

UDC 543.544.42
547.582.2.06

ビニルエステル系ポーラスポリマーを用いる 安息香酸エステルのカロマトグラフィー

HPLC Study of Benzoate by Vinyl-estel Porous Polymer

高井 信 治*・高木 亮一郎*・山 辺 武 郎*

Nobuharu TAKAI・Ryoichiro TAKAGI and Takeo YAMABE

1. はじめに

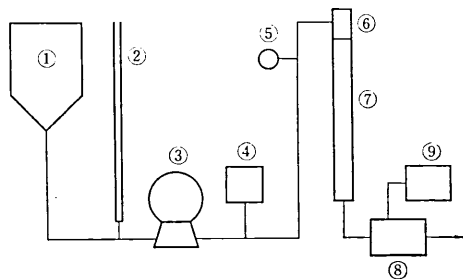
液体クロマトグラフィーは比較的古くから行なわれてきた分離法の一つであるが、近時新しい装置および充てん剤の開発に伴い高速化できるようになり、分離に要する時間は、ガスクロマトグラフィーとはほぼ同程度になってきた。したがってこの方面にたいする興味と期待はきわめて大きいけれども、分離条件を決めることは、一般に充てん剤と溶離液を組合せて考えなければならないので、ガスクロマトグラフィーに比べて易しくない。

液体クロマトグラフィーに使用する充てん剤は、現在二種類に大別される。一つはペリキュラー型と称し充てん剤の粒子の中での物質の拡散の影響をできるだけ小さくする目的で充てん剤の表面にのみ吸着層を持つものであり、もう一方はポーラス型と称し多孔質で粒子径をできるだけ小さくしたもので、ポーラスポリマーやポーラスシリカといわれており、一般にペリキュラー型は分離分析用、ポーラス型は分離分析および高速分取用として使用されている。

本研究はポーラス型充てん剤の基礎的な知見を得る目的でビニルエステル系のポーラスポリマーを用いた液体クロマトグラフィーによりその挙動をしらべた。

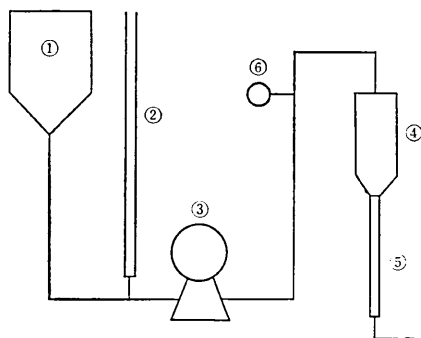
2. 実 験

実験に使用した装置の概略を図 1 に示す。ポンプは、ピストン型（協和精密）で脈流はエアバフファを用い



① 溶媒タンク ④ エアバフファ ⑦ ガラスカラム
② エアースキ ⑤ 圧力計 ⑧ 検出器
③ ポンプ ⑥ セブタム注入器 ⑨ 記録計

図 1 液体クロマトグラフィーの装置概略



① 溶媒タンク ③ ポンプ ⑤ ガラスカラム
② エアースキ ④ 充てん器 ⑥ 圧力計

図 2 充てん剤のカラムの充てん方法

てできるだけ小さくなるように工夫した。カラムは内径 3 mm、または 5 mm、長さ 500 mm のガラスカラムで検出はすべて 254 nm の吸光度 (LDC) を用いた。また配管はすべてテフロン管を使用した。また実験に使用した充てん剤は、TSK-Gel LS-140 (東洋曹達製) であらかじめ溶離液で平衡にした後、充てん器を用いて充てんした。図 2 に装置を示す。充てん剤と溶媒との比は約 1 : 3、充てん圧 90 kg/cm² 流速 3 ml/min. 充てん時間 60 分 (カラムの中に充てん剤が入るのは数分で完了するが、分解能のよいカラムを得るには、この位の条件で行なう必要がある。またこの条件はすべてのポーラスポリマーにたいして共通ではなく、充てん剤の種類によって溶媒比などは異なる) である。

実験に使用した試料は表 1 に示す種々の安息香酸エステルであり、溶離液には、*n*-ヘキサン、クロロホルム、メタノールをそれぞれ単独で使用した場合と、水-メタノール、および水 : メタノール : クロロホルムの混合溶媒を用いた。

3. 結果および考察

溶離液に *n*-ヘキサン、クロロホルム、メタノールを単独で使用した場合、*n*-ヘキサンをういた時が最も吸着性が大きく *t_R* (溶離時間) が大で、次いでメタノール、で最も吸着性の小さいのがクロロホルムであった。その結果を表 1 ~ 表 3 に示す。

* 東京大学生産技術研究所 第 4 部

研 究 速 報

表 1 ビニルエステル系ポラスポリマーにおける安息
香酸エステルの溶離挙動 (I) *n*-ヘキサン

試 料 名	t_R	$W/2$	$K'd$	N	H
安息香酸メチル	14.3	2.06	4.04	192.8	0.25
安息香酸エチル	11.4	1.72	3.21	175.7	0.28
安息香酸 <i>n</i> -プロピル	10.1	1.55	2.87	169.8	0.29
安息香酸 iso プロピル	8.6	1.38	2.43	155.3	0.32
安息香酸 <i>n</i> -ブチル	9.5	1.55	2.68	150.3	0.33
安息香酸 iso ブチル	8.8	1.38	2.48	162.7	0.30
安息香酸 iso アミル	8.3	1.38	2.34	144.7	0.34
安息香酸ベンジル	29.4	5.68	8.33	107.2	0.46
安息香酸ゲラニル	—	—	—	—	—

Column: 3φ×500 mm
packing material: TSK-Gel LS140
eluent: *n*-hexane
flow rate: 1 ml/min.

t_R : 溶離時間 $W/2$: ピークの半値幅
 $K'd$: 見掛けの分配係数 N : 段数
 H : 理論段当りの高さ

表 2 ビニルエステル系ポラスポリマーにおける安息
香酸エステルの溶離挙動 (II) クロロホルム

試 料 名	t_R	$W/2$	$K'd$	N	H
安息香酸メチル	3.3	0.43	0.94	227.1	0.22
安息香酸エチル	3.3	0.43	0.94	227.1	0.22
安息香酸 <i>n</i> -プロピル	3.3	0.43	0.94	227.1	0.22
安息香酸 iso プロピル	3.3	0.43	0.94	227.1	0.22
安息香酸 <i>n</i> -ブチル	3.2	0.39	0.91	263.9	0.18
安息香酸 iso ブチル	3.2	0.43	0.91	213.5	0.23
安息香酸 iso アミル	3.3	0.43	0.94	227.1	0.22
安息香酸ベンジル	3.3	0.43	0.94	227.1	0.22
安息香酸ゲラニル	3.2	0.38	0.91	177.0	0.28

Column: 3φ×500 mm
packing material: TSK-Gel LS140
eluent: Chloroform
flow rate: 1 ml/min.
記号: 表 1 に同じ

表 3 ビニルエステル系ポラスポリマーにおける安息
香酸エステルの溶離挙動 (III) メタノール

試 料 名	t_R	$W/2$	$K'd$	N	H
安息香酸メチル	5.3	0.69	1.50	234.0	0.21
安息香酸エチル	5.2	0.69	1.46	225.2	0.22
安息香酸 <i>n</i> -プロピル	5.5	0.73	1.55	225.8	0.22
安息香酸 iso プロピル	5.1	0.69	1.44	216.6	0.23
安息香酸 <i>n</i> -ブチル	5.9	0.92	1.66	163.1	0.30
安息香酸 iso ブチル	5.5	0.84	1.57	168.7	0.29
安息香酸 iso アミル	6.0	1.00	1.68	144.0	0.34
安息香酸ベンジル	8.8	1.54	2.48	130.6	0.38
安息香酸ゲラニル	8.8	2.16	2.48	66.4	0.75

Column: 3φ×500 mm
packing material: TSK-Gel LS140
eluent: Methanol
flow rate: 1 ml/min.
記号: 表 1 に同じ

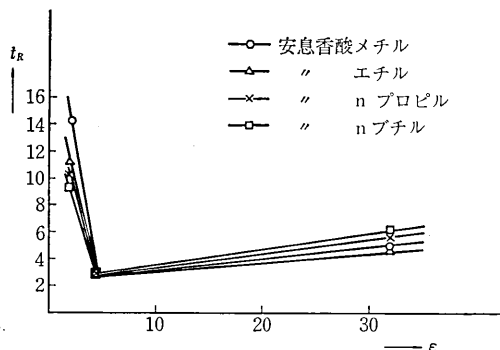


図 3 溶媒液の誘電率と t_R の関係

一般にシリカゲルのような極性吸着剤の場合は、溶離液の極性が大きい程吸着性が小さくなる傾向がある。すなわち吸着機構がほぼ水素結合にのみ基因するので、非極性溶媒で極性物質が強く吸着され、極性溶媒ではその吸着性は小さい。しかしこの実験では、極性が最も小さい *n*-ヘキサン (誘電率 $\epsilon=1.89$) が吸着性が大であることは当然であるが、極性の小さいクロロホルム ($\epsilon=4.81$) の方が極性の大きいメタノール ($\epsilon=32.63$) より吸着性が小さくなり上の結果と矛盾する。これは極めて興味ある結果であるので以下のように考察した。

この現象は二つの異った吸着機構に起因するものと思われる。すなわち *n*-ヘキサンを溶離剤に用いた場合には、充てん剤の極性活性点と試料の極性基との親和性が大きく作用し、メタノールを溶離剤に用いた場合には、充てん剤の非極性部分と試料の非極性部分 (この実験では、多分双極子-双極子の相互作用と思われる) との親和性が大きい。その中間にあるクロロホルムを用いた場合には、両方の親和性が適当に打消され、見かけ上の吸着性が小さくなったのではないかと考えられる。この関係を図 3 に示す。このことは水溶性の両性物質が水溶液中で pH の変化により酸性物質および塩基性物質としての挙動を示し、両方の解離基の解離のつり合った点、すなわち等電点で見かけ上の解離が小さくなる現象に酷似している。

つぎに液体クロマトグラフィーで実際に分離を行なうためには、図 3 の結果から *n*-ヘキサンよりさらに極性の小さい溶離剤が使用できればよいことが推定できるが、そのような溶離剤の種類はきわめて少なく、またそれらの誘電率の値も *n*-ヘキサンに比べてほとんど差がないことから、逆に極性をさらに大きくした溶離剤、すなわち水-メタノール系での液体クロマトグラフィーの挙動をしらべた。その結果を表 4 ~ 表 6 に示す。

この結果から水-メタノール系は t_R の差を大きくすることができたが、半値幅 ($W/2$) が大でテーリングが大きくなり、分離の条件としてはあまり好ましくなかった。そ

表 4 ビニルエステル系ポラスポリマーにおける安息
香酸エステルの溶離挙動 (IV)
メタノール:水=90:10

試料名	t_R	W/2	K'd	N	H
安息香酸メチル	17.4	2.03	1.77	293.9	0.17
安息香酸エチル	18.6	2.26	1.90	270.9	0.18
安息香酸 n-プロピル	20.1	2.90	2.05	161.0	0.31
安息香酸 iso プロピル	18.4	2.46	1.88	223.8	0.22
安息香酸 n-ブチル	25.1	3.92	2.56	164.0	0.30
安息香酸 iso ブチル	22.9	3.63	2.33	159.2	0.31
安息香酸 iso アミル	29.7	5.66	3.03	110.1	0.45
安息香酸ベンジル	—	—	—	—	—
安息香酸ゲラニル	—	—	—	—	—

Column: $5\phi \times 500$ mm
packing material: TSK-Gel LS 140
eluent: methanol : H₂O = 90 : 10
flow rate: 1 ml/min.
記号: 表 1 に同じ

表 5 ビニルエステル系ポラスポリマーにおける安息
香酸エステルの溶離挙動 (V)
メタノール:水=80:20

試料名	t_R	W/2	K'd	N	H
安息香酸メチル	26.0	3.83	2.65	184.3	0.27
安息香酸エチル	29.8	4.54	3.04	172.3	0.29
安息香酸 n-プロピル	40.5	6.82	4.13	141.1	0.35
安息香酸 iso プロピル	35.2	6.53	3.59	116.2	0.43
安息香酸 n-ブチル	62.5	12.5	6.37	100.0	0.50
安息香酸 iso ブチル	55.4	10.5	5.65	111.4	0.44
安息香酸 iso アミル	89.5	18.2	9.12	96.7	0.51
安息香酸ベンジル	—	—	—	—	—
安息香酸ゲラニル	—	—	—	—	—

Column: $5\phi \times 500$ mm
packing material: TSK-Gel LS 140
eluent: methanol : H₂O = 80 : 20
flow rate: 1 ml/min.
記号: 表 1 に同じ

表 6 ビニルエステル系ポラスポリマーにおける安息
香酸エステルの溶離挙動 (VI)
メタノール:水=70:30

試料名	t_R	W/2	K'd	N	H
安息香酸メチル	41.0	6.49	4.18	159.6	0.31
安息香酸エチル	46.5	12.6	4.74	54.5	0.91
安息香酸 n-プロピル	67.2	25.8	6.85	27.1	1.84
安息香酸 iso プロピル	45.9	12.6	4.68	53.1	0.94
安息香酸 n-ブチル	139.0	36.4	14.2	58.3	0.85
安息香酸 iso ブチル	—	—	—	—	—
安息香酸 iso アミル	—	—	—	—	—
安息香酸ベンジル	—	—	—	—	—
安息香酸ゲラニル	—	—	—	—	—

Column: $5\phi \times 500$ mm
packing material: TSK-Gel LS 140
eluent: methanol : H₂O = 70 : 30
flow rate: 1 ml/min.
記号: 表 1 に同じ

表 7 ビニルエステル系ポラスポリマーにおける安息
香酸エステルの溶離挙動 (VII)
メタノール:水:クロロホルム=75:20:5

試料名	t_R	W/2	K'd	N	H
安息香酸メチル	15.7	1.68	1.6	346.4	0.14
安息香酸エチル	16.4	1.68	1.6	378.0	0.13
安息香酸 n-プロピル	18.4	1.89	1.8	379.9	0.13
安息香酸 iso プロピル	16.3	1.72	1.6	360.9	0.13
安息香酸 n-ブチル	21.7	2.57	2.2	384.3	0.17
安息香酸 iso ブチル	—	—	—	—	—
安息香酸 iso アミル	24.7	2.72	2.5	330.6	0.15
安息香酸ベンジル	37.7	4.43	3.8	289.3	0.17
安息香酸ゲラニル	66.6	10.0	6.8	177.1	0.28

Column: $5\phi \times 500$ mm
packing material: TSK-Gel LS 140
eluent: CH₃OH : H₂O : CHCl₃ = 75 : 20 : 5
flow rate: 1 ml/min.
記号: 表 1 に同じ

表 8 ビニルエステル系ポラスポリマーにおける安息
香酸エステルの溶離挙動 (VIII)
メタノール:水:クロロホルム=70:20:10

試料名	t_R	W/2	K'd	N	H
安息香酸メチル	14.5	1.72	1.48	281.9	0.17
安息香酸エチル	14.9	1.75	1.51	288.9	0.17
安息香酸 n-プロピル	16.1	1.90	1.64	285.7	0.17
安息香酸 iso プロピル	14.7	1.75	1.50	281.3	0.17
安息香酸 n-ブチル	18.2	2.15	1.85	284.2	0.17
安息香酸 iso ブチル	17.1	2.03	1.75	283.3	0.17
安息香酸 iso アミル	20.1	2.26	2.04	316.1	0.15
安息香酸ベンジル	27.4	3.42	2.80	255.4	0.19
安息香酸ゲラニル	44.7	5.71	4.56	244.7	0.20

Column: $5\phi \times 500$ mm
packing material: TSK-Gel LS 140
eluent: CH₃OH : H₂O : CHCl₃ = 70 : 20 : 10
flow rate: 1 ml/min.
記号: 表 1 に同じ

表 9 ビニルエステル系ポラスポリマーにおける安息
香酸エステルの溶離挙動 (IX)
メタノール:水:クロロホルム=65:25:10

試料名	t_R	W/2	K'd	N	H
安息香酸メチル	14.3	1.40	1.46	417.3	0.11
安息香酸エチル	15.2	1.43	1.55	451.9	0.11
安息香酸 n-プロピル	16.7	1.60	1.70	435.8	0.11
安息香酸 iso プロピル	15.4	1.43	1.57	463.9	0.10
安息香酸 n-ブチル	19.2	1.86	1.96	426.2	0.11
安息香酸 iso ブチル	18.3	1.72	1.86	452.8	0.11
安息香酸 iso アミル	21.5	2.12	2.19	411.4	0.12
安息香酸ベンジル	27.0	3.00	2.75	324.0	0.15
安息香酸ゲラニル	43.3	5.35	4.41	262.0	0.19

Column: $5\phi \times 500$ mm
packing material: TSK-Gel LS 140
eluent: CH₃OH : H₂O : CHCl₃ = 65 : 25 : 10
flow rate: 1 ml/min.
記号: 表 1 に同じ

研 究 速 報

表 10 ビニルエステル系ポーラスポリマーにおける安息
 香酸エステルの溶離挙動 (X)
 メタノール：水：クロロホルム=60：30：10

試 料 名	t_R	$W/2$	$K'd$	N	H
安息香酸メチル	16.4	1.6	1.67	420.3	0.11
安息香酸エチル	17.9	1.8	1.83	366.5	0.13
安息香酸 <i>n</i> -プロピル	21.2	2.1	2.16	392.6	0.12
安息香酸 iso プロピル	19.5	1.9	1.99	384.1	0.13
安息香酸 <i>n</i> -ブチル	25.8	2.4	2.63	432.9	0.11
安息香酸 iso ブチル	20.6	2.6	2.10	384.9	0.13
安息香酸 iso アミル	30.0	3.0	3.06	384.5	0.13
安息香酸ベンジル	37.2	4.7	3.79	385.4	0.13
安息香酸グラニル	73.3	8.0	7.47	334.1	0.15

Column: 5φ×500 mm
 packing material: TSK-Gel LS 140
 eluent: CH₃ : H₂O : CHCl₃=60 : 30 : 10
 flow rate: 1 ml/min.
 記号: 表 1 に同じ

表 11 ビニルエステル系ポーラスポリマーにおける安息
 香酸エステルの溶離挙動 (XI)
 メタノール：水：クロロホルム=70：15：15

試 料 名	t_R	$W/2$	$K'd$	N	H
安息香酸メチル	11.3	1.4	1.16	260.6	0.19
安息香酸エチル	11.3	1.2	1.16	321.7	0.15
安息香酸 <i>n</i> -プロピル	11.8	1.3	1.20	314.9	0.15
安息香酸 iso プロピル	11.2	1.2	1.14	316.0	0.15
安息香酸 <i>n</i> -ブチル	12.3	1.4	1.26	308.8	0.16
安息香酸 iso ブチル	12.0	1.3	1.23	325.6	0.15
安息香酸 iso アミル	12.6	1.4	1.28	310.5	0.16
安息香酸ベンジル	15.5	1.8	1.58	290.1	0.17
安息香酸グラニル	17.7	2.1	1.77	274.6	0.18

Column: 5φ×500 mm
 Packingmaterial: TSK-Gel LS 140
 eluent: CH₃OH : H₂O : CHCl₃=70 : 15 : 15
 flow rate: 1 ml/min.
 記号: 表 1 に同じ

表 12 ビニルエステル系ポーラスポリマーにおける安息
 香酸エステルの溶離挙動 (XII)
 メタノール：水：クロロホルム=65：20：15

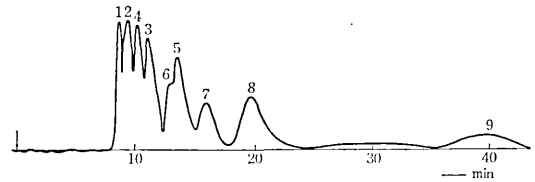
試 料 名	t_R	$W/2$	$K'd$	N	H
安息香酸メチル	16.7	1.6	1.70	395.3	0.12
安息香酸エチル	18.3	1.9	1.87	338.3	0.14
安息香酸 <i>n</i> -プロピル	21.0	2.0	2.14	411.7	0.12
安息香酸 iso プロピル	19.9	1.9	2.01	400.0	0.12
安息香酸 <i>n</i> -ブチル	24.4	2.5	2.48	375.0	0.13
安息香酸 iso ブチル	23.7	2.3	2.41	406.8	0.12
安息香酸 iso アミル	27.0	2.7	2.75	380.0	0.13
安息香酸ベンジル	30.9	3.0	3.15	402.6	0.12
安息香酸グラニル	50.1	5.8	5.11	290.4	0.17

Column: 5φ×500 mm
 packing material: TSK-Gel LS 140
 eluent: CH₃OH : H₂O : CHCl₃=65 : 20 : 15
 flow rate: 1 ml/min.
 記号: 表 1 に同じ

表 13 ビニルエステル系ポーラスポリマーにおける安息
 香酸エステルの溶離挙動 (XIII)
 メタノール：水：クロロホルム=55：30：15

試 料 名	t_R	$W/2$	$K'd$	N	H
安息香酸メチル	16.7	1.6	1.70	395.3	0.12
安息香酸エチル	18.3	1.9	1.87	338.3	0.14
安息香酸 <i>n</i> -プロピル	21.0	2.0	2.14	411.7	0.12
安息香酸 iso プロピル	19.9	1.9	2.01	400.0	0.12
安息香酸 <i>n</i> -ブチル	24.4	2.5	2.48	375.0	0.13
安息香酸 iso ブチル	23.7	2.3	2.41	406.8	0.12
安息香酸 iso アミル	27.0	2.7	2.75	380.0	0.13
安息香酸ベンジル	30.9	3.0	3.15	402.6	0.12
安息香酸グラニル	50.1	5.8	5.11	290.4	0.17

Column: 5φ×500 mm
 packing material: TSK-Gel. LS 140
 eluent: CH₃OH : H₂O : CHCl₃=55 : 30 : 15
 flow rate: 1 ml/min.
 記号: 表 1 に同じ



- 1. 安息香酸メチル
- 2. 安息香酸エチル
- 3. 安息香酸 *n*-プロピル
- 4. 安息香酸 iso プロピル
- 5. 安息香酸 *n*-ブチル
- 6. 安息香酸 iso ブチル
- 7. 安息香酸 iso アミノ
- 8. 安息香酸ベンジル
- 9. 安息香酸グラニル

Column. 5φ×500 mm
 eluent. H₂O : CH₃OH : CHCl₃
 30 : 60 : 10
 flow rate. 1 ml/min

図 4 水-メタノール-クロロホルム系溶離剤による
 安息香酸エステルの分離実験

ここでテーリングの影響をできるだけ小さくすること、すなわち半値幅の値 ($W/2$) を小さくする目的で、クロロホルムを加えて、その影響について調べた。結果を表 7 ~ 表 13 に示す。表 7 ~ 表 13 で最も理論段数 (N) の高い値すなわち H の小さい値が得られたのは、メタノール、水、クロロホルム 65 : 25 : 10 であった。また最も好しい分離性を示したのは、メタノール、水、クロロホルム 60 : 30 : 10 でその結果を図 4 に示す。

図 4 の結果から後半のピークは完全に分離しているが前半の分離は不完全である。したがって完全分離を行なうためには前半と後半で溶離液の組成を変えるかまたはグラジュエント法 (連続的に溶離液の組成を変える方法) を行う必要がある。

(1974 年 4 月 1 日受理)