oxine solution are added to the solution. Extract the zinc chelate with 10.0 ml of chloroform as described above, and dehydrate the organic layer. Then transfer the extract to a quartz cell and the fluorescence intensity at 520 nm is measured at an excitation wavelength of 365 nm against the reference of 0.2 $\mu\text{g/ml}$ uranine solution.

The calibration curve was found to be linear up to 15 μg of zinc. The possible range of determination is

from 0.5 μg to 30 μg . The proposed method was applied to the determination of zinc in model sample waters. Then the zinc amount in several tap water and underground waters were determined. Good agreement was observed between the results obtained by the present method and the conventional colorimetric method using dithizone.

(Received Dec. 20, 1972)

ガスクロマトグラフィーによる分析試剤中の不純物の分析と除去

岩瀬 広, 木村 敏子*

(1972 年 12 月 23 日受理)

有機溶剤, 無機試薬, 汙紙, 薬包紙および水に含まれる微量の不純物の同定および除去法をガスクロマトグラフィーで検討した。有機溶剤は濃縮, 無水硫酸ナトリウム, 汙紙, 薬包紙および水は蒸留したエチルエーテルで抽出し, ジアゾメタンでメチル化後, polyethylene glycol adipate および free fatty acid phase の 2 本のカラムを用いてピークの同定を行なった。エチルエーテル, 汙紙および無水硫酸ナトリウムにはかなり多くのピークが検出され, それらのピークのなかには脂肪酸のメチルエステルに相当するピークもあった。これらの不純物を除くには, エチルエーテルは蒸留, 汙紙および無水硫酸ナトリウムは蒸留したエチルエーテルで 3~5 回抽出すればよく, 微量分析にじゅうぶん使用することができる。

1 緒 言

微量分析を行なう際に, ブランク中に含まれる微量の不純物が分析上の解析を妨害することが多い。したがって, 微量分析の操作中の汚染を最小限におさえる必要がある。

すでにガスクロマトグラフィーにより微量脂肪酸を分析する際に, ブランク中に脂肪酸の汚染があることが指摘され^{1)~3)}, その原因として試薬およびエステル化剤(メタノール-塩酸)などがあげられている。しかし, その除去法については報告されていない。

今回, 著者らは上記の理由から実験室でよく用いる有機溶剤(エチルエーテル, アセトン, クロロホルム, ベンゼン, *n*-ヘキサンおよびメタノール), 無機試薬(塩化ナトリウム, 無水硫酸ナトリウム, 塩酸および硫酸), 水, 汙紙および薬包紙中の不純物の測定をガスクロマト

グラフィーで検討した。一般に有機酸および脂肪酸を分析するには, エステル化して揮発性誘導体にする場合が非常に多いので, 本報においては揮発性誘導体にした試料中の不純物の同定と不純物をできるだけ少なくする方法を検討した。

2 試薬, 装置, 器具

2.1 試 薬

エチルエーテル, *n*-ヘキサン, メタノール, アセトン, ベンゼン, クロロホルム: 試薬特級品。
塩化ナトリウム, 無水硫酸ナトリウム: 試薬特級品。
3*N* 塩酸, 硫酸: 試薬特級品を用いて調製。
汙紙: 市販汙紙定性用, 定量用。
薬包紙: 市販パラフィン紙。

2.2 装置, 器具

2.2.1 装 置

ガスクロマトグラフ: F & M 402 型ガスクロマトグラフ, 検出器は水素炎イオン化型を用いた。

* 味の素中央研究所: 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1

エステル化装置: ジアゾメタン用⁴⁾。

2.2.2 器具 使用するガラス器具はクロム酸混液に1夜浸したのち, 水道水およびイオン交換水でよく水洗後, 電気乾燥器で乾燥し, 使用前にエーテルで洗ってから使用する。

3 実験操作法

3.1 ガスクロマトグラフ操作条件

ガスクロマトグラフの操作条件を Table 1 に示す。

Table 1 Operational conditions for GC analysis of contaminants

	Condition
Gas chromatograph	F & M Model 402 gas chromatograph with FID
Column	Glass, 4ft×1/4 in O. D.
Column packing	2.5% polyethylene glycol adipate (stabilized grade) on 60~80 mesh Diasolid M, 2.5% free fatty acid phase† on 60~80 mesh Diatoport S
Column temperature	Program from 90°C to 230°C at 7.5°C/min
Range and attenuation	10×16
Sample size	10 μl
Chart speed	1/2 inch/min
Carrier gas	Helium 60 ml/min

† Carbowax 20 M terminated with 2-nitroterephthalic acid

3.2 方法

3.2.1 試料調製

(1) 有機溶剤 (エチルエーテル, アセトン, クロホルム, *n*-ヘキサン, ベンゼンおよびメタノール): 各有機溶剤 500 ml をとり, 常圧蒸留でほとんど溶剤がなくなるまで留去し, 存在すると考えられる不純物を濃縮する。

(2) 無機試薬 (塩化ナトリウム, 無水硫酸ナトリウム): 各 100 g をそれぞれ 1 l の分液漏斗に入れ, 蒸留エーテル 100 ml で2分間振る。エーテル層を分取し, さらに蒸留エーテル 100 ml を加えて2分間振る。この操作をさらに3回くりかえし, エーテル層を合して (1) と同様に濃縮する。

(3) 汙紙および葉包紙: 市販汙紙定性用5枚 (直径11 cm, 4.01 g) と定量用5枚 (12.5 cm, 6.54 g) および葉包紙5枚 (パラフィン紙, 1.67 g) を清潔な手袋とはさみを用いて四等分し, それぞれ 200 ml の三角フラスコに入れる。それぞれに蒸留エーテル 100 ml を加え, ときどきかき混ぜながら室温に30分間放置後, デカンテーションによりエーテルを分取する。さらにこの操作を2回行なう。葉包紙も汙紙と同様に操作する。各エーテル溶液は (1) と同様に濃縮する。

(4) 水道水, イオン交換水およびイオン交換水を全

ガラス製器具で蒸留した水 (蒸留水): 各 500 ml を 1 l の分液漏斗に入れ, 蒸留エチルエーテル 100 ml を加えて2分間振る。エーテル層を分取し, 水層にさらに蒸留エーテル 100 ml を加えて2分間振る。この操作をさらにエーテル 100 ml を用いて1回行なう⁴⁾。各エーテル抽出液を合して 500 ml の三角フラスコに入れ, 無水硫酸ナトリウム 35 g (蒸留エーテルで洗浄したものをを用いる) を加えて1夜放置する。次に (1) と同様に濃縮する。

(5) 3N 塩酸および硫酸: (4) と同様に操作する。

3.2.2 メチルエステル化

抽出残さあるいは有機溶剤濃縮液にジアゾメタンのメタノール-エーテル溶液 (1+9 v/v)⁴⁾ 2 ml を加え約30分間室温で反応させる。40°C の水浴中で加温して過剰のジアゾメタンを除いたのち, 内容物を 2 ml のメスフラスコに移し蒸留エーテルで定容とした。

4 実験結果および考察

4.1 有機溶剤中の不純物の除去

濃縮液および濃縮液をメチル化した代表的なクロマトグラムを Fig. 1 に示す。

Fig. 1 Gas chromatograms of concentrate of diethyl ether (a) and methylated diethyl ether (b) obtained by distillation

n-ヘキサンにはほとんどピークは認められないが、他の有機溶剤ではそのまま濃縮した濃縮液よりもメチル化した濃縮液のほうがピークがふえ、また、大きくなっている。特にエチルエーテルでは多数のピークが溶出している。これらのピークのなかには脂肪酸のメチルエステルに相当する位置に溶出するピークもある。著者らの実験室では、抽出剤としてエチルエーテルを用いることが多く、また、上記6種類の有機溶剤中では最もピークが多かったので、次にエチルエーテルの不純物の除去法を検討した。市販エチルエーテルを蒸留したエーテル 500 ml をさらに蒸留して得たエーテル残留物をメチル化したクロマトグラムを Fig. 2 に示す。Fig. 2 からわかるように、蒸留エーテルの再蒸留残さにはほとんどピークは認められなかった。以上の結果から抽出剤としてエーテルを使用する場合は試薬特級品であっても蒸留して使用するほうがよいことがわかった。

Fig. 2 Gas chromatogram of the concentrate obtained by re-distilling 500 ml of diethyl ether

4.2 エーテル抽出に関する検討

無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム、沓紙、薬包紙および水に含まれる不純物を蒸留エチルエーテルを用いて抽出し、不純物の同定およびその除去を検討した。

4.2.1 無水硫酸ナトリウムおよび塩化ナトリウム

各 100 g をそれぞれ 1 l の分液漏斗に入れ、蒸留エチルエーテルで抽出する方法を Fig. 3 に、実験結果を Table II に示した。

Table II から明らかなように、蒸留エチルエーテル 100 ml で 5 回抽出すると多数のピークを検出し、しかも蒸留エーテルで 5 回抽出した無水硫酸ナトリウムをさらに蒸留エーテル中に 1 夜放置し、このエーテルを濃縮

Fig. 3 Extraction of contaminants in anhydrous sodium sulfate (or sodium chloride) with the distilled diethyl ether

Table II Extraction of contaminants with the distilled diethyl ether

Sample	Na ₂ SO ₄ (anhydrous)			NaCl
	A	B	C	
Brand				
Extraction time	(1 fraction (100 ml x 5))	+++	+++	+
	(2 fraction (100 ml x 1))	—	—	—
	(3 fraction (100 ml x 1))	—	—	—

+ Peak was observed; — No peak was observed.

後、メチル化してもピークは検出されないで、5 回エーテル抽出した無水硫酸ナトリウムは微量分析を行なう場合の脱水剤としてじゅうぶん使用できる。特に残留農薬試験用 C はほとんどピークは認められない。塩化ナトリウムについてもほとんどピークは認められなかった。各クロマトグラムを Fig. 4 に示す。

Fig. 4 Gas chromatograms of the distilled diethyl ether extracts from commercial anhydrous sodium sulfate (a) and (c)

4.2.2 沓紙および薬包紙 市販沓紙定性用 5 枚 (4.01 g)、定量用 5 枚 (6.54 g) および薬包紙 5 枚 (1.67 g) をそれぞれ四等分して 200 ml の三角フラスコに入れ、蒸留エチルエーテル 100 ml を加え、ときどきかき

混ぜて室温に 30 分間放置後, エーテル層を分取した. この操作をさらに 2 回行ないエーテル抽出液を合して 1 フラクションとした. さらに三角フラスコに蒸留エーテル 100 ml を加えて同様に操作し, これを 2 フラクションとし, 次に 3 フラクションとした. 実験結果を Table III に, クロマトグラムを Fig. 5 に示した.

Table III Extraction of contaminants with the distilled diethyl ether

Sample	Extraction time	Filter paper		Powder paper
		Qualitative	Quantitative	
	1 fraction (100 ml × 3)	+	+	+
	2 fraction (100 ml × 1)	—	—	—
	3 fraction (100 ml × 1)	—	—	—

+ Peak was observed; — No peak was observed.

Fig. 5 Gas chromatograms of the distilled ether extract from qualitative (a) and quantitative (b) filter paper

Table III から明らかなように, 蒸留エーテルで 3 回抽出 (1 フラクション) すれば不純物を除くことができる. 濾紙は定性用, 定量用ともに多くのピークが検出された.

4.2.3 水の検討 水道水, イオン交換水, イオン交

換水をさらに全ガラス製器具で蒸留した水 (蒸留水), 三角フラスコに 1 日, 5 日放置した蒸留水, ポリ容器に入れた蒸留水, 蒸留水を用いて約 3N に調製した塩酸, および硫酸のおおの 500 ml を 1 l の分液漏斗に入れ蒸留エチルエーテルで抽出 (100 ml で 3 回)⁴⁾ する. 塩酸および硫酸をエーテル抽出してメチル化したクロマトグラムを Fig. 6 に示す.

Fig. 6 Gas chromatograms of the distilled diethyl ether extract from 3N HCl (a) and 3N H₂SO₄ (b)

水道水, イオン交換水, 蒸留水, 三角フラスコおよびポリ容器に放置した蒸留水では, 著しい差はなかった. 塩酸と硫酸 (約 3N) を比較すると, 硫酸のほうがピークは少なかった. これらのピークも蒸留エーテルで 2 回抽出したのち, 水層を上記のようにエーテル抽出した場合は Fig. 2 と同じクロマトグラムを示した. したがって, 微量分析に使用する水は蒸留エーテルで 2 回抽出してから使用すればよいことがわかった.

5 総 括

微量分析の際に使用する有機溶剤, 無機試薬, 水, 濾紙および薬包紙中の不純物の除去を検討した. 特にエチルエーテル, 無水硫酸ナトリウムおよび濾紙にはかなりのピークが検出され, それらのピークのなかには脂肪酸のメチルエステルに相当するピークもあった. エーテルは常圧蒸留, 無水硫酸ナトリウムおよび濾紙は蒸留エーテルで抽出すれば微量分析用にじゅうぶん使用できるまで, これらの不純物を除くことができる. ガスクロマトグラフィーによる分析は polyethylene glycol adipate および free fatty acid phase の 2 本のカラムを用いてピークの確認を行なったが, 2 本のカラムで同定された脂肪酸を Table IV に示す (測定値は補正していない⁴⁾).

Table IV Analysis of fatty acid methyl ester in reagents and filter papers

	C ₈	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈
Concentrate obtained by distilling 500 ml of diethyl ether	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01 (ppm)
Anhydrous sodium sulfate A 100 g	—	—	0.02	0.07	0.37	0.35
B 100 g	0.03	0.04	0.14	0.08	0.2	0.18
C 100 g	—	—	—	—	0.04	0.03
Sodium chloride A 100 g	—	—	—	0.04	0.08	0.06
Five pieces of the qualitative filter paper	—	—	0.64	1.23	25.5	7.88
Five pieces of the quantitative filter paper	0.39	0.36	0.39	0.59	22.9	6.86
Five pieces of the powder paper	—	—	—	—	8.46	3.86

文 献

- 1) F. T. Lindgren, A. V. Nichols, N. K. Freeman, R. D. Wills : *J. Lipid Res.*, **3**, 390 (1962).
- 2) P. V. Johnson, B. I. Roots : *ibid.*, **5**, 477 (1964).
- 3) M. Pascaud : *Anal. Biochem.*, **18**, 570 (1967).
- 4) 木村敏子, 岩瀬 広 : 本誌, 投稿中.

☆

Analysis of impurities in chemicals and materials by gas chromatography and its decontamination. Hiroshi IWASE and Toshiko KIMURA (Central Research Laboratories, Ajinomoto Co., Inc., 1-1, Suzuki-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa)

The identification and removal of contaminants in organic solvents (benzene, *n*-hexane, methanol, chloroform, acetone, and diethyl ether), anhydrous sodium sulfate, sodium chloride, filter paper, powder paper, water samples, 3*N* hydrochloric acid and sulfuric acid were studied by gas chromatography. All reagents used in this study were of analytical grade.

A F & M Model 402 gas chromatograph equipped with dual flame ionization detectors was used. Two columns of 4 ft × 1/4 in o.d. packed with 2.5% PEGA (stabilized grade) on 60~80 mesh Diasolid M and 2.5% FFAP on 60~80 mesh Diatoport S were used. Column temperature was programmed from 90°C to 230°C at the rate of 7.5°C/min.

Each 500 ml of organic solvent was concentrated almost to dryness on a water bath, and then each concentrate was methylated with diazomethane. A 100 g of anhydrous sodium sulfate and sodium chloride, each

5 pieces of filter paper and powder paper, and 500 ml of water samples were extracted respectively 3 or 5 times with 100 ml of distilled diethyl ether for the analysis of contaminants. And then these ether solutions were concentrated to dryness on a water bath (40~45°C) and their concentrates were also methylated. The methylated samples were injected into gas chromatograph. Sample size was 10 µl.

Many peaks were detected in these samples and the retention times of some of these peaks were found equal to the those of the corresponding fatty acid methyl esters. Particularly, many and larger peaks were detected in ether concentrate, the ether extracts of anhydrous sodium sulfate and filter paper. The identification of these fatty acid methyl esters were performed with two different columns. The remarkably different peaks of qualitative and quantitative filter papers were not found. No peaks were detected in anhydrous sodium sulfate C for pesticide residue analysis, and no different peaks were observed in ether extracts of water, deionized water, distilled water and distilled water stored in a polyethylene bottle for 5 days. The number of peaks of contaminants in sulfuric acid was less than those of hydrochloric acid.

The removal of these contaminants was also studied. It was found that ether was distilled, 100 g of anhydrous sodium sulfate and sodium chloride were extracted 5 times each for 2 min with 100 ml of distilled diethyl ether, 5 pieces of qualitative and quantitative filter papers were extracted 3 times with 100 ml of distilled diethyl ether, water samples were extracted 3 times with 100 ml of distilled diethyl ether for removal of contaminants.

(Received Dec. 23, 1972)