

Application News

No. L549

高速液体クロマトグラフィー

Shim-pack™ GIST Phenyl カラムを用いた クレゾール位置異性体の分析

高速液体クロマトグラフィーで広く用いられている逆相クロマトグラフィーは、様々な化合物に適応が可能です。逆相クロマトグラフィー用のカラム充填剤には、シリカゲルを単体としてアルキル基などの官能基を化学結合させたものを用い、オクタデシル基 (C18)、オクチル基 (C8) などが代表例として挙げられます。ODS (Octa Decyl Silyl) カラムは分離条件の検討を行う際の第一選択として多く用いられる一方で、異性体等については分離が不十分な場合があります。Phenyl カラムはフェニル骨格により疎水性相互作用に加えて、 π - π 相互作用が分離に寄与するので、芳香族化合物の選択性が向上し、ODS カラムとは異なる分離挙動を示します。

本稿では、逆相クロマトグラフィーカラムの中で、ODS カラムとは異なる分離特性を示す Phenyl カラムを用いて、クレゾールの位置異性体の分析例をご紹介します。

A. Morita

■ クレゾール位置異性体の構造

図 1 にクレゾールの構造式を示します。クレゾールはオルト (*o*-)、メタ (*m*-)、パラ (*p*-) の 3 種類の位置異性体が存在します。

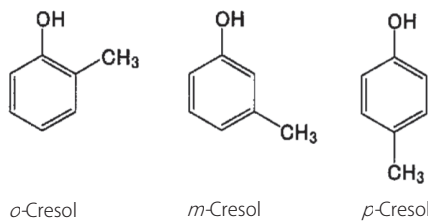


図 1 クレゾールの位置異性体

■ Shim-pack Phenyl カラムの特徴

図 3 に、Shim-pack GIST シリーズのラインナップとカラムの特長を示します。Shim-pack GIST シリーズのシリカゲル担体は高純度全多孔性球状シリカで、不活性度を高めることによりピーク形状の改善に加えて耐久性を向上しています。Shim-pack GIST Phenyl カラムはフェニル骨格により π - π 相互作用を持ちます。シリカゲルに直接フェニル基を結合させているため、一般的なフェニルカラム (アルキルフェニル基結合カラム) に比べて芳香族化合物の電子状態の差をより大きく認識する特性を有しています。

■ ODS カラムと Phenyl カラムの分離比較

o-, *m*-, *p*-クレゾール各 20 mg/L の標準液を Shim-pack GIST Phenyl と Shim-pack GIST C18 で分析した結果を図 2 に、分析条件を表 1 に示します。同じ程度の保持時間になるよう、線速度を合わせ、有機溶媒比率を調整しています。ODS カラムでは *o*-, *m*-クレゾールが分離できませんでした。一方で、Phenyl カラムは、疎水性相互作用に加えて、 π - π 相互作用が分離に寄与するので、芳香族化合物の選択性が向上し、良好な分離が得られています。

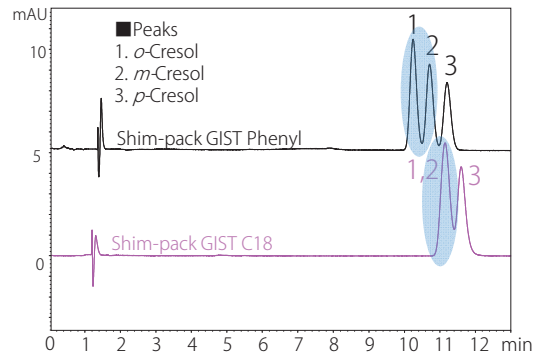


図 2 Shim-pack GIST Phenyl (上) と Shim-pack GIST C18 (下) を用いたクレゾール位置異性体のクロマトグラム比較

	C18	C18-AQ	C8	Phenyl	Phenyl-Hexyl	NH2
固定相						
官能基	オクタデシル基	オクタデシル基	オクチル基	フェニル基	フェニルヘキシル基	アミノプロピル基
粒子径	2 μ m, 3 μ m, 5 μ m	1.9 μ m, 3 μ m, 5 μ m	2 μ m, 3 μ m, 5 μ m	2 μ m, 3 μ m, 5 μ m	3 μ m, 5 μ m	3 μ m, 5 μ m
細孔径	10nm	10nm	10nm	10nm	10nm	10nm
表面積	350m ² /g	350m ² /g	350m ² /g	350m ² /g	350m ² /g	350m ² /g
炭素量	14%	13%	8%	10%	9%	7%
エンドキャップ	あり	あり	あり	なし	あり	なし
使用推奨 pH 範囲	1 ~ 10	1 ~ 10	1 ~ 10	2 ~ 7.5	1 ~ 10	2 ~ 7.5

図 3 Shim-pack GIST シリーズのラインナップと特徴

表1 分析条件

(上) Shim-pack GIST Phenyl、(下) Shim-pack GIST C18

System	: Nexera™-i
Column 1	: Shim-pack GIST Phenyl (100 mm L.×3.0 mm I.D., 2 μm)
Mobile Phase	: Water / Methanol = 80/20 (v/v)
Flow Rate	: 0.4 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 5 μL
Detection	: UV-VIS detector (Nexera-i) at 254 nm
System	: Nexera-i
Column 2	: Shim-pack GIST C18 (100 mm L.×2.1 mm I.D., 2 μm)
Mobile Phase	: Water / Methanol = 70/30 (v/v)
Flow Rate	: 0.2 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 2.5 μL
Detection	: UV-VIS detector (Nexera-i) at 254 nm

■ Phenyl カラムに用いる有機溶媒の比較

逆相クロマトグラフィーの移動相によく用いられる有機溶媒にメタノールとアセトニトリルが挙げられます。図4に *o*-, *m*-, *p*-クレゾール各 20 mg/L の標準液を Shim-pack GIST Phenyl を用い、移動相にメタノールとアセトニトリルを使用して取得したクロマトグラムを示します。分析条件を表2に示します。

メタノールを移動相に使用することでπ-π相互作用を利用しやすくなります。アセトニトリル (CH₃-C≡N) は三重結合の C-N 結合がありπ電子を有するのに対して、メタノール (CH₃-OH) はπ電子がありません。メタノールを用いた場合、固定相のフェニル基と溶質であるクレゾールとのπ-π相互作用に影響を与えないことから、アセトニトリルと比較してメタノールの方が保持が大きくなります。

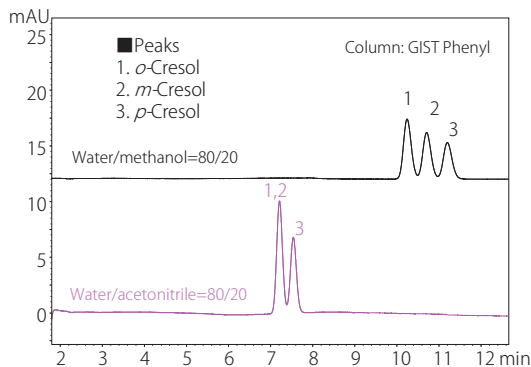


図4 Shim-pack GIST Phenyl を用いたクレゾール位置異性体のクロマトグラム比較
(上) メタノール、(下) アセトニトリル

表2 分析条件 (有機溶媒比較)

System	: Nexera-i
Column 1	: Shim-pack GIST Phenyl (100 mm L.×3.0 mm I.D., 2 μm)
Mobile Phase	: Water / Acetonitrile = 80/20 (v/v), Water / Methanol = 80/20 (v/v)
Flow Rate	: 0.4 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 5 μL
Detection	: UV-VIS detector (Nexera-i) at 254 nm

■ 検量線の直線性

図5に表1(上)の条件で分析した検量線を示します。5~20 mg/L の範囲で検量線を作成しました。各成分とも、寄与率 $r^2 = 0.999$ 以上の良好な直線性が得られました。

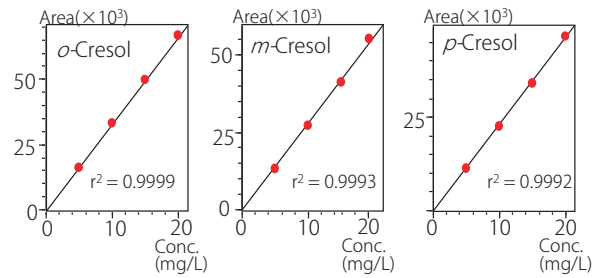


図5 検量線

左: *o*-Cresol、中央: *m*-Cresol、右: *p*-Cresol

■ リグニン抽出液中のクレゾールの分析

リグニン抽出液中のクレゾールの分析例を紹介します。木材からセルロースやヘミセルロースを取り出すと、残渣成分としてリグニンが残ります。これまでリグニンは廃棄されるか、燃料として使用されてきましたが、近年、植物バイオマスとしてリグニンからクレゾールなどのフェノール系化合物などを用いて、リグノフェノール^{*1}が素材として注目されるようになってきました¹⁾。将来的には、温暖化を加速する石油由来のプラスチック原料の代替素材として期待されています。リグニン抽出液 A^{*2}、B^{*3} を移動相で 100 倍希釈及びろ過した試料に、*o*-, *m*-, *p*-クレゾールを標準添加し分析したクロマトグラムを図6に示します。

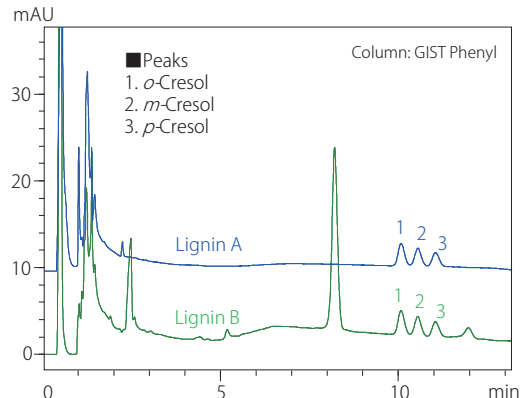


図6 リグニン抽出液 A、B (クレゾール標準添加) クロマトグラム

■ まとめ

Shim-pack GIST Phenyl は、フェニル環によりπ-π相互作用を有します。ODS カラムで分離が不十分な時に選択するカラムとして有効です。分離条件を網羅的に検討するメソッドスカウティングで用いるカラムとしても、有効活用が期待されます。

- *1 リグノフェノール: バイオプラスチックの原料で、三重大学の松岡名誉教授が 1990 年代に開発した新規化学物質
- *2 針葉樹・広葉樹を亜硫酸ナトリウムで処理して得た抽出液
- *3 *2 を更に、脱スルホン化 (一部) や酸化、加水分解、脱メチル化し、アルカリ性に調整した液

参考文献

- 1) 新神戸テクノカルレポート No.17 (2007-2) リグニン構造が与える鉛蓄電池の負極性能への影響: 日立化成株式会社

Shim-pack および Nexera は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行: 2019年8月

島津コールセンター ☎0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。