〔農化 第 35 卷, 第 10 号, p.968~973, 1961〕

発酵生産物のガスクロマトグラフィーに関する研究 (第 1 報)*

低級アルコール類の分析について

上林 明, 三木 純, 小野英男 (工業技術院発酵研究所)

昭和 36 年 2 月 14 日 受 理

緒 論

従来アルコール類の分析に関して, メタノール, イソプロパノールなどにおいては特異反応を利用した定量法がおこなわれているが, 低級アルコール類混合物中の各成分アルコールの分析には簡単で正確な方法が見当らず, ペーパーやカラムクロマトグラフィーにおいてもすべてに満足すべき結果は得られていない。

最近特に発展してきたガスクロマトグラフィーはこれらにたいし非常に有効な分析方法であると考えられる⁽¹⁾。

ガスクロマトグラフィーにおいては, 一つのカラムであらゆる試料をすべて分離分析できるものは存在せず, 各種の性質の異なるカラムを使用して判定しなければならないことが多く, 分析者の立場からはいかなるカラムと分析条件を採用してゆくかが一番必要な問題となる。

これまで低級アルコールの分析にふれた固定相液体には paraffine oil⁽²⁻⁶⁾ や wax^(7,8), benzyldiphenyl⁽⁹⁾, pentachlorodiphenyl⁽⁹⁾, Convoil-20⁽⁵⁾, Convachlor-12⁽⁵⁾, dibutyl-, dinonyl- や didecyl- などの phthalate 類^(10; 6, 11~14; 15~18), dibutyl-, ethylhexyl- などの sebacate 類^(10; 5, 15, 18), tritolyl- や tricresyl- などの phosphate 類^(9, 19~23, 22, 24~27), zinc stearate⁽²⁸⁾, Flexol⁽²⁹⁾, Silicone oil^(5, 6, 9, 18~20, 22, 23, 25, 28, 30, 31) や grease 類⁽⁷⁾, glycerin^(2, 4, 32~34), diglycerin^(8, 33), hexadecanol⁽⁴⁾, octadecanol⁽⁸⁾, triol⁽¹⁶⁾, Tween-80⁽³³⁾, triethyleneglycol⁽³⁵⁾, polyethyleneglycol 類^(2, 6, 18, 33, 35~38), tetra- や hexaethyleneglycol dimethyl ether^(18, 38, 39), polypropyleneglycol 類^(5, 36), β , β' -oxydipropionitrile^(5, 25, 39), triethanolamine⁽³³⁾, Armeen S.D.⁽⁴⁰⁾ など比較的多くの報告があるが, これらの殆んどが 1 ないし数種の混合試料につき, 少数のカラムを使用しているにとどまり, 低級アルコール類 10 種以上の混合物を同時に各種カラムを使用して分析比較した報告は少なく^(5, 18), 複雑な混合物の分析に応用すべき広汎な基礎的データに乏しい現状である。

われわれは性質の異った 10 種の固定相液体のカラムを使用し, 炭素数 1 より 5 までの脂肪族アルコール類 13 種および水につき *n*-ブタノールを 1 としたそれぞれの相対保持容量 (relative retention volume) を測定し, これらの値を整理することにより, 分析上に応用すべき新しい知見を得たのでここに報告する。

実 験 方 法

1. 装置 使用したガスクロマトグラフは Vapor Fractometer 154-C 型⁽⁴¹⁾ (アメリカ Perkin-Elmer 社)

で基本構造は第 1 図に示すごとくである。

検出器にはサーミスター熱伝導度セルが使用され, 感度, 分離能および安定性ともに良好である。カラムおよび検出器を収納している恒温槽は, ファンと円筒による強制循環方式を採用し, サーミスター温度調節器が内蔵され, 40~225° までの任意の温度を $\pm 0.1^\circ$ 以内の精度で保持できる。また恒温槽の温度上昇も速く, 分析温度 100° までにおいては冬期でも 2 時間以内に温度平衡に達した。

キャリアーガスの流速制御は, 30 psig までの圧力

第 1 図 Vapor fractometer 154-C 型基本構造図

* Gas Chromatographic Studies on Fermentation Products. Part I. Selectivity of Liquid Substrates for the Analysis of Lower Alcohols.

By Akira KAMIBAYASHI, Makoto MIKI and Hideo ONO (Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Technology)

第 1 表 カラム固定相液体と担体

カラム略号	固定相液体	担体 (メッシュ)	混合重量比 (液体:担体)
SO	Silicone oil DC 200	60~100 celite	20:80
DIDP	diisodecylphthalate	"	"
DEHS	di-2-ethylhexyl- sebacate	60~80 chromosorb	"
DBE	dibenzyl ether	60~100 celite	"
TEGDME	tetraethyleneglycol dimethyl ether	"	"
PPG	polypropyleneglycol UCON LB-550-X	60~80 chromosorb	"
PEG	polyethyleneglycol 1500	60~100 celite	"
ODPN	β, β' -oxydipropionitrile	60~80 chromosorb	"
G	glycerin	48~65 J-M, C-22	"
DG	diglycerin	40~60 celite	30:70

第 2 表 アルコール類

	沸点 (°C)	備 考
メタノール	64.5	特 級 (和光)
エタノール	78.3	製品アルコール分溜
n-プロパノール	97.2	Eastman
イソプロパノール	82.2	特 級 (和光)
n-ブタノール	117.8	"
イソブタノール	108.0	"
第 2-ブタノール	99.5	最 純 (和光)
第 3-ブタノール	82.5	特 級 (和光)
n-アミルアルコール	138.1	特 級 (東京化成)
イソアミルアルコール	132.0	特 級 (和光) 分溜
活性アミルアルコール	—	試薬イソアミルアルコール分溜 (含イソアミルアルコール)
3-ペンタノール	116.1	特 級 (東京化成)
第 3-アミルアルコール	102.3	Eastman

ロマトグラムの中間にでる n-ブタノールを内部標準物質とした。それぞれのアルコールの保持容量はすべてカラムの遊び空間を補正し、n-ブタノールに対する相対保持容量で表示した。

注入試料はすべて n-ブタノールを含む等量混合物とし、それぞれのピークが重なり合わない組合せを選び、各成分量はそれぞれ 1 μ l 以下で毎回ほぼ一定量注入されるよう注意した。n-ブタノールと重なる成分については n-ブタノールを除いた適当な組合せをつくり、この成分ピークに近いものに対する相対保持容量を測定し、計算により n-ブタノールに対する相対保持容量に換算した。試料はすべて小型注射器を使用して液体試料注入口のシリコンゴム・セプタムを通し注入した。

実験結果および考察

1. アルコール類および水の分離 ここで使用したそれぞれの 2m のカラムにおいて試験したアルコール類 13 成分および水の混合物を各成分に分離できるものはなかったが、SO および DEHS のカラムでは第 2 図の 1, 2 に示すごとく、イソアミルアルコールと活性アミルアルコールが重なる他は全部分離することができた。ただしこれら極性の小さな固定相液体のカラムにおいては多量の水を含有する試料の分析には適しない。G, DG カラムでは水の溶出は著しく遅れるので、多量の水による妨害はないが、アルコール間の分離は二、三のもの以外はあまり良好でない。ただし G カラムにおいてはイソアミルアルコールと活性アミルアルコールの分離が可能であり、またイソプロパノール、第 3-ブタノールの検出にも適している。

メタノールの検出には TEGDME のカラム、n-プロパノールには PEG のカラムがそれぞれ適している。

2. アルコール類および水の相対保持容量 上記 10 種のカラムにおいてそれぞれの条件下で得られた相対

調節弁によりおこなわれ、われわれはすべてヘリウムを使用しているが、流速 50~150 ml/min において $\pm 0.2\%$ 以下の精度で保持することができた。なお流速の測定は室温において石鹼膜流量計を使用し、ここで求めた値をカラム温度に補正、カラム出口の流速 (ml/min) で表示した。

記録計は Speedomax G 型 (アメリカ Leeds and Northrup 社) でフルスケール 5mV (1mV 切替可能)、ペン速度 1 秒フルスケールの性能を有し、記録紙の有効幅は 24.3cm (100 目盛)、送り速度毎分 5/12 寸である。

なお、電源には山水電気株式会社の M-1000 スタビライザーを使用した。

2. カラム すべて長さ 2m、内径 4.5 mm のステンレス製 W 字形で、使用した固定相液体および担体は第 1 表に示すごとくである。

3. 標準アルコール類 使用したアルコール類は第 2 表に示すごとくである。

4. 相対保持容量 (relative retention volume) 測定方法 ガスクロマトグラフィーのデーターの表示法には、保持時間、保持容量、比保持容量、相対保持容量などがあるが、実験条件の僅かな変動にもとづく誤差を消去でき再現性のよい相対保持容量による表示法を採用し、ピークが大体ク

(1) SO 55°

(2) DEHS 80°

第 2 図 アルコール類混合試料のガスクロマトグラム

1. 空 気	6. 第 3-ブタノール	11. n-ブタノール
2. メタノール	7. n-プロパノール	12. 3-ペンタノール
3. 水	8. 第 2-ブタノール	13. { イソアミルアルコール
4. エタノール	9. 第 3-アミルアルコール	活性アミルアルコール
5. イソプロパノール	10. イソブタノール	14. n-アミルアルコール

B. 沸点と相対保持容量 Tenney⁽⁵⁾ は沸点と保持容量の対数との間に各同族体について大体直線関係が得られることを報告している。

われわれも使用した 10 種のカラムについて第 4 図の 1~10 に示すとき結果を得た。

TEGDME および PPG のカラムにおいてはアルコール類は、正-, イソ-, 第 2-, 第 3-の区別なく一直線上

保持容量は第 3 表に示すごとくである。

3. アルコール類の炭素数または沸点と保持容量との関係

A. 炭素数と相対保持容量
量: Adlard⁽³⁸⁾, Ray⁽¹⁴⁾
などは各種化合物について同族体間でそれらの保持容量の対数と炭素数 (CH_2 の数) との間に直線関係が成立することを報告している。

われわれもここに得られた相対保持容量の数値から上記 10 種のカラムについて第 3 図に示すとき結果を得た。メタノールはすべてのカラムにおいて正-アルコールの直線上にのらないが、カラム固定相液体の極性が大となるにつれこのかたよりは大きくなる傾向を示した。また極性の著しく大きな DG, G カラムでは、あまり良好な直線関係は得られなかった。

第 3 表 低級アルコール類および水の相対保持容量

分析条件	カラム	SO	DIDP	DEHS	DBE	TEGDME	PPG	PEG	ODPN	G	DG
	温度	100°	100°	80°	78°	74°	100°	100°	80°	60°	60°
	ヘリウム	100.5	90.8	95.5	83.7	112.4	99.6	76.4	88.1	84.4	82.0
アルコール	流速	ml/m	ml/m	ml/m	ml/m	ml/m	ml/m	ml/m	ml/m	ml/m	ml/m
メタノール		0.123	0.111	0.097	0.089	0.128	0.148	0.231	0.276	0.640	0.555
エタノール		0.211	0.193	0.171	0.167	0.196	0.211	0.291	0.336	0.577	0.533
n-プロパノール		0.468	0.447	0.417	0.414	0.443	0.467	0.534	0.570	0.704	0.690
イソプロパノール		0.294	0.264	0.222	0.216	0.223	0.233	0.275	0.312	0.415	0.372
n-ブタノール		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
イソブタノール		0.789	0.747	0.708	0.667	0.720	0.729	0.710	0.704	0.651	0.622
第 2-ブタノール		0.657	0.590	0.521	0.511	0.478	0.495	0.487	0.518	0.511	0.472
第 3-ブタノール		0.369	0.316	0.270	0.239	0.220	0.233	0.231	0.270	0.313	0.242
n-アミルアルコール		2.03	2.16	2.38	2.34	2.23	2.07	1.83	1.70	1.54	1.44
イソアミルアルコール		1.65	1.72	1.79	1.71	1.71	1.63	1.44	1.35	1.26	1.11
活性アミルアルコール		1.65	1.72	1.79	1.71	1.71	1.63	1.44	1.35	1.11	1.11
3-ペンタノール		1.32	1.22	1.12	1.10	0.932	0.941	0.778	0.775	0.610	0.545
第 3-アミルアルコール		0.893	0.761	0.697	0.627	0.511	0.528	0.454	0.495	0.467	0.360
水		0.105	0.207	0.115	0.106	0.251	0.225	—	0.644	—	4.88

第 3 図 低級アルコール類の炭素数と相対保持容量との関係

— 正- --- イソ- - · - 第2- 第3-

にプロットできた。故に未知試料中のアルコール類の定性において、これらいずれかのカラムを使用すれば、アルコール成分の沸点を近似的に推定しうることを認めた。

またこれら 2 つの固定相液体より極性の小さな SO, DIDP, DEHS, DBE のカラムにおいては、同一沸点レベルにおいて、第 1-, 第 2-, 第 3-アルコールの順に溶出するが、これらより極性の大きな PEG, ODPN, DG, G のカラムにおいては、この順が逆転することを認めた。またこれら極性の大きなカラムにおいてはメタノールが正-アルコールの直線上にのらなかった。

総 括

(1) メタノール, エタノール, *n*-プロパノール, イソプロパノール, *n*-ブタノール, イソブタノール, 第 2-ブタノール, 第 3-ブタノール, *n*-アミルアルコール, イソアミルアルコール, 活性アミルアルコール, 3-ペンタノール, 第 3-アミルアルコールおよび水の *n*-ブタノールにたいする相対保持容量を下記の 10 種の固定相液体のカラムについて測定した。

Silicone oil DC 200 (100°), diisodecylphthalate (100°), diethylhexylsebacate (80°), dibenzyl ether (78°), tetraethyleneglycol dimethyl ether (74°), polypropyleneglycol UCON LB-550-X (100°), polyethyleneglycol 1500 (100°), β, β' -oxydipropionitrile (80°)。

(2) アルコール類 13 成分および水を 2m のカラムで完全に分離分析できるものはなかったが、Silicone oil DC 200 (55°), diethylhexylsebacate (80°) のカラムではイソアミルアルコールと活性アミルアルコールが分離しない以外はすべて分離できることを認めた。なおこの 2 つのアルコールは glycerin (60°) のカラムで分離できた。

(3) アルコール類の同族体内でその炭素数または沸点と相対保持容量の対数との間に大体直線関係が成立することを認めた。

(4) アルコール類においては tetraethyleneglycoldimethyl ether と polypropylene glycol のカラムを使用することにより, 分離成分の相対保持容量の測定からその近似的な沸点を推定しうることを認めた。

(5) 極性の比較的小さな Silicone oil, diisodecylphthalate, diethylhexyl sebacate, dibenzyl ether のカラムにおいては同一沸点レベルにおいて, 第 1-, 第 2-, 第 3-アルコールの順に溶出するが, 極性の大きな polyethyleneglycol, β, β' -oxydipropionitrile, diglycerin, glycerin のカラムではこの順が逆転することを認めた。

本研究の一部は昭和 35 年 2 月, 日本農芸化学会関東支部第 199 回講演会で発表した。

- (1) 日本分析化学会編: 機器ガス分析法——新分析化学講座, 1, 共立出版, p.130 (1960).
- (2) C. E. Bennett et al.: *Anal. Chem.*, 30, 898 (1958).
- (3) A. T. James et al.: *Brit. Med. Bull.*, 10, 170 (1954).
- (4) A. Kwantes et al.: *Gas Chromatography*, Amsterdam '58, p.125 (1958).
- (5) H. M. Tenney: *Anal. Chem.*, 30, 2 (1958).
- (6) B. T. Whitham: *Vapour Phase Chromatography*, London '56, 395 (1957).
- (7) G. Dijkstra, et al.: *Rec. trav. chim.*, 74, 805 (1955).
- (8) A. I. M. Keulman et al.: *Anal. Chim. Acta*, 13, 357 (1955).
- (9) P. Peyrot et al.: *Chim. & Ind. (Paris)*, 78, 3 (1957).
- (10) R. M. Bethea et al.: *Anal. Chem.*, 31, 1211 (1959).
- (11) M. H. Abraham et al.: *Anal. Chim. Acta*, 17, 499 (1957).
- (12) R. J. Cvetanovic et al.: *Vapour Phase Chromatography*, London '56, p.87 (1957).
- (13) F. H. Pollard: *Chem. & Ind.*, 1955, 1145.
- (14) N. H. Ray et al.: *J. Appl. Chem.*, 4, 21 (1954).
- (15) J. F. Haskins et al.: *Anal. Chem.*, 30, 217 (1958).
- (16) G. J. Pierotti et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 2989 (1956).
- (17) P. E. Porter et al.: *ibid.*, 78, 2999 (1956).
- (18) G. Raupp: *Z. anal. Chem.*, 164, 135 (1958).
- (19) D. Ambrose et al.: *Gas Chromatography*, Amsterdam '58, p.396 (1958).
- (20) D. Ambrose et al.: *Anal. Chem.*, 30, 1582 (1958).
- (21) R. L. Grob et al.: *J. Chromatog.*, 3, 544 (1960).
- (22) A. B. Littlewood et al.: *J. Chem. Soc.*, 1955, 1480.
- (23) J. H. Purnell: *Vapour Phase Chromatography*, London '56, p.52 (1957).
- (24) L. C. Browning et al.: *Anal. Chem.*, 29, 24 (1957).
- (25) H. S. Knight: *ibid.*, 30, 2030 (1958).
- (26) J. S. Lewis: *ibid.*, 28, 1370 (1956).
- (27) S. A. Ryce et al.: *ibid.*, 29, 925 (1957).
- (28) C. Phillips: *Gas Chromatography*, Michigan '57, p.51 (1958).
- (29) R. J. Bouthilet et al.: *J. A. O. A. C.*, 42, 634 (1959).
- (30) K. P. Dimick et al.: *Food Technol.*, 10, 360 (1956).
- (31) S. D. Nogare et al.: *Anal. Chem.*, 30, 1157 (1958).
- (32) A. B. Callear et al.: *Can. J. Chem.*, 33, 1256 (1955).
- (33) B. Smith et al.: *Acta. Chem. Scand.*, 13, 480 (1959).
- (34) W. A. Wiseman: *Chem. & Ind.*, 1956, 127.
- (35) S. J. Bodnar et al.: *Anal. Chem.*, 30, 1384 (1958).
- (36) E. R. Adlard et al.: *Vapour Phase Chromatography*, London '56, p.98 (1957).
- (37) D. A. Elvidge et al.: *Analyst*, 84, 461 (1959).
- (38) 上林 明, 三木 純, 小野英男: 発酵研報, 18, 101 (1960).
- (39) H. Kelker: *Angew. Chem.*, 71, 218 (1959).
- (40) J. E. Zarembo, et al.: *Anal. Chem.*, 31, 1833 (1959).
- (41) 富永幸之: 化学の領域, 12 (No. 8), 590 (1958).