

高分子化された誘導体化試薬のクロマトグラフィーへの応用



研究ノート

田中 稔*

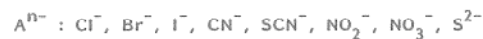
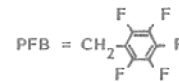
1. はじめに

クロマトグラフィーは変化に富んだ非常に有力な分離分析法であり、対象成分を気体状態で分離するガスクロマトグラフィー (GC) と、溶液状態で分離する液体クロマトグラフィー (LC) に大別される。ところで、どんな物質でもクロマトグラフィーの直接の対象になるわけではない。GC では揮発性で熱的に安定な物質でなければならず、LC では適当な溶媒に可溶なことが要求される。したがって、クロマトグラフィーの直接の対象とならない物質を化学反応により分析可能な物質に変える操作が行われている。これが誘導体化の主目的の一つである。また、分離挙動や検出器に対する応答性を変える目的にも誘導体化が行われており、これらの目的で用いられる試薬のことを誘導体化試薬と呼んでいる。GC ではこれら両目的のために誘導体が行われている。一方、LC では適当な溶媒に溶ければ特に制限がなく、誘導体化は専ら検出器に対する応答を高めるために行われている。

さて、筆者らは長年クロマトグラフィー用の誘導体化試薬の研究を進めており、種々の試薬を開発してきた。その中で、スルホン酸エステル (スルホネート) タイプの試薬は、誘導体化し得る対象が多く、種々の誘導体化が可能で非常に興味深い。本稿では、ここ2、3年来研究を続けているスルホネートタイプの高分子化された試薬を用いる無機陰イオンと脂肪酸の誘導体化について紹介する。

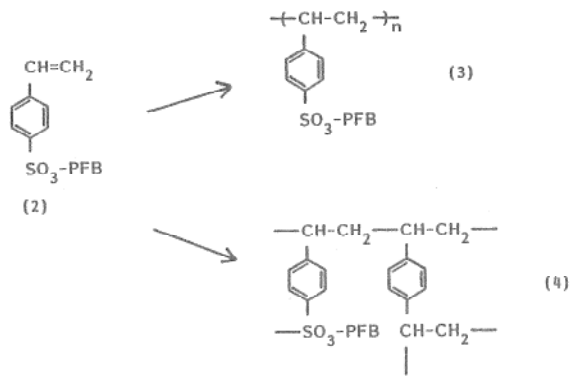
2. 無機陰イオンの誘導体化GC

無機陰イオンの中には環境化学や生化学など身近な分野で重要なものが多く、低濃度 (トレース) 分析が要求される。無機陰イオンは不揮発性であるため揮発性化合物に変えると同時に、トレース分析のため高感度検出器に応答し得る誘導体にする必要がある。GC の高感度検出器である電子捕獲検出器 (ECD) に応答し、熱的に安定で揮発性に富む化合物を与える誘導体化にはペンタフルオロベンジル (PFB) 化が最適と考え、ペンタフルオロベンジルトシレート (1) を合成した¹⁾ 下式に示す8種の無機陰イオンがPFB化されたが、ECDで定量できるのはNO₂⁻, SCN⁻, Br⁻, I⁻で、定量限界も100mg/mlレベルまでと予想以上に高かった²⁾ この感度の悪い原因は、誘導体化反応で大過剰に使用された未反応の試薬が誘導生成物と同時にGC装置に注入され、ECDの感度を低下させたと考えられる。したがって、装置に注入する前に過剰の(1)を除去できればECD本来の高感度が



期待できよう。しかし、反応溶液中に溶けている低分子量の(1)を分離除去するには、多大の時間と労力を要するし、精度をも損なうことになる。そこで、誘導体化試薬を高分子化し、反応終了後に反応混合物中の誘導体化試薬を再洗殿やろ過などで簡便、迅速に除去するため、PFB化試薬としてペンタフルオロベンジルp-スチレンスルホネート(2)の単独重合体(3)^{3,4)}

*田中 稔 (Minoru TANAKA), 大阪大学工学部, プロセス工学専攻, 助教授, 工学博士, 分析化学



と、ジビニルベンゼンとの共重合体(4)⁵⁾を合成した。誘導反応時に(3)は溶けているので再沈殿で、(4)は懸濁しているの遠心分離で生成物と容易に分離できる。表1に3種類の試薬による定量結果を示す。高分子試薬(3)、(4)の使用により、上述の期待通り高感度定量が可能となった。特に(3)を用いる方法は、水中の無機陰イオンを相間移動剤により(3)が溶けている有機相に抽出してPFB化するもので、抽出段階における濃縮も加わり、感度的にも誘導化されるイオンの数からも優れている。

表1 PFB化試薬の定量域の比較

イオン	定量域 (ng/ml)		
	(1) ^a	(3) ^a	(4) ^b
Br ⁻	150—1500	6.4— 64.0	16.0—160
I ⁻	400—4000	12.7—127	25.0—250
CN ⁻		13.0—130	
SCN ⁻	900—9000	5.8— 58.0	29.0—290
NO ₂ ⁻	600—6000	18.4—184	
S ²⁻		1.3—13.0	13.0—130

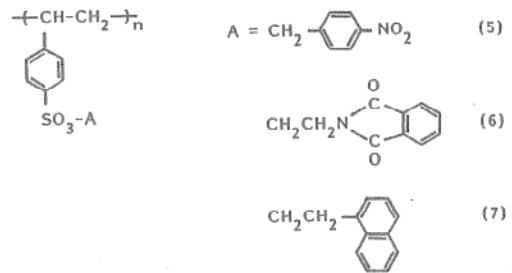
^a ジクロロメタン—水系。

^b アセトン水溶液系。

3. 脂肪酸の誘導体化LC

脂肪酸は生体内で重要な働きをしており、熱的に不安定な酸もあるためGCよりもLCで分析の方が都合がよい。LCでもっともよく使われている紫外吸収検出器用の高分子誘導体化試薬として(5)と(6)⁶⁾を、さらに高感度な蛍光検出器用の試薬として(7)⁷⁾をそれぞれ合成した。

これらの誘導体化試薬で直鎖飽和脂肪酸の定量を行ったところ、(5)では 2.0×10^{-5} M、(6)では



1.0×10^{-6} M、(7)では 1.0×10^{-7} Mまで定量可能であった。

図1に2-(1-ナフチル)エチル化した時のC₆—C₁₈脂肪酸のクロマトグラムを示す。低分子量のトシレート試薬では試薬の除去が困難なため、試薬ピークとC₆脂肪酸誘導体のピークが重なるためC₆脂肪酸の定量はできない(図1-B)。高分子試薬(7)では除去が容易なため、C₆脂肪酸誘導体のピークも現れ、定量できる。このように、LCにおいても、GCの場合と同様に試薬を高分子化した利点を確認された。

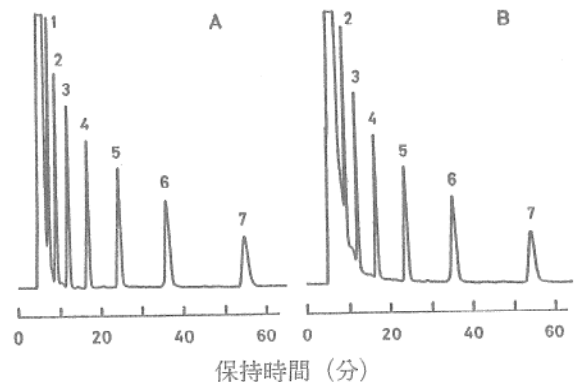


図1 脂肪酸誘導体のクロマトグラム

(A) 高分子試薬(7)、(B)トシレート試薬。

ピーク：1, C₆; 2, C₈; 3, C₁₀; 4, C₁₂; 5, C₁₄; 6, C₁₆; 7, C₁₈

4. おわりに

高分子化された誘導体化試薬は、反応系から容易に取り除くことができることを示してきたが、高分子鎖をうまくデザインすることにより高分子効果を利用する反応性の向上、隣接基による触媒効果の加味などが期待できる。今後の研究が望まれる。

参 考 文 献

- 1) K. Funazo, M. Tanaka, K. Morita, M. Kamino, T. Shono and H.-L. Wu, J. Chromatogr., 346, 215 (1985).
- 2) K. Funazo, M. Tanaka, K. Morita, M. Kamino and T. Shono, J. Chromatogr., 354, 259 (1986).
- 3) Y. Yasaka, T. Nagasaka, M. Tanaka, K. Funazo, H.-L. Wu and T. Shono, Anal. Sci., 3, 579 (1987).
- 4) M. Tanaka, Y. Yasaka, M. Kamino, T. Shono, K. Funazo and H.-L. Wu, J. Chromatogr., 438, 253 (1988).
- 5) M. Tanaka, M. Kamino, Y. Yasaka, K. Funazo, H.-L. Wu and T. Shono, Anal. Sci., 投稿中.
- 6) M. Tanaka, T. Matsumoto, K. Funazo, Y. Yasaka and T. Shono, Anal. Sci., 投稿中.
- 7) M. Tanaka, Y. Yasaka, K. Funazo and T. Shono, Fresenius Z. Anal. Chem., 投稿中.

