

## クロマトグラフィーの発展

荒 木 峻\*

Short History of Chromatography

Shun ARAKI\*

よく知られているように「クロマトグラフィー」の名付親は M.S. Tswett である。Tswett は 1906 年<sup>1)</sup>にこの手法を用いて植物色素の分離を初めて行なった。すなわち、固体の吸着剤をつめたカラムの上端から、試料溶液を入れ、ついで溶媒を流すと、試料中の各成分は異なる速度でカラム中を移動し、ある時間後には各成分ごとに着色バンドを示す。

Tswett の発表に先立つ数年前に、類似の手法がすでに発表されている。すなわち、地質学者であり、鉱山技師の D.T. Day が石灰岩の粉末をつめたカラムに下から試料（石油原油）を押し込み分離する方法を、1900 年パリで開かれた第 1 回 International Petroleum Congress で発表し賞賛を博した。この発表がクロマトグラフィーの誕生であるとする人も多い<sup>2)</sup>。しかしながら、Tswett が溶媒で洗い流す手法を取り入れたことは画期的というべきであろう。

現在、クロマトグラフィーは、試料成分の着色の有無にかかわらず、つぎのように定義される。

クロマトグラフィーは分離法の 1 つであって、各成分は 2 つの相すなわち固定相（粒状吸着剤または多孔質粒状固体にまぶされた液体）と、それを通して動く移動相（液体または気体）の間に分配され、その割合が成分ごとに相違することにより分離がおこなわれる。

Day の成果は早速数人の研究者により受けつがれ、専ら石油成分の研究に用いられたが、その後の発展は見られず、とだえてしまった<sup>3)</sup>。一方 Tswett の方もしばらく忘れられていたが、4 半世紀たった 1931 年に R.

Kuhn, E. Lederer<sup>4)</sup> らにより受け継がれた。いずれの場合も移動相は液体、固定相は吸着剤である。一方同時期に Schufran<sup>5)</sup> らをはじめとする研究者は、移動相に気体、固定相に吸着剤を用いる方法を手がけている。これらはいずれも今日いう吸着クロマトグラフィーである（前者は液-固クロマトグラフィー、後者は気-固クロマトグラフィー）

1941 年 A.J.P. Martin と R.L.M. Synge<sup>6)</sup> は液体を固定相とする方法（液-液クロマトグラフィー）を開発し、ペーパークロマトグラフィー<sup>7)</sup> へと発展させ、その業績により 1952 年度のノーベル化学賞を受賞している。Martin らが、液-液クロマトグラフィーの最初の論文を発表したとき、すでに気-液クロマトグラフィーの有用性について示唆したけれども、その後数年間だれも注目するものがなく、彼ら自身が試みるまで何の発表も見られなかった。1949 年 Martin と A.T. James<sup>8)</sup> はこれに着手し、1952 年に Oxford で開かれた Congress for Analytical Chemistry で発表した。

Martin らは、キャリアーガスに窒素を用い、検出には自動滴定を利用して、低沸点の脂肪酸、アミン類、ピリジン類の分析を行なうとともに、いわゆる段理論を展開させた。ついで、N.H. Ray<sup>9)</sup> が、今日広く用いられているガスクロマトグラフの原型ともいえる、検出器に熱伝導度セルを用いる装置を考案し、炭化水素、アルコール、エステル、ケトンなどの分析を行なった。

Ray の発表からわずか 2 年後（1956）には、この手法は、過去 10 ないし 20 年間の分析化学の発展のうち最大のものとして賞讃されるようになり、その後の進歩発展が加わって有力な分析手段として急速に普及していった。

\* 東京都立大学工学部工業化学科（158 東京都世田谷区深沢 2-1-1）

\* Tokyo Metropolitan University (Fukasawa 2-1-1, Setagaya-ku, Tokyo, 158)

<sup>1)</sup> 今日その流れをくむものにシリカゲルによる石油留分の PONA（パラフィン/オレフィン/ナフテン/芳香族）分析法がある。

<sup>2)</sup> ペーパークロマトグラフィーの手法は 1834 年 F.F. Runge により、また 1867 年頃 Schonbein らによりすでに試みられているという<sup>10)</sup>。

いまさら説明するまでもないことであるが、ガスクロマトグラフは流路系で構成されており、キャリアガスという流体が装置内を流れている間に、分離と検出が行なわれる。このことが本手法をきわめて融通性に富む多彩なものにしているといえる。一般の分析機器の場合、改良が行なわれるとすると、分解能や感度のより高いもの、または、より使い易いものを目ざすにとどまることが多いが、ガスクロマトグラフの場合は、高性能カラムや高感度検出器のほか、バックフラッシュ、プレカットなど流路系の工夫、反応ガスクロマトグラフィー、自動ガスクロマトグラフ（プロセスガスクロマトグラフ）など、いろいろとにぎやかであり、どの場合も、ガスクロマトグラフが流路系で構成されているという特徴を生じたものである。これらに昇温法や自動分取、さらに連続ガスクロマトグラフが加わり、その発展はとどまるどころを知らない。これらの開発は、すでに、1950年代に芽ばえ、1960年代にはそのほとんどが実用化の段階に入ったことは驚嘆に値する。ここでは主として装置面から、その幾つかを取り上げ、進歩のあとをたどって見よう。

## 1. 検出器

装置面での新しい考案の中で検出器は最も多彩なものであり、40数種類に達している。そのうち、初期にRayによって取り入れられた熱伝導度セル（現在は熱伝導度型検出器、略称 TCD と呼ぶことが多い）は現在でも最も基本的な検出器である。しかし、van Deemter を先達として、ガスクロマトグラフィーの理論が展開されるに伴い開管カラム（Golay カラム）をはじめとする高性能カラムが開発されて高度分離に伴う条件として、試料の微量化が要求されるようになる一方、微量成分の分析の必要から、高感度検出器がつぎつぎと考案された。それらの中で、現在本邦で多用されているのは、水素炎イオン化検出器（FID）、電子捕獲型検出器（ECD）、炎

光光度型検出器（FPD）であろう。表 1 に TCD を加えて 4 種の検出器の特性の比較を示す。

近年各方面で利用されるようになったガスクロマトグラフ-質量分析計直結装置（いわゆる GC-MS）は、ガスクロマトグラフの側から見れば、質量分析計は検出器であり、未知成分の探索や有機化合物の構造決定に大きな役割を果たす。ガスクロマトグラフと質量分析計は分析対象になる試料の形態が共通しており、前者による高度分離（見方を変えれば注目成分の精製）と後者によるスペクトルを通じての判別が見事結びつけられている。クロマトグラムは、質量分析計の方の特定の  $m/e$  のイオン量または全イオン量を記録して得ることができる。

ガスクロマトグラフと質量分析計を結合するには、通常それらの間にいわゆるセパレーター（インターフェース）を置き、ガスクロマトグラフからの溶出成分をキャリアガスから分離して質量分析計に送り込む必要があるが、最近、質量分析計のイオン源に化学イオン化（Chemical ionization）方式を採用しセパレーターの不用のものも現われている。

## 2. 昇温法

通常ガスクロマトグラフの操作条件では、カラム温度は一定に保たれ、早く溶出する成分（低沸点成分）群は互に近接したすどいピークとして現われるが、遅れて溶出する成分（高沸点成分）群のピークは幅の広い互に間隔をおいたものになる。したがって、広い沸点範囲の試料をあつかう場合、高沸点の成分は保持時間が非常に長くなり、實際上分析不能となる。高沸点物の分離に好都合な高いカラム温度を選べば、低沸点物のピークは分離しない。その困難を避けるため、ガスクロマトグラフが普及しはじめた初期には、カラム温度を段階的に、または、連続的に上げる方法や、2 台ないし 3 台の装置を直列につなぐ多段階ガスクロマトグラフ（装置ごとにカ

表 1 主なガスクロマトグラフ用検出器の比較\*

種別	TCD	FID	ECD( <sup>63</sup> Ni)	FPD	
用途	汎用	有機化合物一般	ハロゲン S, N, O 化合物, 縮合環化合物	S 化合物	P 化合物
感度	10,000V. ml/g	0.01 クーロン/g	40 A. ml/g	400 クーロン/g	470 クーロン/g
ノイズ	$1 \times 10^{-9}$ V	$10^{-14}$ A	$2 \times 10^{-12}$ A	$4 \times 10^{-10}$ A	
検出下限	$2 \times 10^{-6}$ g/ml	$2 \times 10^{-12}$ g/sec	$10^{-18}$ g/ml	$2 \times 10^{-12}$ g/sec	$1.7 \times 10^{-12}$ g/sec
直線領域	$10^5$	$10^7$	50	なし	
操作条件	セル電流 250 mA 温度 220°C キャリアガス He 流量 20ml/min	印加電圧 300 V H <sub>2</sub> 流量 20 ml/min 空気 " 300ml/min キャリアガス N <sub>2</sub> " 20 ml/min	試料アルドリン キャリアガス N <sub>2</sub> 流量 35 ml/min	H <sub>2</sub> 流量 170 ml/min O <sub>2</sub> または空気 流量 20 ml/min N <sub>2</sub> 流量 80 ml/min	

\* 文献 8) に基づいて作成

ラム温度を変え、最初の装置を最高にしてつぎつぎと低い温度に設定する)などが考案されたが、結局手法として定着したのは連続昇温法である。この方法のうち直線的な連続昇温法によると、等温操作の場合の同族列内の沸点对保持比の対数の直線関係が、沸点と保持時間または溶出温度(成分がカラムから溶出するときのカラム温度)との間に見られ、同族列内の未知成分の沸点の推定が容易となる。これは精密蒸留試験に相当することをμオーダーの試料を用いてできることを意味する<sup>9)</sup>。

### 3. 反応ガスクロマトグラフィー

ガスクロマトグラフィーは化学反応に基づく従来の化学分析が役立たない炭化水素をはじめとする各種有機化合物の各個定量に偉力を発揮してきた。それは、分配係数の相違という化学反応とは直接関係のないものに根拠を置いているからにほかならない。しかし、それにも限界があり、ガスクロマトグラフの流路系内に化学反応を取り入れる手法が生れた。そのはしりは1955年に R.J. Kokes ら<sup>10)</sup>の行った炭素数8までの化合物の接触分解生成物の分析に始まる。

反応ガスクロマトグラフィーでは、分離用のカラムの前または後に反応カラム(リアクター)をもうけ、そこで化学反応を行なわせる。それにより、

1) 通常、ガスクロマトグラフの系外で行なう前処理を系内で行なうことにより、試料の微量化、分析の迅速化ができる。高分子化合物の熱分解生成物の分析はその好例である。

熱分解ガスクロマトグラフィーは、反応ガスクロマトグラフィーのうちで応用例の最も多い方法であるが、高分子化合物にかぎらず、揮発性の大きな化合物にも拡大適用されている。すなわち、一定の条件下(たとえば金細管中)での熱分解生成物のクロマトグラム——ピログラム——が化合物に1:1に対応することに着目して、これに質量スペクトルや赤外吸収スペクトルなどと同等の役割を果たさせようとする試みである。

2) 従来の化学分析のうち、目的成分が気体に変換されて分析される場合は、ガスクロマトグラフィーに結びつけて上記同様の効果が期待できる。元素分析のうち、炭素分析にいち早くガスクロマトグラフィーが導入されたのは当然のことといえよう、官能基分析のうち、アルコキシルの場合、従来ヨウ化物( $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$ )に変換されて分析されていたから、これもそのままガスクロマトグラフ系内で行なうことができる<sup>11)</sup>。元来、化学分析では、一般には揮発性化合物に変換されることは少ない。したがって、新たにそのような反応が発掘されればもっとガス

クロマトグラフが利用できるようになろう。

3) 定性的情報が得られる。ガスクロマトグラフィーは定量にはうってつけであるが、定性のよりどころは保持値だけであり、不安が残る。そのため、他の定性手段が併用される。化学反応は、選択性があるところから、利用できるものの一つであり、飽和・不飽和の区別、各種官能基の判別などに用いられる。反応カラムを通したときと通さないときのクロマトグラムを比較して、ピークの消滅・移動の有無などから判断する。

4) 検出の前段階に化学反応を取り入れ、高感度化・補正係数の単純化ができる。その一例はCOの水素気流中でのNi触媒による $\text{CH}_4$ への変換である。FIDはCOには応答しないが、 $\text{CH}_4$ になれば0.1ppmも直接分析できる。この手法は自動ガスクロマトグラフによる環境大気中の $\text{CH}_4/\text{CO}$ の監視に実用されている。

### 4. 向流連続ガスクロマトグラフ

ガスクロマトグラフにカラムからの溶出成分をキャリアーガスから分離して各個に取出す機構を取り付けければ、純物質を得ることができる。通常のガスクロマトグラフでは、試料の一回の注入量はμlのオーダーであるから、得られる純物質もごく少量にすぎず、分析化学的な目的以外には利用できない。そこでカラムの断面積を大きく(内径の小さいカラムを束にして用い、または、内径の大きいカラムを用いる)するとともに、試料の注入を一定時間間隔で繰返し行ない、これに分取機構を連動させることにより処理能力を増大させた自動ガスクロマトグラフが実現した。しかし、この手法では処理量の増大に限界があり、ここにガスクロマトグラフの連続化の構想が生れた。

P.E. Barker ら<sup>12)</sup>は1960年、カラムの塔頂から充てん物を徐々に落下させるとともに下端から乾燥空気を送り、試料はカラムの中央からポンプにより連続的に導入する装置をつくり、ベンゼン(沸点 $80.1^\circ\text{C}$ )とシクロヘキサン(沸点 $80.7^\circ\text{C}$ )を分離した。この方法では充てん物の破損が激しいので、ドーナツ型のカラムを回転させることにより無限に充てん物を移動させて同一の効果を得る方法を考案しさらに改良を重ねた<sup>13)</sup>。

一方、B.J. Bradley<sup>14)</sup>らは1963年、O. Grubner ら<sup>15)</sup>は1964年、充てん物を機械的に移動させる代りに、カラムの塔頂から液体(固定相液体に相当するもの)を充てん物(磁製、金属線など)の表面を薄膜として落下させるとともに、カラムの下端からキャリアーガスを液体に対して向流となるように流す方式を考案した。筆者の研究室でもこの方式を検討し興味ある結果を得ている<sup>16)</sup>。

この場合一本のカラムでは、ある分配係数を界として2つの部分に分離し得るだけであるから、多成分系中の1成分を分離精製するには、この方式を繰返す必要がある。試作した3成分系用装置では、たとえばシクロヘキサン-ベンゼン-トルエン(1:2:1)の3成分系中各成分とも99%以上のものが同時に得られた。現在のところ、処理量数 ml/hr であるが、実用には大型化する必要がある。また、高性能充てん物、液体、ガス循環方法の開発など今後に残されたいくつかの課題がある。

以上ガスクロマトグラフィーの発展のあとを若干具体的に述べてきたが、最後に、液体クロマトグラフィーの機器化についてふれておく。

ガスクロマトグラフィーの長足の進歩にくらべて、液体クロマトグラフィーの機器化は遅々として進まなかった。その一番の障害は、キャリアーガスに相当する溶離液の組成が単純でなく、しばしば混合溶媒が用いられ、また、その組成を時間的に変える(勾配溶離)ため、検出手段の適当なものになかなか得られなかったことである。もっとも、特殊な目的のものでは比較的早くから装置化された。それはイオン交換樹脂を用いるアミノ酸混合物の分離である。この場合の検出は、ニンヒドリンによる発色の吸光度測定で行なわれている。

1959年 Porath と Flodin は、デキストランとエピクロロヒドリンの交差結合反応で得られるゲル物質を用いるゲル透過クロマトグラフィーを開発した。この手法は水溶性高分子の分離、分子量測定など主として生化学方面で広く用いられてきた。1964年 J.C. Moore<sup>17)</sup> は、スチレンとジビニルベンゼンの共重合体を用いるゲルパーミエーションクロマトグラフィーを開発した。これは高分子化学関係で合成高分子の分子量分布の測定法として重要な手法である。この場合、検出には示差屈折計を用いている。このあたりから液体クロマトグラフィーは機器化へ大きく動きはじめる。

液体クロマトグラフィーは、ガスクロマトグラフィーと相補的な関係にあり、不揮発性物質や、熱的に不安定な物質にも適用できるが、前述の検出のむづかしさとともに、分離に時間がかかるのが欠点であった。1969年 J.J. Kirkland<sup>18)</sup> が創始した液体クロマトグラフィーの高速化は、この問題に答えたものであり、その後急速に発展して今日に到っている。高速化を可能にしたのは、多孔質の薄膜被覆型(ペリキュラー型)の充てん物や、粒径が小さく(10 μm) そろった多孔質球状の充てん物と高性能の高圧用送液ポンプの開発である。また、高速化の実現にもなって検出手段も前記の示差計屈折のほ

か、いろいろな考案がおこなわれた。すなわち、紫外吸収の測定、ケイ光強度の測定、熱検出、FIDの利用などである。しかしながら、これらの検出法はいずれも、適用範囲、感度で一長一短があり、きめ手になるのがないというのが現状であろう。特に、汎用でかつ高感度のものの出現が待望される。GC-MS にならい LC-MS の開発も進められている。高速液体クロマトグラフでは、数十から数百 kg/cm<sup>2</sup> の高圧を用いるので、ガスクロマトグラフにくらべて、充てん物の劣化が激しい。したがって、いかにして耐久性のあるものにするかについての工夫がいろいろ行なわれている。担体と液体を化学的に結合させる試みもその例である。

以上、クロマトグラフィーの発展のあとを主として機器の側からたどって見た。現在この技術は、化学、薬学、生物学、農学、医学およびそれぞれの応用分野で広く活用され、基本的な分離技術、分析技術としての役割を果たすにいたっている。このことは今後も変ることはないであろう。

(昭和51年11月24日受理)

#### 文 献

- 1) M.S. Tswett, *Ber. Deut. Botan. Ges.*, **24**, 316, 384 (1906)
- 2) S.V. Heines, *Chem. Technol.*, May 1971, 280
- 3) R. Kuhn, E. Lederer, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, LXIV, 1349 (1931)
- 4) P. Schuftan, *Die Technische Gasanalyse* (S. Hirzel) Leipzig. (1931)
- 5) A.J.P. Martin, R.L.M. Synge, *Biochem. J.*, **35**, 1358 (1947)
- 6) A.T. James, A.J.P. Martin, *Analyst (London)*, **77**, 915 (1952)
- 7) N.H. Ray, *J. Appl. Chem.*, **4**, 21 (1954)
- 8) C.H. Hartmann, *Anal. Chem.*, **43**, No. 2, 113A (1971)
- 9) F.T. Eggertsen, S. Groennings, J.J. Holst, *Anal. Chem.*, **32**, 904 (1960)
- 10) R.J. Kokes, H. Tobin, Jr, P.H. Emmett, *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 5860 (1955)
- 11) 荒木 峻, 鈴木繁喬, 北野大, *分析化学*, **18**, 608 (1969) [同様の手法で N-アルキル基の分析をおこなった同上, **19**, 488 (1970)]
- 12) P.E. Barker, D. Critcher, *Chem. Eng. Sci.*, **13**, 82 (1960)
- 13) P.E. Barker, D.H. Huntington, *J. Gas Chromatogr.*, **4**, 59 (1966)
- 14) B.J. Bradley, P.F. Tiley, *Chem. Ind.* May 4, 743 (1963)
- 15) O. Grubner, E. Kūcera, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **29**, 722 (1964)
- 16) 渡部勝憲, 千石智弘, 鈴木繁喬, 荒木峻, *日化誌* **1975**, 88
- 17) J.C. Moore, *J. Polymer Sci.*, **62**, 301 (1964)
- 18) J.J. Kirkland, Ed., *Modern Practice of Liquid Chromatography* (1971) (Marcel Dekker)