報 文

難揮発性カルボン酸の定量*

宇野 豊三, 中川 照真, 豊田 良司**

(1971 年 12 月 18 日受理)

カルボン酸とアミンとによる塩生成反応を利用した反応ガスクロマトグラフィーにより, 難揮発性カルボン酸を定量した. 試料カルボン酸をアルコールまたはクロロホルム溶液として, あらかじめ担体を充てんした反応カラム中に注入後, 溶媒を留去し, これを試料気化室と分離カラムとの間に接続した. 次に試料気化室より一定量の *n*-ヘキシルアミンをくりかえし注入し, 反応カラム中のカルボン酸と塩生成反応を起こさせた. 反応により生成した塩は反応カラム中に滞留し, 過剰のアミンは分離カラムへ送られクロマトグラム上にピークを与えた. 試料気化室から注入されたアミンの総量と, クロマトグラム上の過剰アミンの定量値との差から, 対応する試料カルボン酸量を定量した. キャリヤーガス流量, 試料カルボン酸の量および濃度, 1 回に注入するアミン量などの条件の変化による定量結果への影響を調べた. その結果, 最適条件下では 5 種類の難揮発性の一塩基性カルボン酸について, 回収率はほぼ 100%, 標準偏差は 2.2~2.8% であった.

1 緒 言

高沸点難揮発性カルボン酸のガスクロマトグラフ (GC) 分析は, 従来メチルエステル¹⁾²⁾あるいは TMS 誘導体³⁾⁴⁾に誘導後行なわれるか, または熱分解ガスクロマトグラフィー⁵⁾を利用した方法がとられた.

一方, 著者らは前報⁶⁾において反応ガスクロマトグラフィーによる芳香族第 1 級アミンの定量について報告した. そこで今回は引き続き同様の方法をカルボン酸の定量に適用した結果を報告する.

2 実 験

2.1 装置および GC 条件

装置: 島津ガスクロマトグラフ GC-1C 型.
 分離カラム: ガラス製 (1m×3.5mmφ).
 充てん剤: 10% 水酸化カリウム, 5% アビエゾン L, クロモソルブ W (60/80 メッシュ) 酸, シラン処理.
 キャリヤーガス: 窒素 30 ml/min.
 検出器: FID.
 試料気化室温度: 200°C.

カラム温度: 64°C, 88°C.

反応カラム: ガラス製 (3.5cm×3.5mmφ).

2.2 試料および試薬

試料カルボン酸として, 安息香酸, *m*-トルイル酸, 没食子酸, ラウリン酸, ステアリン酸の市販特級品をそのまま用いた. *n*-ヘキシルアミンおよび内標準として用いた *n*-ヘプタンは, 市販特級品を蒸留後 GC により不純物の混入を認めないものを用いた. また, 溶媒として用いたクロロホルムおよびアルコールは市販特級品を蒸留して用いた.

2.3 反応生成物の確認^{7)~9)}

反応カラム中で起こる反応を明らかにするため, 安息香酸と *n*-ヘキシルアミンとの組み合わせについて分析終了後の反応カラムから生成物を水で抽出し, 得られた結晶の赤外線吸収 (IR) スペクトルを測定した. 一方, 安息香酸と *n*-ヘキシルアミンとの純品を用いて別途合成した塩の IR スペクトルを測定したところ, 両者はまったく一致したので, 反応カラム中で生成物はアミドではなくアミン塩であることが判明した. Fig. 1 はそれらの IR スペクトルである.

2.4 定量操作

定量操作および計算方法は前報⁶⁾と同様である.

* 反応ガスクロマトグラフィーの研究 (第 2 報). 前報は宇野豊三, 中川照真, 豊田良司: 本誌, 21, 993 (1972)

** 京都大学薬学部薬品分析学教室: 京都府京都市左京区下阿達町

Fig. 1 Infrared spectra of *n*-hexylamine benzoate

— Isolated from the reaction column; ---- Authentic sample

3 結果および考察

3.1 分析条件の検討

3.1.1 キャリヤーガス流量とカルボン酸回収率との関係 反応温度を一定とし、キャリヤーガス流量を大とすれば、アミンの反応カラム中の滞留時間が短くなるため、反応率の低下による回収率の減少が予想された。この点を没食子酸と *n*-ヘキシルアミンとの系で調べた結果、Fig. 2 に示すように、キャリヤーガスの流速 35 ml/min 以上で回収率は急激に低下し、また 20 ml/min 以下では *n*-ヘキシルアミンの良好なクロマトグラムが得られなくなったので、以下の実験ではキャリヤーガスの流速を 30 ml/min に統一した。

なお、3.1.1 および 3.1.3 の実験において 1 回のアミン注入量は、安息香酸、没食子酸、*m*-トルイル酸、ステアリン酸では、 $n=0.9\sim 1.1$ 、ラウリン酸では $n=$

Fig. 2 Relation between recovery of the sample and flow rate of carrier gas

Gallic acid-*n*-hexylamine system

1.3~1.5 になるように定めた。また注入回数は 1~2 回である。ただし、 n は 1 回に注入するアミン量と反応カラム中のカルボン酸量のモル比である。

3.1.2 アミン注入量と回収率の関係 用いた 5 種類の試料カルボン酸に対する結果を Fig. 3 に示した。1 回に注入するアミン量と反応カラム中のカルボン酸量のモル比 (n) を横軸にとると、この値が小さいほどすべてのカルボン酸において回収率の低下がみられた。芳香族カルボン酸で 0.9 以上、脂肪族カルボン酸では 1.3 以上で回収率が約 100% となる。すなわち試料カルボン酸量に対する当量以上のアミンを一挙に試料気化室から

Fig. 3 Relation between recovery of the sample and molar ratio (n) of amine injected at a time to carboxylic acid

● Lauric acid; □ Benzoic acid; × *m*-Toluic acid;
△ Stearic acid; ○ Gallic acid

注入するほうがよい結果が得られることが判明した. このような結果は前報において, 芳香族アミンとベンズアルデヒドとによるシッフ塩基生成反応について得られた結果とは異なり, 1 回に注入するアミンの量がカルボン酸の回収率に大きく影響を与えることを示している.

3.1.3 試料カルボン酸量と回収率との関係 反応カラムに試料カルボン酸の種々の量を導入する方法として, 次の二つの方法を行なった.

- (1) 試料濃度を变化して, 注入体積を一定 ($30 \mu\text{l}$) にする方法.
- (2) 試料濃度を一定 ($0.3M$) にして, 注入体積を変更する方法.

この二つの方法により反応カラムに導入されたカルボン酸の量と回収率との関係を Fig. 4, 5 にそれぞれ示した. この結果, (2) の方法では, 試料カルボン酸の回収率に大きな影響を与えないが, (1) の方法で芳香族カルボン酸を導入した場合には, 低濃度領域 ($0.3M$ 以下) で回収率が低下することがわかった. したがって未知試料の場合, 試料注入体積を变化させて定量したほうがよいが, 低濃度 ($0.3M$ 以下) と思われる試料については, 一定値が得られるまで濃縮すればよいことがわかった.

Fig. 4 Relation between recovery of the sample and concentration of carboxylic acid solution

● Lauric acid; □ Benzoic acid; × *m*-Toluic acid;
△ Stearic acid; ○ Gallic acid

Fig. 5 Relation between recovery of the sample and volume of carboxylic acid solution

● Lauric acid; □ Benzoic acid; × *m*-Toluic acid;
△ Stearic acid; ○ Gallic acid

3.2 分析結果

以上のような基礎的な分析条件の検討により得られた知見に基づいて, 各カルボン酸の回収実験を行なった. 結果は Table I に示すように, 回収率はほぼ 100%, 平均標準偏差 0.025 であり, じゅうぶんな精度が得られることが明らかとなった. くりかえし試行回数は 5~7 回であり, 試料採取量はいずれも 0.3~2.0 mg である. また, 反応温度が酸により異なるのは, 反応カラムからの試料の流出を防ぎ, かつアミンの良好なピークが得られるように配慮したためである.

Table I Results of recovery test

Sample	React. temp. (°C)	Sample taken (mg)	Recovery (%)	Standard deviation (%)
Benzoic acid	88	0.99	97.1	2.2
Gallic acid	88	1.11	100.0	2.8
<i>m</i> -Toluic acid	88	1.65	101.5	2.5
Stearic acid	64	1.03	97.5	2.6
Raulic acid	64	0.85	99.8	2.5

この分析方法の特徴としては, 簡単な装置と操作法により, 難揮発性物質を比較的低温で分析できること, 微小試料でよいことなどがあげられる.

(1971 年 4 月 9 日, 日本薬学
会第 91 年会において発表)

文 献

- 1) L. D. Metcalfe, A. A. Schmitz : *Anal. Chem.*, **33**, 363 (1961).
- 2) K. Salminen, P. Koiristonen : *Acta Chem. Scand.*, **21**, 1495 (1967).
- 3) N. E. Hoffman, K. M. Gooding : *Anal. Biochem.*, **31**, 471 (1969).
- 4) Z. Horii, M. Makita : *Chem. Ind.*, **21**, 1494 (1965).
- 5) 宇野豊三, 中川照真, 松本幹生 : 本誌, **20**, 1245 (1971).
- 6) 宇野豊三, 中川照真, 豊田良司 : 同上, **21**, 993 (1972).
- 7) R. S. Miller, D. Y. Curtin, I. C. Paul : *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 2784 (1971).
- 8) 小竹無二雄監修 : “ 大有機化学 ”, 4 卷, p. 162, 318, 349 (1961), (朝倉書店).
- 9) A. W. Ralston, C. W. Hoerr, W. O. Pool : *J. Org. Chem.*, **8**, 473 (1943).

Determination of non-volatile carboxylic acids.

(Studies on the reaction gas chromatography. II.)
 Toyozo UNO, Terumichi NAKAGAWA and Ryoji TOYODA
 (Faculty of Pharmaceutical Sciences of Kyoto University, Yoshidashimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto)

Determination of slightly volatile carboxylic acids such as benzoic, gallic, meta toluic, stearic and lauric acid was carried out by a reaction gas chromatography which involved the formation reaction of the amine-carboxylic acid salts. The present method is characterized by developing the quantitative aspect of the reaction gas chromatography, so that it has some advantage that it can be carried out by a simpler equipment and

procedure, a smaller amount of the sample, and a lower operating temperature than the conventional techniques such as pyrolysis and esterification followed by gas chromatographic analysis.

The procedures of introducing the sample to the reaction column were the same as were reported in the previous paper. Gas chromatographic conditions were: column packing; 10% KOH, 5% Apiezon L coated on acid washed and DMCS-MeOH treated Chromosorb W (60/80), carrier gas flow rate; N₂, 30 ml/min, detector; F. I. D., injection port temperature; 200°C, the temperature of column oven in which the analytical and reaction columns were attached was 64 or 88°C.

n-Hexylamine was injected into the sample chamber of gas chromatograph and it reacted with the sample acid in the course of passing through the reaction column. The amine-carboxylic acid salt, the reaction product, and unreacted carboxylic acid remained in the reaction column during the course of whole GC procedures. Repeated injection of *n*-hexylamine caused stepwise reactions, so that the chromatogram obtained showed the peak of excess *n*-hexylamine after the completion of the reaction, while no peak appeared before the completion of the reaction.

The amount of sample acid was calculated from the equivalent amount of amine which was determined by subtracting the excess amount of amine from the total amount of amine. Variation of analytical conditions such as the carrier gas flow rate, the amount and the concentration of sample acid and the volume of *n*-hexylamine injected at one time did not change the recovery of sample. The resulting recovery under the best conditions was about 100%, standard deviation 2.2~2.8%, and the sample taken was 0.3~0.2 mg.

(Received Dec. 18, 1971)