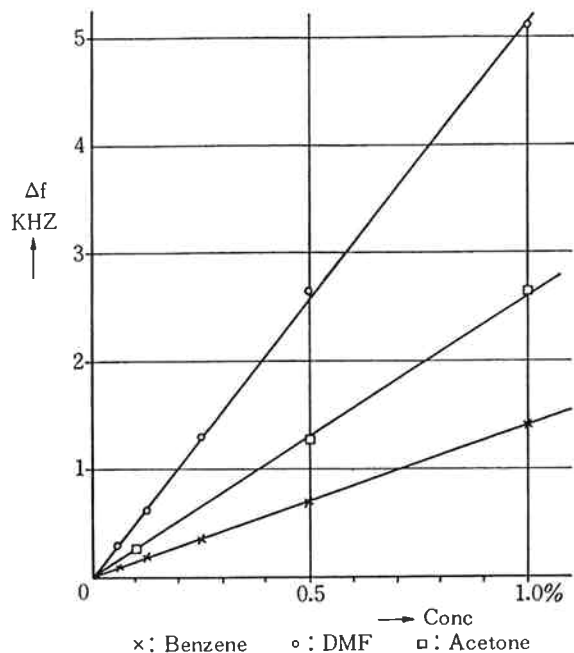


Fig. 8 Relation between responses of detector and solute concentration

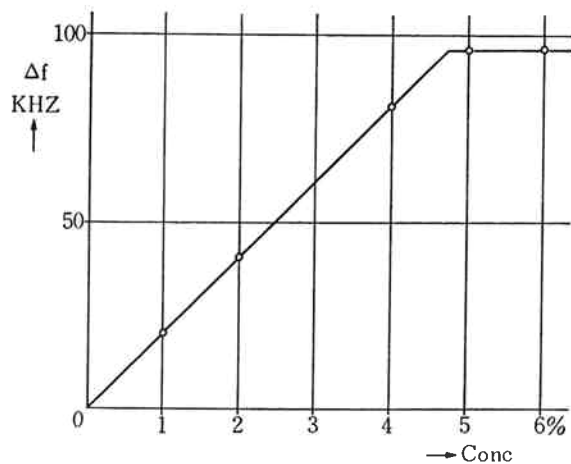
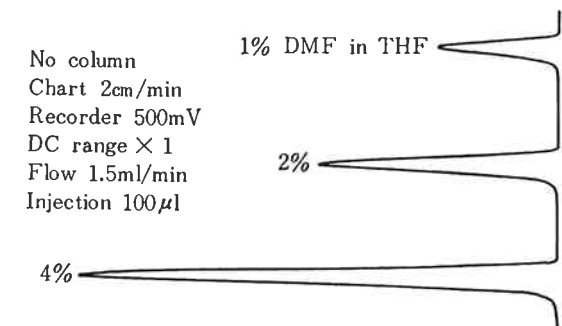


Fig. 9 Response of detector and solute concentration

Fig. 8 および Fig. 9 より $\Delta f < 100$ KHz の範囲では低濃度領域から高濃度領域まで直線性は十分であった。

[4] 溶質誘電率と応答 Δf の関係

計算によって求めた溶質誘電率と Δf (Fig. 6) と実際の測定データとの対応について調べた。

溶媒に T.H.F を用い溶質はベンゼン, アセトン, クロロホルム, DMF の4種で濃度はいずれも 1% のものを用いた。結果を Fig. 10 に示す。Fig. 10 の実線は実験に先立ち、カラムを接続した場合のピーク極大時には注入時より約 8 倍希釈されることを直接配管によるクロ

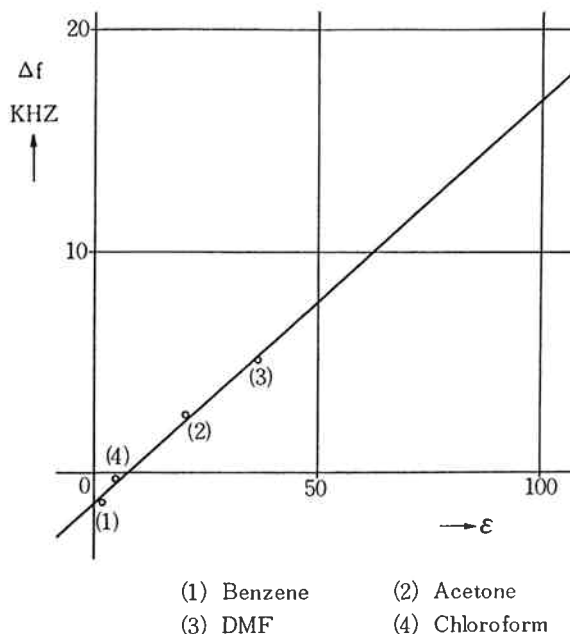


Fig. 10 Relation between response of detector and dielectric constant of solute

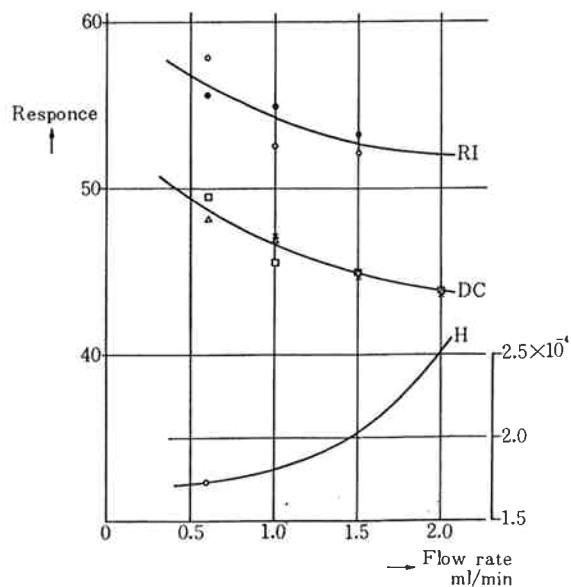


Fig. 11 Dependence of detector response on flow rate

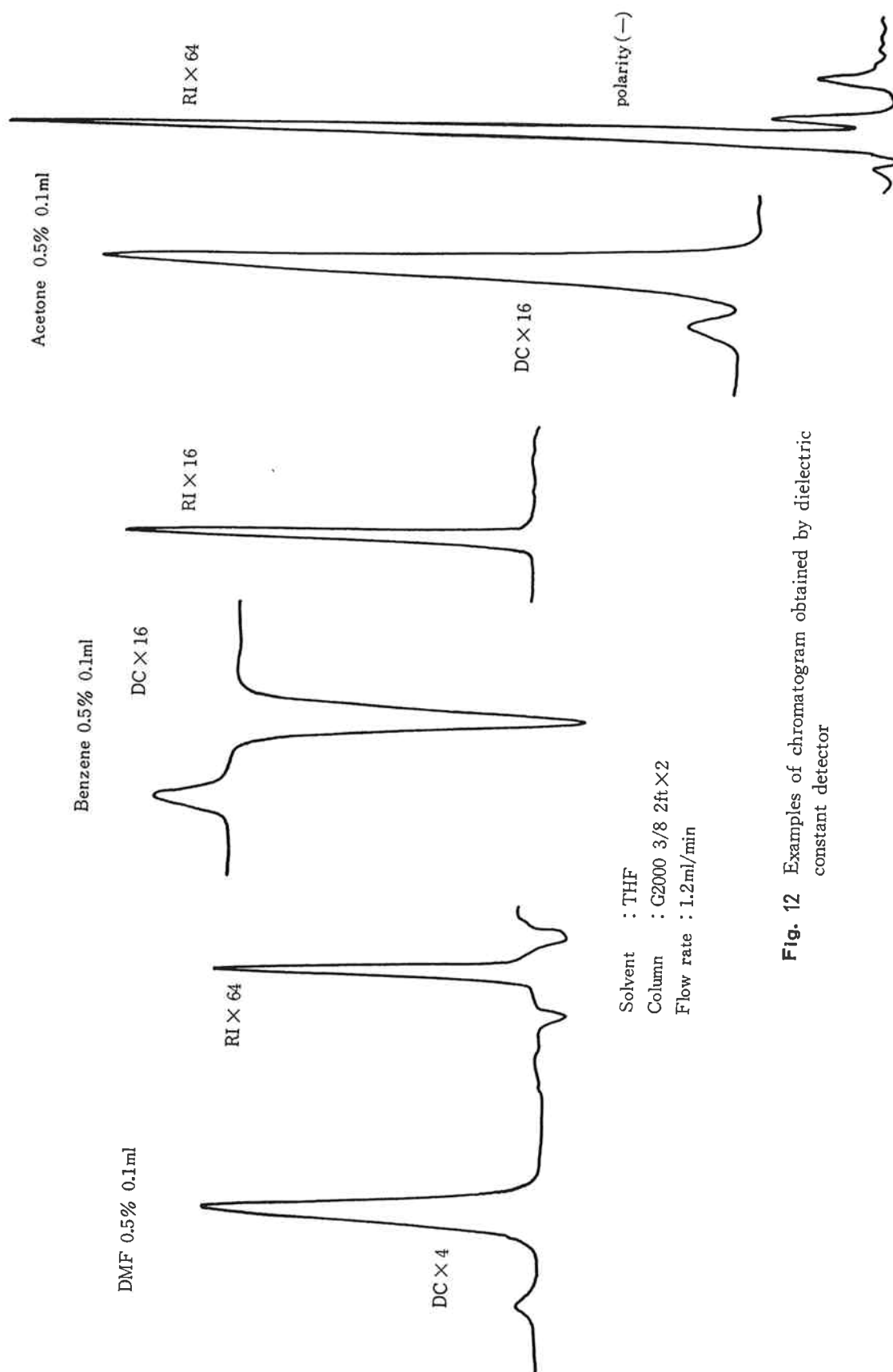


Fig. 12 Examples of chromatogram obtained by dielectric constant detector

マトグラムとの差から求め $m=1.25 \times 10^{-3}$ として df を計算したものであり良い一致を見た。

〔5〕 流速依存性

高速液体クロマトグラフで通常用いられる 0.5~2.0 ml/min の範囲の流速について検出器の応答について検討した。

溶質にはベンゼン,濃度1%のものをを用い注入量は100 μ l とした。結果を Fig. 11 に示す。

流速依存性を調べる場合, 流量が変化するとカラム効率が変化するため補正が必要であるが, ここでは市販の

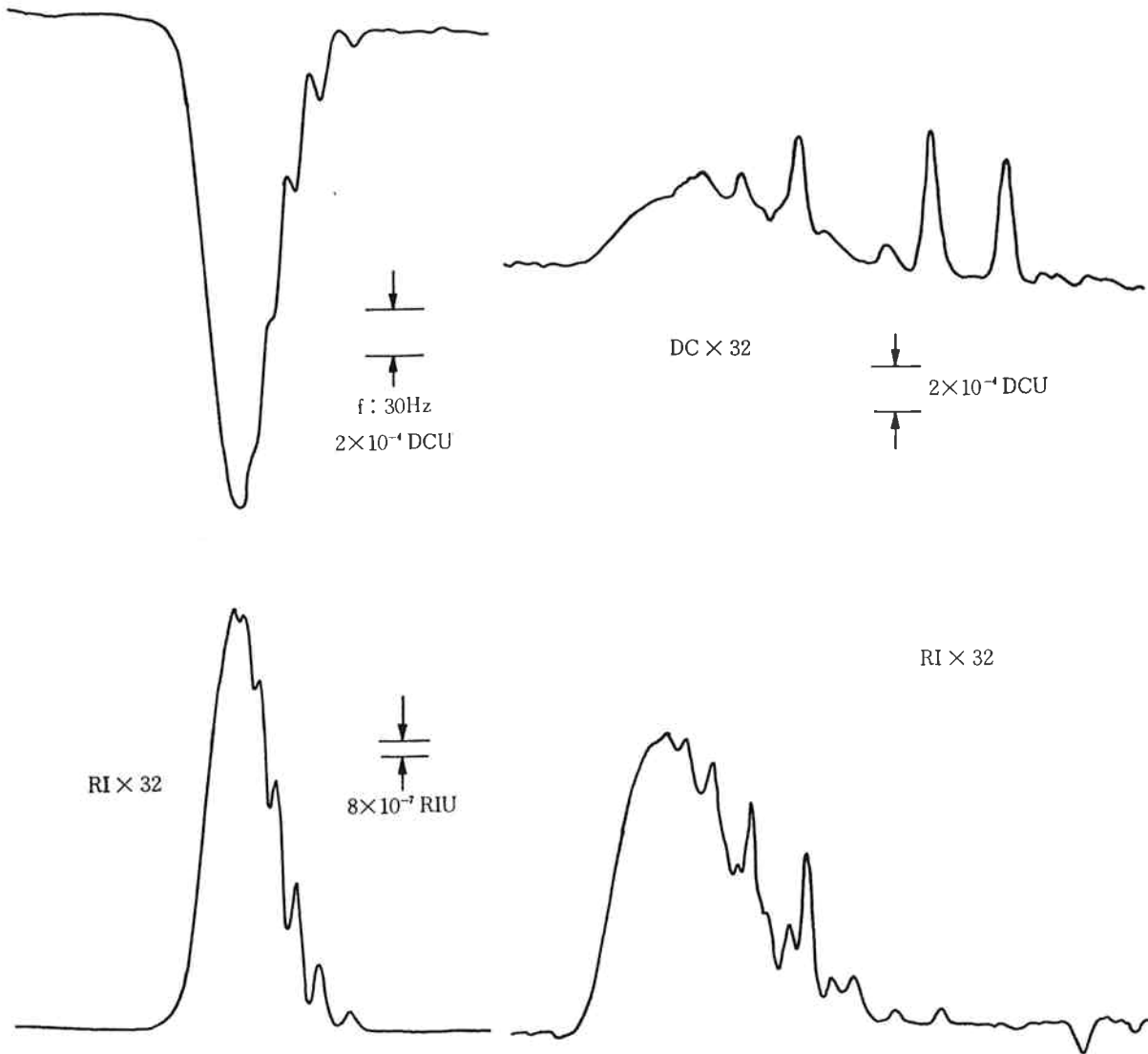
RI モニタとの比較にとどめた。

なお参考までに流量と理論段高さ(H)の関係を併せて図に示した。

〔6〕 クロマトグラムの測定例

Fig. 12 に3種の溶質についてのクロマトグラムを示す。RIとあるのがRIモニタ, DCとあるのが誘電率検出器の応答である。この例からもRIと誘電率は相補う関係にあることがわかる。

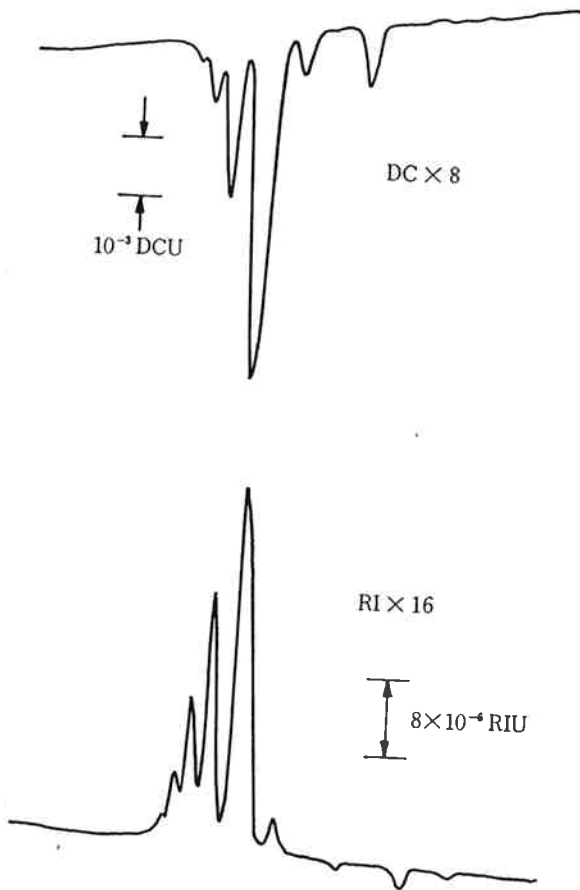
Fig. 13 は標準ポリスチレンA-1000, Fig. 14 はプロピレングリコール, Fig. 15 はポリエチレングリコール



Solvent : THF
 Column : G2000 3/8 2ft×2
 Flow rate : 1.0ml/min
 Injection : 0.1ml

Fig. 13 Chromatogram of polystyrene

Fig. 14 Chromatogram of propylene-glycol



Solvent : THF
 Column : G2000 3/8 2ft x 2
 Flow rate : 1.0ml/min
 Injection : 0.1ml

Fig. 15 Chromatogram of polyethylene-glycol

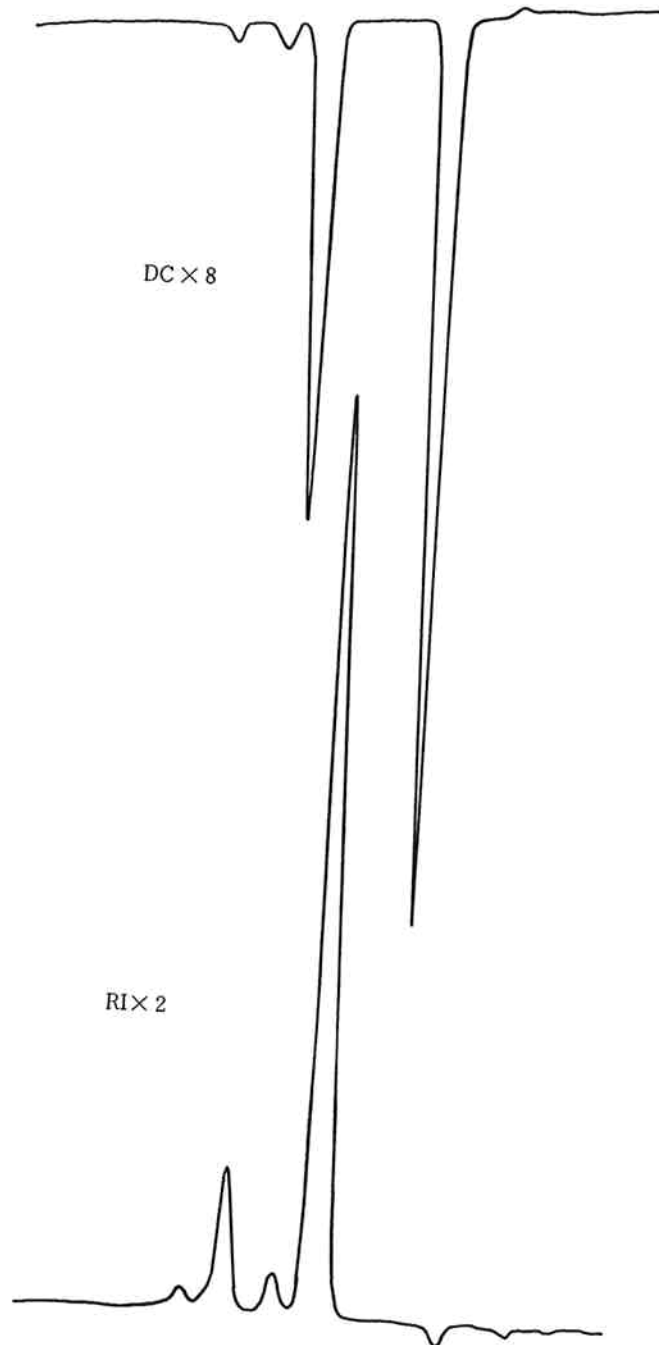


Fig. 16 Chromatogram of epoxy resin

PEG-200, Fig. 16 はエポキシ樹脂の測定例を示す。PEG-200 や A-1000 のように一連の化合物の場合のピークの対応は良いが、他の試料については完全な対応はなく、別の情報が得られることを示している。

[7] 検出限界

検出限界を求める場合、液体クロマトグラフ装置本体の送液系の脈動とうによる影響でノイズが増加すること

があり、システムとしての検出限界は判定し難い。

そこで誘電率検出器のみを運転した場合の S/N から十分ピークと判定出来る検出器の応答を求め $\Delta f = 10 \text{ Hz}$ を検出限界として設定した。誘電率変化に対する Δf の応答は式(4)および Fig. 5 より求め $\Delta f = 15 \text{ Hz}$ が $\Delta \epsilon = 1 \times 10^{-4} \text{ DCU}$ に相当することを確認した。

THF を溶媒に用いた場合の DMF, アセトン, ベンゼ

ンの検出限界は式(7)より算出し、それぞれ 2.3 ppm, 5 ppm, 12.4 ppm となる。

本装置の場合、最大感度レンジにおいてもノイズはほとんどないため更に2~5倍の感度アップは現状のままでも可能である。また本実験では移動相に汎用的な THF 溶媒を用いたが、 $\epsilon_m < 2$ の移動相例えば n-ヘキサンなどを用いた場合は、 10^{-5} DCU の検出は楽に行なえることから、カラムクロマトグラフのソフト開発次第で有望な高感度検出器であり、また $\epsilon_m > 2$ の移動相の場合でも、移動相溶媒と屈折率の極めて近い試料の測定、すなわち RI 検出器の感度が低い方面への応用は検討の価値があり今後期待できる検出器である。

5. あとがき

高速液体クロマトグラフ用検出器として誘電率という物理量に着目し装置を試作・検討した。

実際の結果は理論とよく一致し、安価で汎用的な検出器として製作できる見通しが得られた。今後この検出器が普及するか否かは、どのような試料の測定に最適かと

いったようなソフトウェアの確立次第であろう。またハードウェア面では本装置を足がかりとして、誘電率、電導率の同時測定が可能な無電極式センサを開発し有機溶媒から電解質溶液にいたるまでの溶液の測定を行なってみたいと考えている。

最後に本装置の試作にあたり御指導いただきました東京大学工学部工業化学科、仁木栄次先生、渡辺訓行氏、東正人氏、ならびに製作、検討に御尽力いただきました日理工業の丸山昇、旭計器工業の河村悦男両氏にも感謝の意を表します。

文 献

- 1) S. Haderka ; *J. Chromatogr.*, **54**, 357 (1971). *J. Chromatogr.*, **57**, 181 (1971).
- 2) R. Vespalec, K. Hana ; *J. Chromatogr.*, **65**, 53 (1972).
- 3) W. F. Erbeiding ; *Anal. Chem.*, **47**, 1983 (1975).
- 4) 難波田, 大栗, 中橋, 大西 ; “第18回液体クロマトグラフ研究会”.