

1. 目的

クロマトグラフ法とは、物質の吸着力の差を用いて混合物を分離、分析する方法である。代表的なものとして、ペーパクロマトグラフ法、液体クロマトグラフ法、ガスクロマトグラフ法などがある。特にガスクロマトグラフ法は沸点 300 程度以下の有機物の混合物を、少量の試料で迅速に分析できる。また、ガスクロマトグラフィーの分解能は各種クロマトグラフ法の中で最高であり、また高感度である。[2] この実験の目的はガスクロマトグラフ法を用いて未知試料の定性、定量分析を行うことである。

2. 実験原理

2.1 ガスクロマトグラフ法の原理

ガスクロマトグラフ法の実験装置を図 1 に示す。分離カラムは金属管に試料を溶解する不揮発性液体 A を塗布した固体粒子 (固定相) が詰められた管である。分離カラムは恒温槽に導入されており試料は注入されると直ちに揮発する。分離カラムには常に一定の流速で A に溶解しないガス (移動相) が流されており、これをキャリアガスと呼ぶ。ここで試料注入口から少量の試料 B を注入すると、B の蒸気は直ちに A に溶解する。しかし直後に B を含まないキャリアガスに接するため B は直ちに揮発し移動するが、わずかに進んだところで再び A に溶解する。B はこれを繰り返しながら分離カラムから脱出し、検出器によって検出される。

2.2 定性分析

試料に溶解度の異なる物質 $B_1, B_2, B_3 \dots$ が含まれていたとすると、これらは異なる速度で溶解、揮発を繰り返すため次第に分離カラム内で分離していく。結果 $B_1, B_2, B_3 \dots$ は異なる時間 (保持時間) に分離カラムから脱出するため、検出器を用いて異なるパルスを検出できる。保持時間は各物質固有であり、事前に保持時間を調べておくことで未知物質の定性分析をできる。

2.3 定量分析

ピークの面積は成分の物質質量とその熱伝導率に依存する。このことから絶対検量線法、補正面積百分率法などの手法で定量分析を行える。絶対検量線法とは、物質質量、ピーク面積をプロットすることで検量線を作成し、これを用いて物質質量を直接算出する方法である。

補正面積百分率法とは、組成が既知な試料を用いて、各成分のピーク面積について標準物質のピーク面積との補正係数 F_i を (1) 式で計算し [4], (2) 式を用いて組成モル比を計算する手法である。

$$F_i = \frac{\text{標準物質のピーク面積}}{\text{成分 } i \text{ のピーク面積}} \times \frac{\text{成分 } i \text{ の物質質量}}{\text{標準物質の物質質量}} \quad (1)$$

$$\text{成分 } i \text{ のモル比 } (\%) = \frac{A_i F_i}{\sum_i A_i F_i} \times 100 \quad (2)$$

2.4 検出器

検出器としては熱伝導検出器 (TCD) が一般に用いられる。TCD はホイートストンブリッジ回路の 2 つの抵抗をそれぞれキャリアガス、キャリアガス + 試料蒸気で冷却することで構成される。キャリアガスと熱伝導率の異なる蒸気が流れると温度が変化し抵抗値が変化することで電位差が生じる。これを測定することで、試料の存在を検出できる。故にガスクロマトグラフ装置の出力は時間-電圧グラフになる。

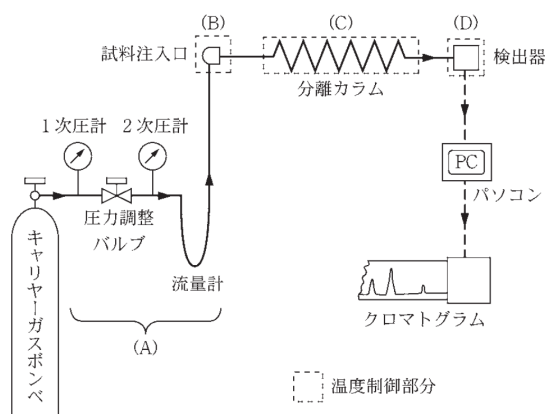


図 1 ガスクロマトグラフ法の装置 [2]

3. 実験方法

3.1 装置条件

固定相物質、キャリアガス流量 (mL min^{-1})、気化温度 ($^{\circ}\text{C}$)、カラム温度 ($^{\circ}\text{C}$)、検出器のブリッジ電流 (mA) を記録した。また用いる試料は以下の通りである。

- エタノール
- 1-プロパノール
- 1-ブタノール
- 1-ペンタノール
- 混合既知試料 ~
- 未知試料

各混合既知試料の容量比は表 1 の通りである。

表 1 混合既知試料の容量比

試料番号	容量比
	エタノール:1-プロパノール:1-ブタノール 1-ペンタノール
	1 : 0 : 1 : 0
	0 : 1 : 0 : 1
	1 : 1 : 4 : 4
	4 : 4 : 1 : 1
	1 : 1 : 1 : 1

3.2 保持時間の測定

マイクロシリンジでエタノールを採取したのち、マイクロシリンジの針を試料注入口に差し込みすばやくプランジャーを押し込む。同時にクロマトグラムの印字を開始することでエタノールの保持時間を記録した。同様に各アルコールについて保持時間を記録した。また、マイクロシリンジで試料を採取する際にはメタノールで洗浄した後、乾燥、各アルコールで共洗いしてから用いた。

3.3 絶対検量線・補正係数の測定

各物質の容量比が異なる混合既知試料について 2 回ずつクロマトグラムを作成した。各物質の密度、分子量から物質量を計算し、各物質量でのクロマトグラムの平均ピーク面積をプロットすることで絶対検量線を作成した。また、混合既知試料のエタノールを標準物質として (1) 式で各物質の補正係数 F_i を計算した。

3.4 未知試料の分析

未知試料についてクロマトグラムを作成した。実験 2 で測定した保持時間から各ピークと物質を対応させ、絶対検量線から物質量を算出し組成モル比を計算した。また、補正係数を用いてピーク面積から直接組成モル比を計算した。

4. 実験結果

4.1 装置条件

装置条件は表 2 の通りである。

表 2 装置条件

項目	数値
固定相	PEG1500
キャリアーガス (He) 流量	1.833 mL min ⁻¹
気化温度	150 °C
カラム温度	120 °C
検出器のブリッジ電流	100 mA

4.2 保持時間の測定

各物質の保持時間は表 3 の通りである.

表 3 保持時間

物質名	保持時間 (min)
エタノール	1.178
1-プロパノール	1.554
1-ブタノール	2.351
1-ペンタノール	3.857

4.3 絶対検量線・補正係数の測定

4.3.1 絶対検量線

混合既知試料 ~ について, 2 μ L あたりの各物質の物質量を (3) 式で計算した.

$$\text{物質量 (mol)} = \text{体積 (cm}^3\text{)} \times \text{容量比} \times \frac{\text{密度 (g cm}^{-3}\text{)}}{\text{分子量}} \quad (3)$$

各試料のクロマトグラムを作成し, 保持時間から各ピークと物質を対応させ, 物質ごとにピーク面積, 物質量をプロットする. これが絶対検量線である. 図 2 に絶対検量線を示す.

表 4 物質量と面積

試料	物質量 ($\times 10^{-6}$ mol)				平均ピーク面積 ($\times 10^5$ $\mu\text{V s}$)			
	エタノール	1-プロパノール	1-ブタノール	1-ペンタノール	エタノール	1-プロパノール	1-ブタノール	1-ペンタノール
	17.11	0.000	10.93	0.000	25.400	0.0000	22.013	0.0000
	0.000	13.39	0.000	9.229	0.0000	22.331	0.0000	20.058
	3.423	2.679	8.745	7.383	2.9745	4.3249	17.223	16.533
	13.69	10.72	2.186	1.846	20.858	19.434	4.2269	4.0926
	8.557	6.697	5.466	4.615	11.195	11.134	10.567	10.658

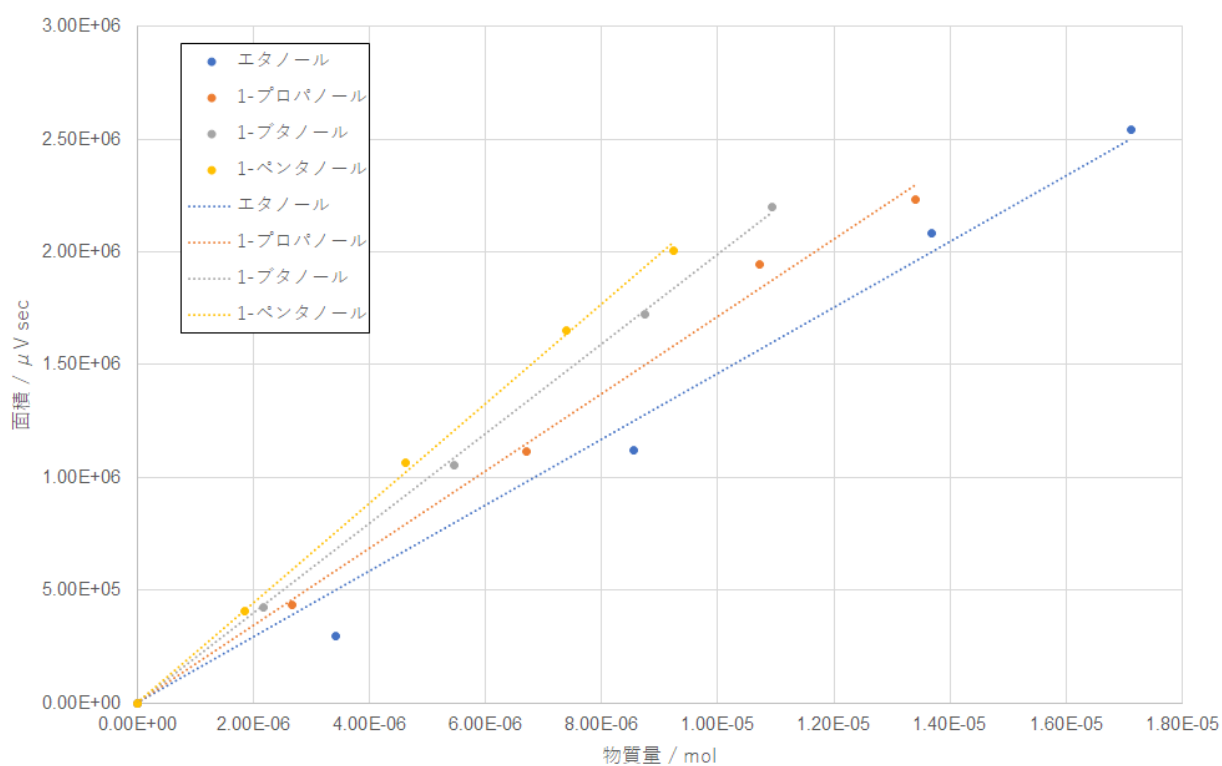


図 2 絶対検量線

最小二乗法より, 各物質に関する近似曲線は表 5 のようになった.

表 5 近似曲線

物質名	近似曲線
エタノール	$y = 1.46 \times 10^{11}x$
1-プロパノール	$y = 1.71 \times 10^{11}x$
1-ブタノール	$y = 1.99 \times 10^{11}x$
1-ペンタノール	$y = 2.21 \times 10^{11}x$

4.3.2 補正係数

4.3.1 の混合既知試料の結果と (1) 式から各物質について補正係数を計算した。表 6 にこれを示す。

表 6 補正係数

物質名	補正係数
エタノール	1.00
1-プロパノール	7.87×10^{-1}
1-ブタノール	6.77×10^{-1}
1-ペンタノール	5.66×10^{-1}

4.4 未知試料の分析

4.4.1 補正係数から算出

未知試料についてクロマトグラムを作成し、そのピーク面積、表 6 の補正係数と (2) 式から組成モル比を算出した。表 7 に結果を示す。

表 7 未知試料の組成決定 (補正係数から算出)

物質名	保持時間 (min)	平均ピーク面積 ($\times 10^5 \mu\text{V s}$)	組成モル比 (%)
エタノール	1.283	14.94	42.1
1-プロパノール	1.649	13.38	29.7
1-ブタノール	2.345	8.077	15.4
1-ペンタノール	3.542	8.021	12.8

4.4.2 絶対検量線から算出

4.4.1 のデータから表 5 の近似曲線を用いて物質質量、組成モル比を算出した。表 8 に結果を示す。

表 8 未知試料の組成決定 (絶対検量線から算出)

物質名	平均物質質量 ($\times 10^{-6} \text{ mol}$)	組成モル比 (%)
エタノール	10.2	39.6
1-プロパノール	7.79	30.4
1-ブタノール	4.07	15.8
1-ペンタノール	3.62	14.1

4.5 保持時間と炭素数・沸点の関係

図 3, 図 4 に $\log(\text{保持時間})$ と炭素数, 沸点の関係を示す.

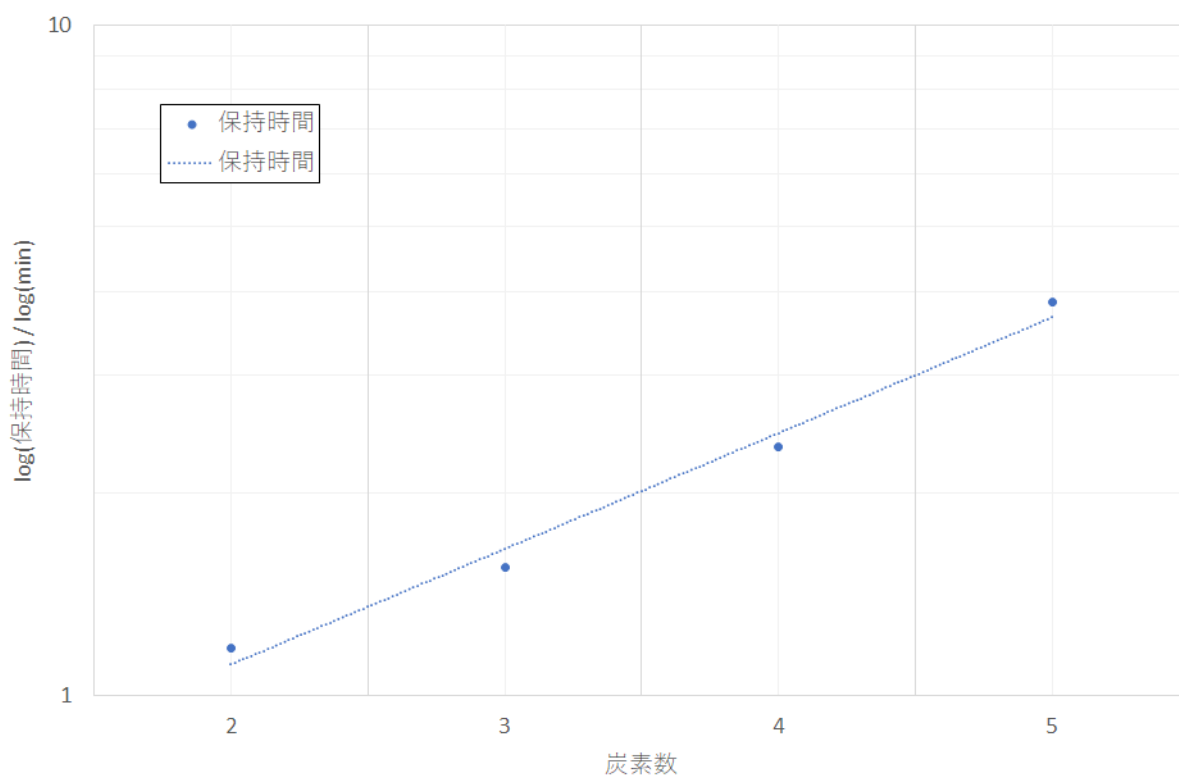


図 3 $\log(\text{保持時間})$ と炭素数の関係

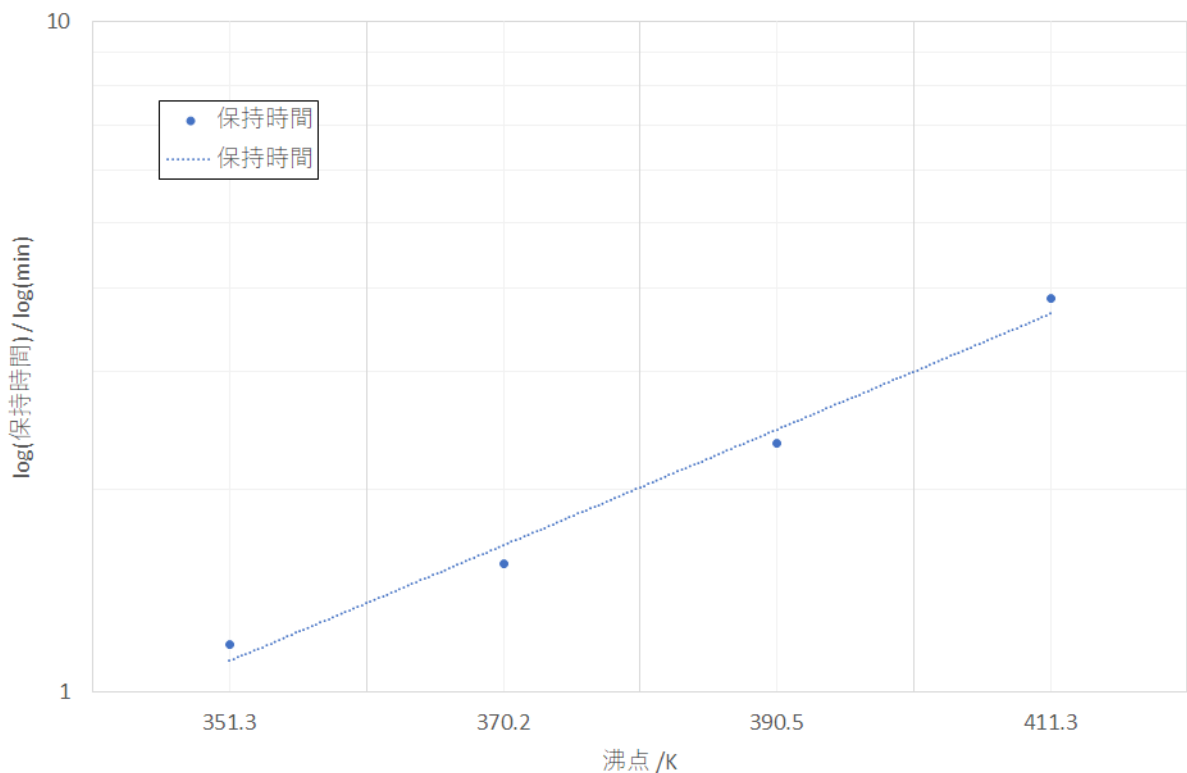


図 4 $\log(\text{保持時間})$ と沸点の関係

これらの関係には線形関係が見られる。

5. 考察

5.0.1 各手法の特徴

補正面積百分率法と絶対検量線法を比較すると、エタノールで 2.5%、1-プロパノールで 0.7%、1-ブタノールで 0.4%、1 ペンタノールで 1.3% の差が出ている。このことから、2 つの手法に大きな差異は見られなかった。両者の精度を検討すると、補正面積百分率法は 1 つの補正係数に対して 2 個のデータが用いられているのに対して、絶対検量線法は 1 つの検量線に対して 10 個のデータが用いられている。このため、平均の実験標準偏差 $\sigma_{\bar{x}}$ は (4) 式 [3] より偏差を δ_i として、絶対検量線法が 5 倍程度優れていると考えられる。

$$\sigma_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_i \delta_i^2}{n(n-1)}} \quad (4)$$

その他の特徴として以下のようなものが挙げられる。

補正面積百分率法

メリット

- 単一の混合既知試料から補正係数を算出可能

デメリット

- 補正係数を算出するクロマトグラムで大きな誤差が生じた場合、これを修正できない
- 補正係数の算出に全成分の物質量が既知な試料が必要

絶対検量線法

メリット

- 試料の成分が判明しており、絶対検量線がすでに存在する場合、新たに絶対検量線を作成する必要がない
- 複数のサンプルから検量線を作成したため、誤差は小さくなる

デメリット

- 絶対検量線の作成には複数の物質量が既知の多数の試料が必要
- 注入量の誤差が直接定量値に反映される

以上を踏まえ、測定誤差を少なくする方法として以下のようなものが考えられる。

- 検量線、補正係数の算出に用いるデータ数を増やす
- 未知試料に対してより多くのクロマトグラムを作成する
- 検出器のブリッジ電流を増やし、ピーク面積の分解能を高める

ガスクロマトグラフィーの性能指標として理論段数、分離度などが挙げられる [1] が、今回の実験ではピーク同士が完全に分離しており理論段数、分離度は十分であると考えられる。

5.1 保持時間と炭素数・沸点の関係

図 3, 図 4 の相関係数 R はそれぞれ 0.9925, 0.9949 であり双方に強い正の相関が見られる。沸点が高い物質とは蒸気圧の低い物質そのものであり、固定相中のモル濃度が高く、移動相中のモル濃度が低くなると考えられる。すなわち、沸点が高い物質ほど保持能が高くなるため、保持時間と沸点に正の相関があると考えられる。また、図 5 のように炭素数と沸点の間にも線形関係が見られる。炭素数が大きいほど分子量が大きくなり、分子間力が大きくなるためこの関係は自然である。故に炭素数と保持時間にも正の相関があることがわかる。

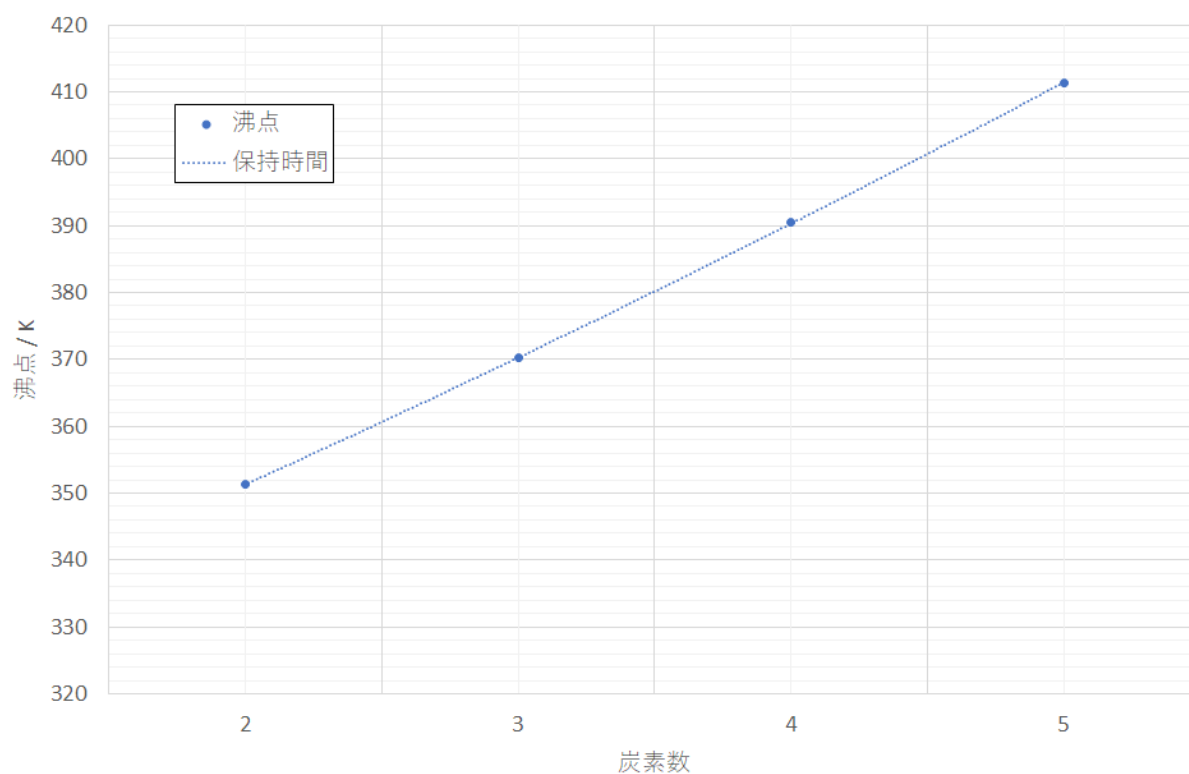


図 5 炭素数-沸点の関係

6. 結論

ガスクロマトグラフ法を用いて未知試料の定性, 定量分析に成功した。

参考文献

- [1] 日本化学会. 化学便覧：応用化学編, pp. 546–547. 丸善, 1986.
- [2] 日本化学会. 実験化学講座, 第 3.2 章, pp. 121–122. 丸善, 第 4 版, 1990.
- [3] 慶應義塾大学理工学部. 自然科学実験 物理学編, pp. 10–12. 学術図書出版社, 2019.
- [4] 慶應義塾大学理工学部. 理工学基礎実験, pp. 110–115. 学術図書出版社, 2020.