市販口紙に含まれる有機溶媒可溶不揮発性 有機物について

伊 藤 俊 洋・金 子 弘

北里大学教養部化学研究室 (相模原市麻溝台 1)

Organic Solvent Extractable, Non-volatile Substances Involved in Several Kinds of Commercial Filter Papers

Toshihiro ITOH and Hiroshi KANEKO

Division of Chemistry, School of General Studies, Kitasato University
(1, Asamizodai, Sagamihara-shi, Kanagawa-ken)

It was found that commercial filter papers contained appreciable amount of organic solvent extractable, non-volatile substances (abbreviated as impurities).

The contents and some chemical properties of the impurities obtained from several kinds of commercial filter paper products were examined by means of gravimetric analysis, thin-layer chromatography, gas liquid chromatography and infra-red spectroscopy.

There were about 0.04~0.08 weight per cent impurities (a filter paper piece of 9 cm diam. contains about 200~400 μg impurities), whose major components were complex mixture of $\text{C}_{16}\sim\text{C}_{33}$ saturated and unsaturated hydrocarbon having straight and branched structures.

1 緒 言

著者らは先に酵母の脂質検索を進めていく過程で、市販の定量用口紙の中に有機溶媒可溶不揮発性有機物: organic solvent extractable non-volatile substances (以下有機溶媒可溶性不純物-impurities と略す) の存在を知り、このものが薄層クロマトグラフあるいはガスクロマトグラフ分析で充分検出されうる量として存在することも確認した。

一方口紙は各種の生体組織からの脂質抽出操作の中で有効な口過材として広く利用されており、同時に分析技術の発展とともに、微量の試料を取り扱うようになるにつれて、口紙中の有機溶媒可溶性不純物の量が現実に重要な位置を占めるようになってきている。そこで市販されている口紙の中に含まれる有機溶媒可溶性不純物の含有量およびその化学的性質を知ること、この方面での口紙の利用上非常に重要なことと思われ、今回は輸入品および国産品の中から代表的な数種の口紙を選び、この中に含まれる有機溶媒可溶性不純物について調べ、その知見を得たので報告する。

2 実 験

2.1 実験材料

実験に用いた口紙は各メーカーの検査証あるいは保証票のはいった封印されたままの箱入 (100 枚入, 径 9 cm) 製品を使用直前に取り寄せて用いた。各メーカーの製品を Table-1 に示した。

2.2 有機溶媒可溶性不純物の抽出法および測定法

口紙 10 g (約 15 枚) を 100 ml の溶媒^{注1)}に浸し、30 min マグネチックスターラーにてかくはん後、ガラス口過器 (No. 4 G)^{注2)}にて口過し、上記操作を 4 回繰り返した後得られた抽出液の溶媒を減圧下で除去し、不揮発性残分の重量測定値から有機溶媒可溶性不純物の量を算出した。なお第 5 回目の抽出操作での抽出液中には検出されうる量の不揮発性物質の存在は認められなかった。

Table-1 The list of commercial filter papers used for extraction test.

Name of makers	Use for quantitative analysis	Use for qualitative analysis	Use for chromatog.
Toyo Kagaku Toppan Shoji	No. 5 A, No. 5 B, No. 5 C No. 5 A, No. 5 B, No. 5 C	No. 2, No. 3 No. 2, No. 3	No. 51
Whatman	No. 40	No. 1	

注1) 抽出に用いた溶媒(石油エーテル, メタノール, クロロホルム)はそれぞれ市販一般試薬を全共通スリ合せガラス器具で蒸留したものを使用した。なお念のため対照実験としてこれらの各溶媒 400 ml を減圧下で除き, その不揮発性残分の重量測定を行なったが, いずれも検出されうる量の残分がないことがわかった。

注2) 本研究で用いたガラス器具は, 中性洗剤で洗浄後, クロム硫酸混液に数 hr 浸セキ加熱後, 水道水, 蒸留水(イオン交換水を全ガラス器装置で蒸留したもの)の順で洗浄したものを使用。

2.3 薄層クロマトグラフィー (TLC)

吸着剤はシリカゲル-H (メルク社製) をクロロホルム: メタノール: 酢酸 (2:1:1) で洗浄したものを使い¹⁾, 不飽和化合物の分離には硝酸銀処理プレート²⁾ (シリカゲル 10 g を 12.5% 硝酸銀水溶液に懸濁し薄層プレートにしたもので暗所に保存) を用い, その他の条件は既報¹⁾の方法に従った。

そのほか, IR スペクトルは日本分光 IRA-I にて測定した。

ガスクロマトグラフ分析に用いた標準試料は直鎖飽和炭化水素混合物; ガスクロ工業製品 No. Y 309, Y 310, Y 311, Y 312. (C=10, 11, 13, 15, 16, 17, 20, 22, 24, 28, 32, 36.) を用いた。各炭化水素の同定は, 上記標準品との比較対照および, 炭素数と保持時間の関係を示すグラフ上での内そう法を併用することにより行なった。分析の条件は Fig.-3 の中に示した。

3 結果と討論

東洋濾紙の定性用, 定量用, クロマトグラフ用口紙に含まれる有機溶媒可溶性不純物の含有量を Table-2 に示した。

口紙の種類によって, 有機溶媒可溶性不純物の含量に大きな差は見られず, 同時にその他のメーカー (Whatman, Top) の口紙にも東洋製品と比較して大差ない量の有機溶媒可溶性不純物が含まれることがわかった。

それぞれの口紙から得られた抽出物の薄層クロマトグラムの一例を Fig.-1 に示したが, 標準の炭化水素と重なるスポットのほかいくつかのスポットが検出され, それぞれの製品の間の定性的組成に有意の相異は見られなかった。また石油エーテルで抽出される不純物とクロロホルム-メタノール (2:1) で抽出される不純物を TLC で比較したところ両者の定性的組成はほとんど同

Table-2 Quantitative estimation of non-volatile impurities involved in commercial filter papers.

Extraction solvents	Toyo's products				
	No. 2	No. 5 A	No. 5 B	No. 5 C	No. 51
Chloroform: methanol (2:1)	0.07	0.08	0.06	0.07	0.06
Petr. ether (bp 40~60°C)	0.04	0.05	0.04	0.04	0.05
Water contents	4.8	4.3	4.8	4.4	4.1
(wt % for filter papers)

Fig.-1 T.L.chromatogram of chloroform: methanol (2:1) extractable substances from several kinds of filter papers.

Solvent system; petr. ether: diethyl ether: acetic acid=90:10:1. Indicator; conc. sulfuric acid, charring. Abbreviation: H; hydrocarbon, SE; sterol ester, FA-Me; fatty acid methyl ester, TG; triglyceride, FFA; free fatty acid, C; cholesterol, Std; standard sample.

Table-3 Chromatographic fractionation of non-volatile impurities through the silicic acid column. (ϕ 10×700 mm).

Fraction No.	Eluting solvents	Volume
1	<i>n</i> -Hexane	5 ml.
2	<i>n</i> -Hexane: Ether (9:1)	10
3	<i>n</i> -Hexane: Ether (9:1)	8.
4	<i>n</i> -Hexane: Ether (1:1)	10
5	Ether	10
6	Chloroform	10
7	Chloroform: Methanol (2:1)	20

じであった。ただし後者では TLC 上で原点近くに検出される不純物が量的に多い傾向がみられた。

さらに東洋濾紙 No. 5 A の石油エーテル抽出物をケイ酸カラム (条件は Table-3 に示した) で分画し, 得られた各画分を TLC で比較した結果を Fig.-2 に示した。乾燥重量測定から Fraction-1 は石油エーテル抽出物の約 20% に相当した。

Fig.-2 T.L.chromatographic monitoring pattern of the fractions obtained from silicic acid column chromatography of petr. ether extractable substances (Toyo filter paper No. 5 C). Solvent system, indicator and abbreviation are the same as in Fig.-1.

Fig.-3 G.L.chromatogram of fraction-1. Apparatus; Hitachi K-53. Detector; FID. Carrier gas; N_2 (0.1 kg/cm^2). Column; $3 \text{ mm} \times 1 \text{ m}$ stainless steel tube. Liquid phase-supporter; 1% OV-1-Chromosorb W HMDS (60~80 mesh). Column temp.; $70 \sim 300^\circ\text{C}$ (program rate 3°C/min). Inject. temp.; 350°C . The numbers in the Fig. indicate the carbon numbers of hydrocarbons.

Fraction-1 に含まれる不揮発性有機物のガスクロマトグラムの 1 例を Fig.-3 に、同じく IR スペクトルを Fig.-4 に、硝酸銀処理プレートでの薄層クロマトグラムを Fig.-5 に示した。

これらの結果を総合して考えると、Fraction-1 に含まれる有機溶媒可溶性不純物は直鎖および分枝構造を持つ炭素数 16~33 にわたる一連の飽和炭化水素の混合物

Fig.-4 IR absorption spectrum of fraction-1 (thin film).

Fig.-5 T.L.chromatogram of fraction-1 on silver nitrate impregnated plate. Developing solvent; *n*-hexane. Indicator is the same as in Fig.-1.

R. Amos³⁾ は市販薄層クロマトグラフ用吸着剤に含まれる有機溶媒可溶性物質について研究し、吸着剤に混在する微量有機物が IR スペクトル測定に影響することも報告しており、本研究の結果からは、径 9 cm のロ紙 1 枚に約 500 μg の脂質様不揮発性物質が含まれていることになり、この量は 10 mg 以下の脂質を扱う実験においては脂質に対して 5% 以上に相当することが予想され、今後ますます進行するであろう脂質類ならびに炭化水素類の微量分析におけるロ紙の使用に対しては、あらかじめ実験に用いる溶媒で洗浄するなどの前処理の必要性が明らかになった。

(昭和 46 年 3 月 8 日受理)

文 献

- 1) 伊藤, 金子, 油化学, **20**, 483 (1971)
- 2) C.B. Barrett et al., *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **40**, 580 (1963)
- 3) R. Amos, *J. Chromatog.*, **48**, 343 (1970)

と推定された。また Fraction-2 ~7 に含まれる化合物は、薄層クロマトグラム上の R_f 値からパルプ材中に存在するリグニンの分解物、あるいはそれに類似する物質であろうと推定された。ただしロ紙の実際上の利用にどのような影響があるかを知るといふ観点から、これ以上の抽出物の構造上の追究は行なわなかった。

また最近になって、