

416004

## 公告本

|      |          |
|------|----------|
| 申請日期 | 87.3.13  |
| 案 號  | 87103746 |
| 類 別  | 5/4      |

A4  
C4

(以上各欄由本局填註)

416004

## 發明專利說明書

|        |               |                                                                                                                      |
|--------|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 一、發明名稱 | 中 文           | 液體色譜法用電化學檢出器、液體色譜法裝置、及使用該裝置之分析方法                                                                                     |
|        | 英 文           | ELECTROCHEMICAL DETECTOR FOR LIQUID CHROMATOGRAPHY, LIQUID CHROMATOGRAPHY APPARATUS AND ANALYSIS USING THE APPARATUS |
| 二、發明人  | 姓 名           | (1)木村友彥<br>(2)城田修                                                                                                    |
|        | 國 籍           | 日 本                                                                                                                  |
|        | 住、居所          | (1)日本國神奈川縣橫濱市港北區新羽町1050番地<br>(2)同上                                                                                   |
| 三、申請人  | 姓 名<br>(名稱)   | 日商・資生堂股份有限公司                                                                                                         |
|        | 國 籍           | 日 本                                                                                                                  |
|        | 住、居所<br>(事務所) | 日本國東京都中央區銀座七丁目五番五號                                                                                                   |
|        | 代 表 人 姓 名     | 弦間明                                                                                                                  |

裝

訂

線

(由本局填寫)

承辦人代碼：

A6

大類：

B6

IPC分類：

本案已向：

日本國(地區) 申請專利，申請日期：

案號：

，☒有 ☐無主張優先權

1997,3,14

特願平9-61318

有關微生物已寄存於：

，寄存日期：

，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

## 五、發明說明(1)

本發明所屬之技術領域：

本發明係有關於一種液體色譜法用電化學檢出器，及液體色譜法裝置，特別是有關於一種將被分析試料之分離狀況，以電極反應作電化學性之檢出的液體色譜法用電化學檢出器，及使用該檢出器之液體色譜法裝置。

色譜法，係欲將複雜之混合物作分離或分析時所使用之技術方法之一。該技術方法含有種種之方法，惟，其共同之特徵為，該技術方法乃由經常移動之所謂之移動相，及被固定而不移動之固定相的2個空間所構成。而將欲作分離或分析之對象的被分析混合物試料，導入在移動相中，而與移動相一起與巨視上為固定相中，而微視上為與構成固定相之組件的表面，相接觸並予以移動。

此時，由於混合物試料中之含有成份，對於固定相之親和性各自相異，因此，通過固定相之速度於各成份間亦有所不同。即，具有較強之親和性之成份，就顯示較遲緩之通過速度。其結果，隨著移動相之移動，就分離為各自之成份。然後，將通過時間與標準試料等所顯示者相比較，即，各成份之鑑定就為可行，而可作混合物試料之分析與分離。

該色譜法乃由移動相與固定相之組合的選擇，而予以分類為幾個種類。因之，將移動相，若其被分析試料為可溶解之液體的溶媒者，乃稱為液體色譜法，其所能適用之被分析試料不少，其為非常有效之方法，乃廣泛被採用。

液體色譜法，依固定相之選擇，而在具體上，由於欲

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明(2)

選擇固體於固定相，或選擇液體，而再予以分類為液-固色譜法，與液-液色譜法，但，通常稱呼為液體色譜法時，一般乃指液-固色譜法。

液體色譜法，於通常，依由：依照作為移動相之溶劑的流動而作被分析試料之分離，而其乃填充多孔性之微粒子等的固定相之分析腔所成之分離部；對分離部予以輸送作為移動相之溶劑之送液部；以及，用以檢出分離部之被分析試料之分離狀況之檢出部，所構成。

習知，在液體色譜法上，欲達成分離部之更良好之分離能力，常成為課題，惟，近年來，與該分離部之分離能力之同時，對於在檢出部上僅存在極微量之物質之高感度檢出之需求更為積極。

在檢出部之檢出裝置，現在主要使用4種類。即，①依照被分析試料之紫外光吸收特性之差異，而予檢出被分析試料之分離狀況的吸光光度檢出器；②依照被分析試料之螢光發光特性之差異，而予檢出被分析試料之分離狀況之螢光檢出器；③依照被分析試料之電化學特性之差異，而予檢出被分析試料之分離狀況之電化學檢出器；④量測示差折射率，而予檢出被分析試料之分離狀況之示差折射率檢出器；等之4種類。其中，電化學檢出器因具有高選擇性及感度之故，近年來，在各種之微量分析，特別於糖及生體成份之分析上，已急速被利用。

電化學檢出器，乃量測在電化學上之活性之物質，於電極表面上受到氧化或還元之際的電極反應電流，而有電

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明(3)

流測定檢出器與電量測定檢出器。兩者通常均利用於定電位之電極反應者，但，電量檢出器欲獲得接近於100%之電解效率，是故，需要將電極之表面積予以增大，乃有SN比較難提高之缺點存在。

於電流測定檢出器方面，若將電極之表面積及所使用之單元容積，予以作微小化之設計，即，其電解效率較低者亦比電量檢出器可作高感度之檢出，因之，以極微量之被分析物質為其對象之生體成份之分析上，乃專用此型式之檢出器。因此，於本發明所有關之電化學檢出器，乃指該電流測定檢出器。

電化學檢出器雖因高感度而有其選擇性，但，其在使用上具有幾項課題。

首先，在電化學上，將活性目的之被分析物質，於一定之電位條件下予以氧化或予還元反應，而進行分析之場合，擔任電極反應之作用電極，在反應上所必要之程度的較長之時間內，應維持於一定電壓。此場合，在作為移動相之溶劑中的電化學性上，活性之痕量的不純物(金屬離子或其他之有機不純物離子及有氧化還元性之陰離子等)，雖為微量，但，累計某程度之時間，就集合或吸著在作用電極上。

其結果，於作用電極表面上作為其目的之被分析物質之氧化或還元反應，就被該吸著不純物所妨礙，乃對被分析物質無法供給充分之電位，而產生降低其實際之檢出感度的問題。因此，予以抑制如是之吸著不純物之妨礙，即

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明(4)

，抑制不純物吸著在作用電極上，並儘可能予以不吸著，為其重要課題。

又，欲在電極上產生充分之反應，乃作為移動相之溶劑應有良好導電性，因此，乃需要使用有充分之鹽濃度的極性溶媒。在使用如是之高極性溶媒之液體色譜法之模態上，依其固定相與被分析試料之間的相互作用之機構的差異，甚至為依填充劑之差異，而有逆相模態液體色譜法及離子交換色譜法等。在該等之模態上予以使用電化學檢出器之場合，其移動相通常乃使用水系溶劑。

但是，在習知之逆相模態液體色譜法及離子交換色譜法上，其移動相之特性均需要配合所欲分離之被分析物質之特性，而予以選擇。在具體上，即，控制溶劑之所謂之極性，或進行被分析試料之分離之同時，要作適當之變化等，而進行最適宜之分離，為其必要性。

如是溶劑極性之控制，通常乃在水中添加，如甲醇及乙腈等以有機物溶劑而言極性較高且可溶於水者，作為移動相溶劑而達成者。

但是，在習知之電化學檢出器，若使用於溶劑中含有多量有利溶劑者，作為移動相溶劑之時，在被分析試料之分析所獲得之色譜之基準線，就損失其穩定性，而使該檢出器之分析成為較困難。

其原因乃被認為，將作為參照電極之標準機能，被含有在溶劑之有機溶劑，尤其是被到達參照電極中之電極本體的有機溶劑，所下降。由於此，在參照電極上，不受到

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明(5)

作為移動相之含有溶劑的有機溶劑之影響，成為其課題。

本發明之目的：

本發明係欲提供，解決上述課題之新液體色譜法用電化學檢出器，及液體色譜法，為目的。

本發明係欲提供，抑制在作用電極表面上之不純物離子之吸著，而抑制以其而生對被分析試料的電極反應之妨礙，並且，使用以多量之有機溶劑作為移動相為可行之參照電極的液體色譜法用電化學檢出器，以及液體色譜法，為目的。

解決課題之本發明裝置：

申請專利範圍第1項之發明，係在液體色譜法用電化學檢出器，即由具有參照電極與作用電極及對極，所構成之3極式電位計所成之液體色譜法用電化學檢出器，其中，構成該3極式電位計之參照電極，乃由電極本體；保護該電極本體並予收納之內筒；以及，外筒之2個筒體所形成，內筒乃將該電極本體與電解液一起予以收納，而外筒即將該內筒與電解液一起予以收納之構成，藉此，將該電解本體，以2個電解液層與筒體，作雙重保護之雙重構造，

該作用電極乃利用連接在該作用電極之該裝置的電子電路之程式機能，而將電位予以作周期性變化，為其特徵。

於申請專利範圍第2項之發明之液體色譜法用電化學檢出器，其係由：作為電極電位之基準的參照電極；直接對被電解物質作用之作用電極；用以補助電解反應之對極

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明( 6 )

；分別支撐該參照電極與該作用電極及該對極之3種電極，並具有對該3種電極分別予以連繫之同時，將其兩端之開口部分別作為移動相之溶劑的流入口及流出口之內腔，而分別將流通該內腔中之該溶劑與該3種電極，作為接觸可行之單元；以及具有與該3種電極分別相連接之電位計、及電位產生電路、與電場電流測定放大電路之電子電路，所形成，

將流通該單元之該內腔中的溶劑中之被分析試料，由在該作用電極上之電極反應，予以氧化或予還元，並檢出依該氧化或還元反應而在該對極與該作用電極之間，所產生之電流，而進行被分析試料之檢出的液體色譜法用電化學檢出器上的其參照電極，係由電極本體、欲支撐該電極本體之支撐冶具、以不能浸出液體之部材所製成之該支撐冶具裝設用之裝設開口部，並且，有最少應將1個開口部份作為內開口部之筒狀體，而以碳材填充在該內開口部並予封塞，並在與該支撐冶具之間，將該電極本體與第1電解質溶液一起，予以確保該電極本體與該內筒外部之電氣性導通，而予密封收納之內筒；以及由不能浸出液體之部材所製成之該支撐冶具裝設用裝設開口部，並且，有最少應將1個開口部份作為外開口部之筒狀體，而以碳材將該外開口部予以填充並予封塞，並在與該支撐冶具之間，將收納該電極本體之該內筒，與第2電解質溶液一起，予以確保該電極本體與該外筒外部之電氣性導通，而予密封收納之外筒，所構成，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明( 7 )

該電子電路更具有將該作用電極之電位，予以作周期性變化為可行之程式機能，為其特徵。

申請專利範圍第3項之發明，係在申請專利範圍第2項之液體色譜法用電化學檢出器中，其前述程式機能具有前述電位產生電路，而前述電位產生電路乃以周期性，將在前述作用電極之產生電位予以變化為可行，為其特徵。

申請專利範圍第4項之發明，其液體色譜法裝置，係由：從外部之溶劑槽而將作為移動相之溶劑，予以抽上來並予通過成為該溶劑之流路之送液管，以作溶劑輸送之最少1個泵浦；在從該泵浦所輸送之溶劑中，將被分析試料予以注入並予溶解，而形成注入口之自動或手動操作均為可行之被檢物質注入裝置；將所輸送之溶劑中之被分析試料，依照溶劑之流通而予以分離為各含有試料成份，而最少亦有1個分析腔；以及以該分析腔所分離之被分析試料之分離狀況，欲予檢出之檢出裝置，所構成之液體色譜法裝置，而在該檢出裝置乃使用申請專利範圍第3項之液體色譜法用電化學檢出器，為其特徵。

申請專利範圍第5項之發明，係在申請專利範圍第4項之液體色譜法裝置中，其前述檢出裝置，係由：申請專利範圍第3項之液體色譜法用電化學檢出器；與表示將所檢出之被分析試料之分離狀況，而描繪色譜之記錄計，所形成，並且，具有欲調整作為移動相之溶劑的pH值，而與該裝置為另外所準備之pH調整用溶液予以抽出來供給於該裝置內之pH調整用泵浦，而在前述分析腔之被分析試

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明( 8 )

料於分離後，將放置在該被分離之被分析試料之環境，而能予設定在所期望之pH值，成為可行，為其特徵。

申請專利範圍第6項之發明，於使用液體色譜法裝置之分析方法，係使用將電解質溶解在有機溶劑及／或水，並予以調製，而予填充在外部之溶劑槽，並最少將1種溶劑作為移動相，再從該溶劑槽，最少應以1個泵浦予以抽上該溶劑，並通過成為該溶劑之流路的送液管，以作溶劑之輸送液；而在從該泵浦所輸送之溶劑，通過形成將被分析試料注入於該溶劑中之注入口的自動，或手動操作均為可行之被檢物質注入裝置，而將被分析試料注入並予以溶解；並且，最少使用1個色譜法用分析腔而將所輸送之溶劑中之被分析試料，順著溶劑之流動而分離為被分析試料中之各含有試料成份；再將於該分析腔所分離之被分析試料的分離狀況，顯示於由具有參照電極與作用電極及對極之構成的3極式電位計所成之液體色譜法用電化學檢出器，構成該3極式電位計之參照電極，乃由電極本體及保護該電極本體並予收納之內筒，以及外筒之2個筒體所成，而內筒將該電極本體與電解液一起予以收納，而外筒又將該內筒與電解液一起予以收納之構成，因此，具有將該電極本體以2個電解液層與筒體，作雙重保護之雙重構造，該作用電極乃利用與該作用電極相連接之該裝置的電子電路之程式機能，而將電位予以作周期性變化之液體色譜法用電化學檢出器，予以檢出，為其特徵。

申請專利範圍第7項之發明，係在使用申請專利範圍

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明( 9 )

第6項之液體色譜法裝置的分析方法中，乃使用與前述泵浦分別設置之最少有1個pH調整用泵浦，供給用以調整作為移動相之溶劑的pH之pH調整用溶液，至該送液管的前述分析腔，及連繫前述電化學檢出器之部位的內部，並由於在前述分析腔之分離，乃將分離為各含有成份之被分析試料，放置在所期望之pH環境下，再將被分析試料之分離狀況，依前述之電化學檢出器予以檢出，為其特徵。

依據申請專利範圍第1項、第2項、及第3項，即，使用內筒與外筒之雙重筒狀體，而將參照電極予以密封而作保護，為可行。此時，內筒與外筒之任一均具有以碳材作填充封塞之開口部，其內筒將電極本體與電解質液一起予以收納，而外筒即收納該內筒之同時，亦收納其本身與該內筒之間的電解質液。

填充有碳材之開口部，雖可防止參照電極所接觸之作為移動相的溶劑等外部環境的有機溶劑之浸入，但，仍可與該外部之電氣性導通，惟，對於參照電極而言，不得損傷其作為電極之性能。

由於此，欲不使電極特性降低，乃將參照電極所接觸之作為移動相的溶劑等外部環境之有機溶劑之浸入，依將保護用之筒體作為雙重構造，以作雙重之防止，乃能提供在實際上可防止有機溶劑到達構成參照電極之電極本體的參照電熱。

又，由於電位產生電路等具有程式機能，乃可使電子電路，任意變化供給至負擔電極反應之作用電極上的電位

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明 ( 10 )

，特別，可將其變化作為周期性，為可行。

因此，對應被分析試料之電化學特性，而將所定之電解電位於作用電極上維持一定時間之後，而在發生離子性等之不純物之吸著之前，欲予以防止其吸著，或使所吸著之不純物從電極脫離，乃予以變化作用電極上之電位，或將其極性予以變化，為可行。

此時，作用電極上之電位變化，乃由所期望之程式所進行，或予以作周期性變化，因此，僅於當電極上維持於所期望之電解電位之間，能容易進行電流之檢出。因此，對應於電位之變化，而於所期望之時點，作所期望之時間檢出，即，由於電極之變化而使電流檢出之不方便性，就不會產生。

如上述，對在參照電極所使用之電極本體，以雙重對有機溶劑作保護，而在實際上抑止有機溶劑到達(浸入)電極本體，由此，能將多量之有機溶劑使用為移動相，為可行之同時，對作用電極表面之外加電壓，予以作周期性之極性變化等，由於依所期望之變化而予以抑制不純物離子吸著在電極上，因之，乃能提供予以抑制因其而生對被分析試料之電極反應有妨礙之液體色譜法用電化學檢出器。

依據申請專利範圍第4項、第5項、第6項、及第7項之發明，即，於所使用之檢出器的參照電極，對於有機溶劑，乃以雙重保護其所使用之電極本體，而在實質上予以抑制有機溶劑到達電極本體，因此，可將多量之有機溶劑用作移動相，乃為可行。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

## 五、發明說明 ( 11 )

又，將外加於所使用之檢出器的作用電極表面之電位，予以作周期性之極性變化等，並予以作所期望之變化，而抑制不純物離子吸著在作用電極上，乃使因該等而生之被分析試料的電極反應之妨礙抑制，成為可行。

由於此，使用有機溶劑作為移動相之溶劑，乃成為可行，在分析腔可顯示高分離能力，乃能提供在電化學檢出器上能作被分析試料之高感度檢出的液體色譜法用裝置，及使用該裝置之液體色譜法之分析方法。

本發明之實施態樣：

使用圖面說明本發明之實施例。

首先，針對本發明有關之實施例的液體色譜法用電化學檢出器，作說明。

第1圖係表示本發明有關之實施例的液體色譜法用電化學檢出器之構成的概略圖。第2圖係表示本發明有關之實施例的液體色譜法用電化學檢出器上，所使用之參照電極之分解透視圖。

本發明有關之實施例的液體色譜法用電化學檢出器1，係由：成為電極電位之基準的參照電極2；直接作用於被電解物質之作用電極3；欲補助電解反應之對極4；分別支撐參照電極2與作用電極3及對極4之3種電極，且再對3種電極(2、3、4)分別予以連接該3種電極(2、3、4)，同時，具有將兩端之開口部分別作為移動相之溶劑的流入口及流出口的內腔5，而將流通內腔5中之該溶劑，與使3種電極(2、3、4)分別予以為接觸可行之單元6；以及分別與3

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明(12)

種電極(2、3、4)連接，而具有電位計7與電位產生電路8及電場電流測定放大電路9之電子電路10，所構成。

將單元6之內腔5中所流通之溶劑中的被分析試料，依在作用電極3上之電熱反應，予以氧化或還元，並由該氧化或還元反應，而檢出在對極4與作用電極3之間所產生之電流，以進行被分析試料之檢出者。

在該液體色譜法用電化學檢出器1上的參照電極2，係由：電極本體11；支撐電極本體11之支撐冶具12；具有由液體之浸出為不能之部材所成而作為支撐冶具12裝設用之裝設開口部13，並以另一開口部份作為內開口部14之筒狀體，而以碳材15將內開口部14予以填充與封塞，並與支撐冶具12之間，將電極本體11與第1電解質溶液一起，予以確保電極本體11與筒狀體外部之電氣性導通，而作密封收納之內筒16；以及，具有由液體之浸出為不能之部材所成，而作為支撐冶具12裝設用之裝設開口部17，並以另一開口部份作為外開口部18之筒狀體，並以碳材19予以填充與封塞外開口部18，而在與支撐冶具12之間，將收納電極本體11的內筒16，與第2電解質溶液一起，予以確保電極本體11與筒狀體外部之電氣性導通，並予密封收納之外筒20，所構成。

此時，電極本體11即使用氯化第1銀電極。而與電極本體11一起予以密封在內筒16中之第1電解質溶液，為將氯化銀予以飽和之氯化鉀溶液(濃度3.3 mol/l)。與內筒16一起予以密封在外筒20之第2電解質溶液為氯化鉀溶液(濃

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

## 五、發明說明(13)

度3.3 mol/l)。

對於內筒16與外筒20之材質方面，乃由非導電性之物質所構成，其可密封水溶液，長時間之使用後亦不會被電解質溶液所侵入，只要在所密封之電解質液中，及在所接觸之作為移動相之有機溶液中，成為不純物之物質不會溶入的穩定之材料，均可以。

在本實施例中，內筒16之材質為由四氟化乙烯，與六氟化丙烯之共重合體所成之樹脂，而外筒20之材質為三氟化氯乙烷所形成之樹脂。

電子電路10可使作用電極3之電位，作周期性變化，而在電位產生電路8具有程式機能，電位產生電路8乃可以周期性，使作用電極8之發生電位變化。

在本實施例上，對作用電極之電壓外加，乃予程式化並依脈波所作，而將作用電極3之電位，以所期望之數值維持於所期望之時間之期間後，再將其極性予以相逆並維持為同樣時間之期間，並將該過程設定為反覆。此時，電壓外加有關之脈波之頻率約為1Hz(在1秒鐘之間，正、逆之電壓外加為一週期)，而試料分析有關之電流檢出，乃僅在作用電極3維持在所期望之電位之時間內進行之。

又，電壓外加有關之脈波之頻率並不限於1Hz，可與被分析試料等之特性相配合而予以變化。

第3圖係表示在本發明有關之實施例的液體色譜法用電化學檢出器所使用的單元之分解透視圖，係表示參照電極之設置方法，及形成作為移動相之溶劑的流路之內腔的

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

頁

## 五、發明說明 ( 14 )

形成狀況等之圖。

單元6，係由：參照電極2、具有用以設置參照電極2之設置用開口部32、成為溶劑之出入口的2個送液用開口部33、突起部34而其內部為空洞之金屬製之單元滑塊31；欲將滑塊31設置在電化學檢出器1中所裝設部35；非導電性之樹脂製之單元墊板36、作用電極3、單元引導具37；及具有：絕緣座39、端子40之作用電極用之電壓抑制具38所成。

而參照電極2插入在開口部32並固定於單元滑塊31、電池墊板36與電池引導具37及電極抑制具38，乃使用突起部34並分別在其本身之內部所具有之孔44中，而插入其突起部34，因此，從單元滑塊31側起，而以單元墊板36、單元引導具38、及電極抑制具39之順序，固定在單元滑塊31上。

此時，作用電極3為金製，並嵌入於設在單元引導具37中之引導部41，而固定在單元墊板34與電極抑制具39之間。該時，電極抑制具39所具有之端子，就與作用電極3相接觸，乃使作用電極3與外部之電氣性導通，成為可行。又，在作用電極亦可使用白金不光滑碳。

單元墊板36，於與作用電極3相接之對應部份之內部，具有孔部42，該孔部42與單元滑塊31之送液用開口部32相重疊。當在單元滑塊31上予以固定單元墊板36、作用電極3、單元引導具38、及電極抑制具39之時，就在作用電極3與單元滑塊31之外壁之間，形成空隙。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明 ( 15 )

該空隙經由送液用開口部33，而形成為作為移動相之溶劑的流路之內腔的一部份，而使流通內腔之溶劑與作用電極3之接觸，成為可行，甚至，使用為被分析試料之分析的作用電極上之電極反應，成為可行。

由於此，對於單元滑塊31之構件，應選擇在酸性條件下及鹼性條件下，不會劣化之材質為佳。又，其一部份之對導電性部份容易使用的適當之部位，乃構成為對極4(在圖中未予特定位置)之故，應對酸及鹼較強之金屬為佳。

其次，說明有關本發明實施例之液體色譜法裝置，以及使用該裝置之分析方法。

第4圖係表示有關本發明實施例之液體色譜用裝置的構成之概略圖。

有關本發明實施例之液體色譜法裝置101，係由將作為移動相之溶劑從外部之溶劑槽102予以抽上來，並通過成為溶劑之流路的送液管103而作溶劑之輸送液的泵浦104、105，在從泵浦104、105所輸送之溶劑中，注入被分析試料而予以溶解，並形成注入口之自動或手動操作均為可行之被檢物質注入裝置106、將所輸送之溶劑中的被分析試料，順著溶劑之流動，而予分離為各含有試料成份之液體色譜法用分析腔107、以及欲檢出於分析腔107所分離之被分析試料之分離狀況的檢出裝置，所構成。而該檢出裝置，乃由上述之液體色譜法用電化學檢出器1，及欲描繪所檢出之被分析試料的分離狀況的色層譜(分離譜)之記錄計(未圖示)，所形成。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

## 五、發明說明 ( 16 )

液體色譜法用分析腔107，係可使用填充了矽膠(silica gel)或矽膠表面以十八烷基矽烷、或辛基矽烷、或將胺基、氰基、苯基、萘基等，與之結合而作化學修飾所形成之化學結合型填充劑，或由多孔性高分子所成之填充劑之分析腔，或填充了多孔性高分子粒之表面，導入磺酸基或H級銨(ammonium)基等之離子交換官能基，所形成之離子交換樹脂之分析腔等。

又，欲調整作為移動相之溶劑的pH，乃在裝置101之外，尚具有將pH調整用溶液抽上來，而供給至連接分析腔107與電化學檢出器1之送液管103部份的pH調整用泵浦108，而使被分析試料於分析腔107經分離之後，將該所分離之被分析試料所放置之環境，可行設定為所期望之pH值，由於此，在具有該pH值之環境下，當然，可行進行被分析試料之分離狀況之檢出。當不需要pH調整之場合，就可省略pH調整用泵浦108，而pH調整用溶液亦不使用。

在本實施例，乃將溶劑槽102分設2個，一方為水，而他方為有機溶劑等，分別填充別種之溶劑，並以所對應之2個泵浦104、105予以抽出，而在送液管103中予以混合，而形成移動相。而且，亦可行使用液體色譜法裝置101於分析作業中，將泵浦104與泵浦105之送液壓予以作變化，而使作為移動相之混合溶劑所含之有機溶劑之比率予以作變化。

又，溶劑之種類不必限制為2種，而以1種類亦可以，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

## 五、發明說明(17)

或以3種以上亦可以。其場合，對應於使用之溶劑或溶劑槽之數而決定所使用之泵浦數。

接著，使用有關本發明實施例之液體色譜法裝置，實際進行試料之分析，並對其效果作評價。第5圖為說明使用為分析之試料及其構造。

用作分析之試料為尿中之異丁苯丙酸代謝物，其為圖中之號碼(①~⑤)所示之5種。該5種代謝物各自具有類似之構造，但，代謝物①、②、⑤分別在其分子內攏抱一種糖，即葡萄糖醛酸。葡萄糖醛酸等之糖，於鹼基性環境下將解離氫離子，而成陰離子，而使一般之電化學性分析具有可能程度的電化學性活性。

因此，代謝物①、②、⑤分別因攏抱在分子內之糖(即葡萄糖醛酸)之效果，而在鹼性條件下具有電化學性之活性，而在分子內不攏抱葡萄糖醛酸之代謝物③與④，則不具有電化學性活性。但是，其任一項於分子內均具有源自異丁苯丙酸構造之苯環，因此，以紫外光作吸光度分析乃有其可行性。由於此，異丁苯丙酸代謝物①~⑤乃均於紫外光之吸光度分析中被檢出，但，依電化學檢出器，則僅選擇性地檢出代謝物①、②、⑤。

即，若進行電化學性分析，可在不受電化學不活性之不必要成份之妨礙下，以高感度而具選擇性地從具有類似構造之複雜混合物中檢出於分析上所必要之糖等而電化學活性之物質，而使藉分析所得有關被分析試料中之糖等之資訊正確性飛躍地提高。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

## 五、發明說明 ( 18 )

現說明異丁苯丙酸代謝物之分析條件。即，溶劑乃使用水與有機溶劑之乙腈，分別填充在各自之溶劑槽，並使用各對應之2個泵浦，予以混合而予形成移動相。而後，對於其混合比率，於分析作業中控制之，使其從所期望之初期混合比率，以所期望之速度，徐徐提高乙腈之比率而進行分析。

隨著，在由水與乙腈構成移動相之溶劑中，溶解濃度被調製成50 mmol/lit之作為電解質的磷酸二氫鉀，並將其酸性設定在pH 2.45，以抑止異丁苯丙酸代謝物(①~⑤)所具有之羧基(carboxyl基)使其氫離子免於解離，使分析腔中之分離充份。分析腔則使用內徑1.5 mm，長250 mm的所謂之逆相分析用分析腔(CAPCELL PAK C18 UG120)，分離作業中並保持在40℃。

在將異丁苯丙酸代謝物(①~⑤)分離後，為調整作為移動相之溶劑的pH值以便進行所求成份之陰離子化，乃以0.6規定之氫氧化鈉溶液作為pH調製用之溶劑。其次，將移動相之pH調整為13。

又，比較例，則以使用210 nm之紫外光之吸光度檢出器，在作為移動相之溶劑的pH未經調整之前，將於分析腔所分離之被分析試料之一部份予以分析，並與本發明有關之實施例所示之結果作比較。

其次，將異丁苯丙酸代謝物之分析結果，以所獲得之分離譜表示之。

第6圖係本發明實施例之分離譜與比較例之以吸光度

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

## 五、發明說明 ( 19 )

檢出器檢出之分離譜的比較圖。由第6圖可知，在5種尿中異丁苯丙酸代謝物中，僅葡萄糖醛酸攏抱體(①、②、⑤)可由本實施例之液體色譜法用電化學檢出器選擇性地檢出，此時，其基準線並無紛亂現象。

由上述結果可知，欲分析被分析試料中之糖或攏抱糖之物質時，被分析試料雖含有糖以外之多數成份，若使用在有機溶劑等分離上最適宜之溶劑，而進行最適宜之分離後，就可選擇性地檢出其糖，或攏抱糖之物質，而獲得正確之分析結果。

圖式之簡單說明：

第1圖係表示有關本發明實施例之液體色譜法用電化學檢出器之構成的概略圖；

第2圖係表示有關本發明實施例之液體色譜法用電化學檢出器，所使用之參照電極的分解透視圖；

第3圖係表示有關本發明實施例之液體色譜法用電化學檢出器，所使用之單元的分解透視圖；

第4圖係表示有關本發明實施例之液體色譜法裝置之構成的概略圖；

第5圖係在分析所使用之試料及其構造之說明圖；

第6圖係表示依有關本發明實施之分離譜(色層譜)，與依比較例之吸光度檢出器之分離譜之比較圖。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

衣

訂

## 五、發明說明 ( 20 )

## 元 件 標 號 對 照

|                  |                 |
|------------------|-----------------|
| 1...液體色譜法用電化學檢出器 | 32...設置用開口部     |
| 2...參照電極         | 33...送液用開口部     |
| 3...作用電極         | 34...突起部        |
| 4...對極           | 35...裝設部        |
| 5...內腔           | 36...單元墊板       |
| 6...單元           | 37...單元引導具      |
| 7...電位計          | 38...電極抑制具      |
| 8...電位產生電路       | 39...絕緣座        |
| 9...電場電流測定放大電路   | 40...端子         |
| 10...電子電路        | 41...引導部        |
| 11...電極本體        | 42...孔部         |
| 12...支撐冶具        | 44...孔          |
| 13、17...裝設開口部    | 101...液體色譜法裝置   |
| 14...內開口部        | 102...外部溶劑槽     |
| 15、19...破材       | 103...送液管       |
| 16...內筒          | 104、105...泵浦    |
| 18...外開口部        | 106...被檢物質注入裝置  |
| 20...外筒          | 107...液體色譜法用分析腔 |
| 31...單元滑塊        | 108...pH調整用泵浦   |

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

四、中文發明摘要(發明之名稱： 液體色譜法用電化學檢出器、液體色譜法裝置、及使用該裝置之分析方法 )

抑制作用電極表面上之不純物質的吸著，而充分保護參照電極上之電極本體，使液體色譜法用電化學檢出器，在有機溶劑中亦可使用。即，在以具有參照電極(2)、作用電極(3)，以及對極(4)之3極式電位計所構成之液體色譜法用電化學檢出器中，構成該3極式電位計之參照電極(2)，乃由電極本體(11)及保護電極本體(11)並予收納之內筒(16)，以及外筒(20)之2個筒體所形成，該內筒(16)收納電極本體(11)與電解液，而外筒(20)收納內筒(16)與電解液  
(接下頁)

英文發明摘要(發明之名稱： ELECTROCHEMICAL DETECTOR FOR LIQUID CHROMATOGRAPHY, LIQUID CHROMATOGRAPHY APPARATUS AND ANALYSIS USING THE APPARATUS )

An electrochemical detector for liquid chromatography which can be used in organic solvent is provided by retardation of absorption of impurities on the working electrode and sufficient protection of the electrode body in the reference electrode. Namely, in the electrochemical detector for liquid chromatography comprising a three electrodes-type potentiostat including the reference electrode 2, the working electrode 3 and the counter electrode 4, said electrochemical detector has the structure that the reference electrode 2, which constitutes said three electrodes-type potentiostat, is composed of the electrode body 11 and two tubes, one of

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

## 四、中文發明摘要(發明之名稱: )

(承上頁)

，藉此，具有將電極本體(11)，以2個電解液層與筒體之雙重予以保護之2重構造，而作用電極(3)，乃利用該作用電極(3)所連接之該裝置的電子電路(10)之程式機能，而使電位週期性地變化者。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

## 英文發明摘要(發明之名稱: )

which is the inner tube 16 which contains and protects said electrode body 11 and the other is the outer tube 20, and that said inner tube 16 and said outer tube 20 constitut together the double structure which provides double protection of said electrode body 11 by two layers of electrolytic solution and two tubes because said inner tube 16 contains said electrode body 11 with electrolytic solution and said outer tube 20 contains said inner tube 16 with electrolytic solution, and that said working electrode 3 can periodically change its potential according to the programing function provided by the electronic circuit 10 which is in the detector and connects with said working electrode 3.

訂

線

## 六、申請專利範圍

1. 一種液體色譜法用電化學檢出器，係由具有參照電極、作用電極、對極之三極式電位計所構成，其特徵在於：

構成該三極式電位計之參照電極，係由：電極本體；及，保護收納該電極本體之內筒與外筒之二個筒體所構成，內筒收納該電極本體與電解液，外筒外納該內筒與電解液，藉此，具有利用二電解液與筒體，雙重保護該電極本體之雙重構造；

該作用電極，利用該作用電極所連接之該裝置的電子電路之程式機能，可使電位週期性地變化者。

2. 一種液體色譜法用電化學檢出器，包含：

參照電極，係作為電極電位之基準；

作用電極，係直接作用於被電解物質；

對極，用以補助電解反應；

單元，分別支持該參照電極、該作用電極、該對極之三種電極，進而連繫各該三種電極，且具有內腔，該內腔之兩端開口部分別作為移動相之溶劑流入口及流出口，流通於該內腔中之該溶劑，可分別與該三種電極接觸；及，

電子電路，與各該三種電極連接，具有電位計、電位產生電路、電場電流測定放大電路，

利用在該作用電極上之電極反應，使流通於該單元之該內腔中之溶劑中之被分析試料氧化或還元，利用該氧化或還元反應，檢出產生於該對極與該作用電

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

## 六、申請專利範圍

極間之電流，以檢出被分析試料，其特徵在於：

該參照電極，包含：

電極本體；

支撐具，用以支撐該電極本體；

內筒，係由不能浸出液體之構件所構成，具有：

該支撐具安裝用之安裝開口部，及至少以一個開口部份作為內開口部，之筒體，該內開口部利用碳材填充封塞，在與該支撐具之間，確保且密封收納該電極本體與第一電解質溶液，及該電極本體與該內筒外部之電氣導通；及，

外筒，係由不能浸出液體之構件所構成，具有：

該支撐具安裝用之安裝開口部，及至少以一個開口部份作為外開口部，之筒體，該外開口部利用碳材填充封塞，在與該支撐具之間，確保具密封收納已收納有該電極本體之該內筒與第二電解質溶液，及該電極本體與該外筒外部之電氣導通；

該電子電路，更具有可使該作用電極之電位週期性變化之程式機能。

3. 如申請專利範圍第2項所記載之液體色譜法用電化學檢出器；其中，該程式機能係該電位產生電路所具有，該電位產生電路可使在該作用電極之產生電位變化。
4. 一種液體色譜法裝置，包含：

泵浦，用以將移動相之溶劑從外部之溶劑槽抽上，並通過成為該溶劑流路之送液管，輸送溶劑；

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

## 六、申請專利範圍

被檢物質注入裝置，可自動或手動操作，形成有注入口，用以將被分析試料注入由該泵浦輸送之溶劑中，使其溶解；

分析腔，根據溶劑之流動，將輸送溶劑中之被分析試料，分離成各含有試料成份；及，

檢出裝置，用以檢出利用該分析腔所分離之被分析試料之分離狀況，

其特徵在於，在該檢出裝置使用申請專利範圍第3項所記載之液體色譜法用電化學檢出器。

5. 如申請專利範圍第4項所記載之液體色譜法裝置，其中，該檢出裝置係由：如申請專利範圍第3項所記載之液體色譜法用電化學檢出器，及，用以描繪顯示檢出之被分析試料之分離狀況之色層譜之記錄計，所構成；進而，為調整移動相之溶劑的pH值，另備有pH調整用泵浦，用以抽取pH調整用溶液，供給至該裝置內，在該分析腔之被分析試料分離後，可設定放置該被分離後之被分析試料的環境，成為所希望之pH值。

6. 一種使用液體色譜法裝置之分析方法，包含：

填充於外部溶劑槽之至少一種移動相溶劑，用以將電解質溶解、調製於有機溶劑及／或水中，至少利用一泵浦從該溶劑槽抽取該溶劑，並通過構成該溶劑流路之送液管，輸送溶劑；

透過可自動或手動操作之被檢物質注入裝置，將被分析試料入口、溶解於由該泵浦送來之溶劑中，該

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

## 六、申請專利範圍

被檢物質注入裝置，形成用以將被分析試料注入該溶劑中之注入口；

至少利用一個色譜法用分析腔，根據溶劑之流動，將送來之溶劑中的被分析試料，分離成被分析試料中之各含有試料成分；

利用液體色譜法用電化學檢出器，檢出由該分析腔所分離之被分析試料之分離狀況，該液體色譜法用電化學檢出器係由具有參照電極、作用電極、對極之三極式電位計所構成；而構成該三極式電位計之參照電極，係由：電極本體、保護收納該電極本體之內筒與外筒之二個筒體所構成；內筒收納該電極本體與電解液，外筒收納該內筒與電解液，藉此，具有利用二電解液層與筒體雙重保護該電極本體之雙重構造；該作用電極，利用該作用電極所連接之該裝置的電子電路之程式機能，使電位週期性地變化。

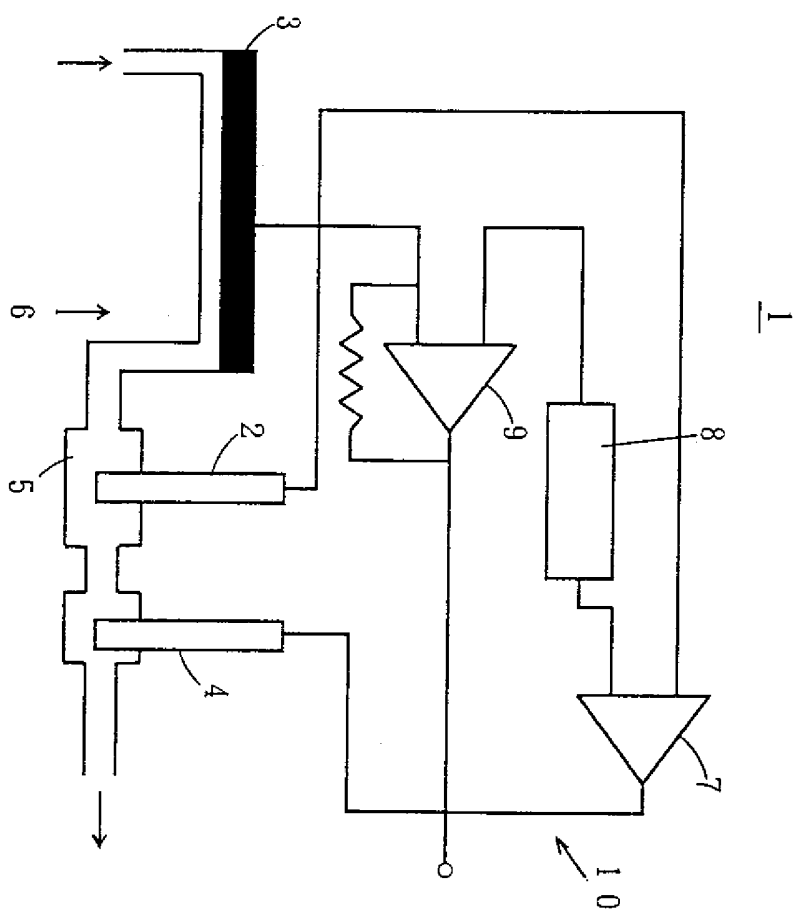
7. 如申請專利範圍第6項所記載之使用液體色譜法裝置之分析方法，其中，使用至少一個與前述泵浦分別設置之pH調整用泵浦，將用以調整移動相之溶劑的pH值之pH調整用溶液，供給至連繫該送液管之前述分析腔與前述電化學檢出器之部位的內部，藉由在該分析腔之分離，將分離成各含有成分之被分析試料，置於所希望之pH環境下，利用前述電化學檢出器檢出被分析試料之分離狀況。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

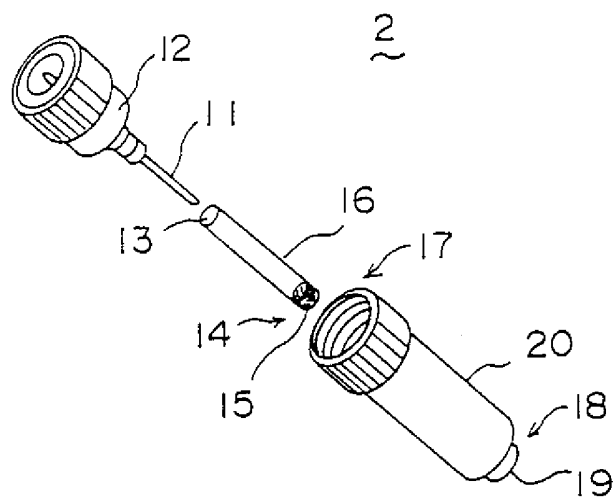
訂

線

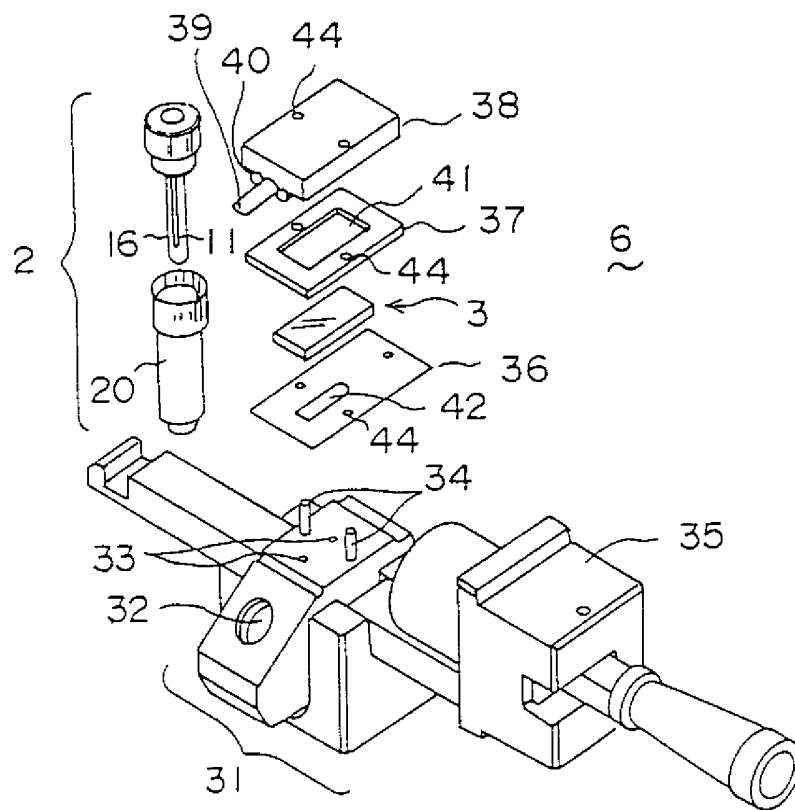


第 1 圖

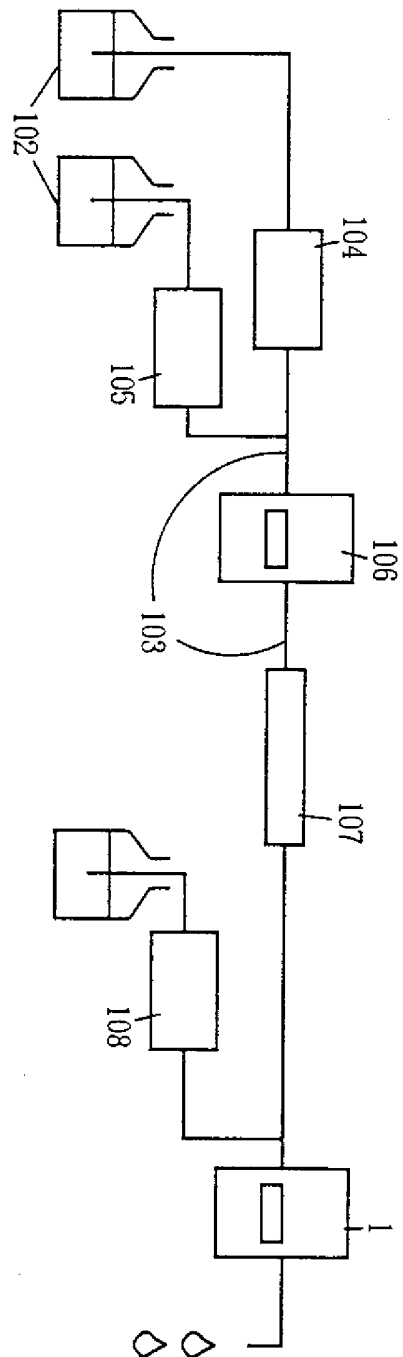
第 2 圖



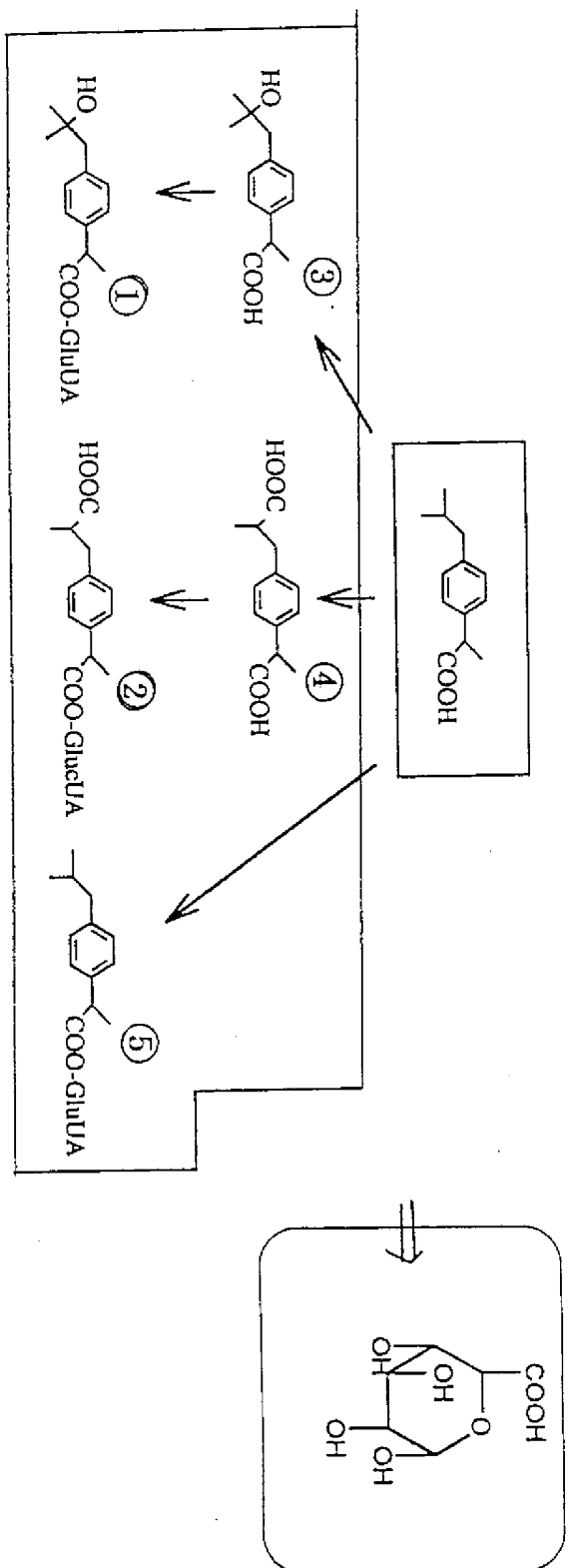
第 3 圖



第 4 圖



第 5 圖



第 6 圖

