ナフトキノンのガスクロマトグラフィー

小竹森正人, 安藤 満

(三共株式会社野洲川工場)

昭和 43 年 5 月 30 日 受 理

Gas Chromatography of Naphthoquinones

By Masato KOTAKEMORI and Mituru ANDO

Sankyo Co., Ltd. Yasugawa Plant

Relative retention data of naphthoquinones were obtained by using two different columns, one coated with a nonpolar stationary liquid phase (high vacuum silicon grease) and the other with a polar one (cyano ethylpolysiloxane (XE-60)).

The retention time was increased by introducing hydroxy, amino or acetamido group in different positions. The effect of these groups on the retention time was greater with XE-60 than with high vacuum silicon grease column.

2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone in the insecticide Dichlone was determined by the method of calibration curve using di-*n*-hexyl sebacate as internal standard and 2-Chloro-1,4-naphthoquinone by standard addition method respectively.

Suitable column and operating conditions for analysis of Dichlone were as follows: Column; 2 m length *i. d.* 1/4 inch., stainless steel tubing packed with 10% XE-60 on 60- to 80-mesh, acid washed Chromosorb W. Column temp.; 210°C.

(Received May 30, 1968)

緒 言

キノン系化合物には各種植物病原菌に対し殺菌力を現わすものが多く、その幾つかは農業用殺菌剤として利用されている。農業用殺菌剤としては1,4-ナフトキノ誘導体がよく研究され、化学構造と殺菌効力との関係^(1,2)も明らかにされている。わが国では、2,3-ジクロル-1,4-ナフトキノ (ジクロン) が果樹、園芸殺菌剤として広く使用されており、殺菌作用に関する広汎な研究^(3,4)もある。

従来、ナフトキノ系化合物の分析法としては、可視⁽⁵⁾、紫外吸光度法⁽⁶⁾、ポーラログラフ法⁽⁷⁾およびガスクロマトグラフ法^(8,9)がある。また、著者ら⁽¹⁰⁾は薄層クロマトグラフィーによるナフトキノ系化合物の相互分離、確認法を報告した。本報ではガスクロマトグラフィーによるナフトキノ系化合物の定性確認法、およびジクロン (農業用工業品) の主成分および不純物の定量法について検討した結果を報告する。

実 験 方 法

装置、試薬

(1) ガスクロマトグラフ

F & M Scientific Co., Model 700.

検出器: 熱伝導度検出器 (TCD) および水素炎イオン化検出器 (FID).

記録計: Honeywell Model 150.

分離管: 内径 1/4 inch, 長さ 2 m のステンレス製カラム。

充てん剤: Chromosorb W (60~80メッシュ) に high vacuum silicon grease (HVSG) または cyanoethyl polysiloxane (XE-60) を 10% の割合にコーティングしたもので、Table II に示したガスクロマトグラフィーの条件での 2,3-ジクロル-1,4-ナフトキノに対する理論段数 (JIS K-0214 1964) は HVSG: 3350, XE-60: 4570 である。

(2) 供試化合物および試薬

供試化合物は次記のとおりで、既報⁽¹⁰⁾と同じものを用

いた。カッコ内は本報における略号を示す。

1,4-ナフトキノン(NQ), 1,2-ナフトキノン(1,2-NQ), 2-メチル-1,4-ナフトキノン(NQ-Me), 2-クロル-1,4-ナフトキノン(NQ-Cl), 2,3-ジクロル-1,4-ナフトキノン(NQ-Cl₂), 2-ヒドロキシ-1,4-ナフトキノン(NQ-OH), 2-ヒドロキシ-3-クロル-1,4-ナフトキノン(NQ- Cl _{OH}), 2-アミノ-1,4-ナフトキノン(NQ-NH₂) および 2-アセタミド-1,4-ナフトキノン(NQ-NHCOCH₃)。

内部標準物として、パルミチン酸メチル (Applied Sci. Lab. Inc., 99% 以上) とジ-*n*-ヘキシルセバケート (東京化成工業株式会社, EP) を用いた。

操作条件 ガスクロマトグラフィーは次記条件の範囲で検討した。試料は特記しない限りクロロホルム溶液とし、マイクロシリンジにより 10 μ l 以下の量を注入した。

検出器温度: 260°C。

カラム温度: 160~210°C, 昇温ガスクロマトグラフィーは 150~250°C, 昇温速度 3~7.5/分の範囲。

試料注入口温度: 260°C。

ブリッジ電流: 150 mA。

キャリアガス: ヘリウム, 60~150 ml/分。

定量分析には、ピーク高またはピーク面積による内部標準法または被検物添加法を採用した。

実験結果

1. ピークの分離

混合試料のガスクロマトグラムの 1 例を Fig.1 に示した。HVSG 分離管の場合, NQ-NH₂, NQ-NHCOCH₃ は保持時間が大きく, 幅の広いピークを示すが, 昇温ガスクロマトグラフィーによれば良好なガスクロマトグラムを得ることができる。NQ-Cl と 1,2-NQ および NQ-Cl₂ と NQ- Cl _{OH} は分離しない。

XE-60 分離管では, ヒドロキシル基, アミノ基およびアセタミド基を有する化合物は実験条件の範囲ではピークを示さない。しかし, HVSG 分離管で分離できなかった各化合物間の相互分離が可能であった。両分離管による各化合物の相対保持値を Table I に示した。

2. ジクロン農薬用工業品の定量分析

ジクロン農薬用工業品の主な不純物は NQ-Cl であり, 微量の無水フタル酸などを含んでいる。主成分 NQ-Cl₂ と NQ-Cl の内部標準法による検量線は Fig.2 のとおりである。充てん剤として XE-60 を選び, また, NQ-Cl の定量には標準添加法を採用し, つぎのとおり定量条件を設定した。

Fig.1. Gas Chromatogram of Naphthoquinones and Related Compounds.

1-a HVSG (10%)/Chromosorb W, Isotherm (210°C)

1-b HVSG (10%)/Chromosorb W, Linear programming (180~250°C, 3°C/min)

1-c XE-60 (10%)/Chromosorb W, Isotherm (210°C)

Owing to delay of elution, the peak of compound 3, 7, 8 and 9 did not appear in Fig. 1-c.

1. 1,4-Naphthoquinone
2. 2-Methyl-1,4-naphthoquinone
3. 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone
4. 2-Chloro-1,4-naphthoquinone
5. 1,2-Naphthoquinone
6. 2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone
7. 2-Hydroxy-3-chloro-1,4-naphthoquinone
8. 2-Amino-1,4-naphthoquinone
9. 2-Acetamido-1,4-naphthoquinone

Table I. Retention Data

Sample	Relative retention*	
	HVSG	XE-60
1,4-Naphthoquinone	0.29	0.25
2-Methyl-1,4-naphthoquinone	0.41	0.31
2-Chloro-1,4-naphthoquinone	0.52	0.45
2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone	0.46	
1,2-Naphthoquinone	0.53	1.07
2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone**	1.00	1.00
2-Hydroxy-3-chloro-1,4-naphthoquinone	1.04	
2-Amino-1,4-naphthoquinone	1.57	
2-Acetamido-1,4-naphthoquinone	3.18	

Column temperature: 210°C, He: 60 ml/min.

* Relative to solvent peak 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone=1.00.

** Retention time (min) from injection are 8.0 with HVSG and 10.4 with XE-60.

a) 2,3-ジクロル-1,4-ナフトキノン(NQ-Cl₂) 定量法

試料約 100 mg および内部標準物質ジ-*n*-ヘキシルセバケート約 100 mg を精密に量って 10 ml の共栓三角フ

Fig. 2. Calibration Curves for 2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone and 2-Chloro-1,4-naphthoquinone.

Sample	Column packing	Internal std.	Method
1. 2-Chloro-1,4-naphthoquinone	XE-60	Di- <i>n</i> -hexyl sebacate	Peak high
2. 2-Chloro-1,4-naphthoquinone	HVSG	Methyl parmitate	Peak high
3. 2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone	XE-60	Di- <i>n</i> -hexyl sebacate	Peak high
4. 2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone	HVSG	Methyl parmitate	Peak high
5. 2-Chloro-1,4-naphthoquinone	XE-60	Di- <i>n</i> -hexyl sebacate	Peak area
6. 2-Chloro-1,4-naphthoquinone	HVSG	Methyl parmitate	Peak area
7. 2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone	XE-60	Di- <i>n</i> -hexyl sebacate	Peak area
8. 2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone	HVSG	Methyl parmitate	Peak area

Table II. Working Condition of Gas Chromatographic Procedure

Column	Stainless steel, 1/4 inch (i. d.), 2 m
Column packing	XE-60 (10%) on high vacuum silicon grease (10%) on Chromosorb W (60~80 mesh)
Column temp.	210°C
Detector temp.	260°C
Injection part temp.	260°C
Carrier gas	Helium, 60 ml/min (3.0 kg/cm ² at inlet)
Bridge current	150 mA
Chart speed	1 inch/min

ラスコに入れ, クロロホルム 5 ml を加えて溶かした液を試料溶液とする。試料溶液約 5 μ l を, あらかじめ Table II の条件に設定したガスクロマトグラフに注入し, ガスクロマトグラムより, NQ-Cl₂ とジ-*n*-ヘキシルセバケートのピーク高比を求め, 検量線により重量比を得, 含量

百分率を算出する。分析値は 2 測定値の平均値とする。

b) 2-クロロ-1,4-ナフトキノン (NQ-Cl) 定量法

試料 1.00 g を精密に量って 20 ml の共栓三角フラス

Table III. Recovery Data on Synthetic Samples

Sample	Standard value (%)	Sample taken (g)	Found (%)	Remark
2-Chloro-1,4-naphthoquinone	0.72	1.0	0.75	Av.=0.75
			0.74	Recovery=104.2%
			0.85	Std. dev.=0.06
			0.68	
	2.59	1.0	0.72	
			2.62	Av.=2.56
2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone	99.28	0.1	2.54	Recovery=98.8%
			2.55	Std. dev.=0.09
			2.40	
			2.67	
	97.41	0.1	99.59	Av.=99.18
			99.21	Recovery=99.9%
			98.65	Std. dev.=0.31
			99.36	
			99.08	
			98.02	Av.=97.57
			97.59	Recovery=100.2%
			97.02	Std. dev.=0.31
			97.57	
			97.55	

Column packing: XE-60 10% on Chromosorb W (60~80 mesh).

コに入れ, *o*-ジクロロベンゼン 8 ml を加え, 加温溶解した後, 室温に放冷した液を試料溶液とする。別に試料 1.00 g および NQ-Cl 約 20 mg をそれぞれ精密に量っ

Table IV. Typical Analysis of Technical Dichlone

Sample	Found, %					
	2-Chloro-1,4-naphthoquinone			2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone		
A	0.82	0.75	Range=0.07	99.1	98.5	Range=0.6
B	1.24	1.14	0.10	98.1	98.6	0.5
C	1.91	1.79	0.12	98.2	97.4	0.8
D	2.64	2.59	0.05	97.4	97.2	0.2

Column packing: XE-60 10% on Chromosorb W
(60~80 mesh).

Column temperature: 210°C.

て 20 ml の共栓三角フラスコに入れ, 上記と同様にして調製した液を標準溶液とする. 試料溶液および標準溶液について, Table II の条件でガスクロマトグラムを得, ピーク高を用いて被検成分添加法により NQ-Cl の含量百分率を算出する. 分析値は 3 測定値の平均値とする.

NQ-Cl を 0.73~2.59% の割合に, NQ-Cl₂ に添加した標準試料の分析を行ない, 分析誤差の検討を行なった結果は Table III のとおりで, 分析の偏りは認められない. ジクロン農業工業品の分析例は Table IV のとおりで, 再現精度 (変動係数) は NQ-Cl₂ について約 0.5%, NQ-Cl については 3~10% であった.

考 察

ピークの形状は, HVSG (10%) 分離管では対称的であるが, 同一固定相担体を用いた XE-60 (10%) 分離管では, わずかにテーリングを示す. 一方, XE-60 (1%) の充てん剤により, 窒素をキャリアーガスとして使用する水素炎イオン化検出器を用いた別の実験によれば, NQ-Cl₂ のピークは, 上述の現象とは反対に前端がすそを引いた形状となった. これらの現象から XE-60 (10%) 分離管におけるピークのゆがみは, 固定相担体による吸着によるものではなく, 試料成分と固定相液体の官能基の性質の相互関係⁽¹⁾, あるいは活量係数の濃度変化などに起因すると考えるのが妥当と思われる.

無極性充てん剤 (HVSG) と極性充てん剤 (XE-60) を用いた場合とでは, 各化合物の保持値, したがって, 化合物相互のピーク分離能に著しい相違が現われる. すなわち, HVSG 分離管では, 置換基のヒドロキシル基, アミノ基およびアセタミド基が保持値におよぼす影響は小さく, NQ-Cl₂ と $\text{NQ} < \begin{smallmatrix} \text{Cl} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$ の分離は不十分であったが, XE-60 分離管では $\text{NQ} < \begin{smallmatrix} \text{Cl} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$ の保持値はきわめて大きくなり, 実験条件の範囲ではピークを現わさない. この知見は NQ-Cl₂ を含む農業用殺菌剤製剤の分析にお

いて経時変化, あるいは日光による第一次分解生成物⁽¹²⁾である $\text{NQ} < \begin{smallmatrix} \text{Cl} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$ との分離定量法に利用することができる.

試料注入量と感度の関係は直線性を示し, 長谷川ら⁽⁹⁾が 1,4-ナフトキノンのガスクロマトグラフィーにおいて報告しているような感度補正係数の必要は認めなかった. 定量分析例として本報では, XE-60 分離管によるもののみを示したが, 検量線の再現性から HVSG 分離管を用いても定量分析が可能で, 充てん剤は被検化合物により選択すればよいと考えられる. ヒドロキシル基を有する, 保持値の大きい化合物を含む混合試料は, T. Furuya ら⁽¹³⁾が行なったように, トリメチルシリルエーテルとしてガスクロマトグラフィーを行なってもよいが, 本報のように昇温ガスクロマトグラフィーも簡便かつ有効であると認められる.

ジクロン農業工業品中の不純物 NQ-Cl の定量には被検物添加法を採用した. 溶媒として溶解度の大きい *o*-ジクロルベンゼンを選んだが, なお 10 μ l の試料注入量を必要とする. 水素炎イオン化検出器を用いると, 感度向上に伴う操作の簡便化が期待できるので試行したが, 5 μ l 以下の試料注入量では定量法の再現性が不充分であった. しかし適当な内部標準物を選び, 内標準法を適用すれば精度向上が期待できるものと考えられる.

要 約

(1) 極性の異なる固定相液体として, high vacuum silicon grease および XE-60 を選び, 1,4-ナフトキノンの 1,2-ナフトキノンの 7 種の核置換 1,4-ナフトキノンのガスクロマトグラフィーを行ない, 保持値におよぼす置換基の影響を調べた.

(2) 1,4-ナフトキノンの 2-位置に, ヒドロキシル基, アミノ基またはアセタミド基を導入すると保持値の増大をもたらす. この傾向は XE-60 において著しい.

(3) ジクロン農業工業品の分析法を検討し, 主成分 2,3-ジクロル-1,4-ナフトキノンの不純物 2-クロル-1,4-ナフトキノンの定量法を設定した.

終りに, 発表を許可された農学博士岡田清治工場長に深謝の意を表す.

(1) G. L. McNew and H. P. Burchfield: *Contribs. Boyce Thompson Inst.*, **16**, 357 (1951).

(2) R. J. W. Byade and D. Woodcock: *Ann. Appl.*

- Biol.*, **40**, 675 (1953).
- (3) J. R. Lane : *J. Agr. Food Chem.*, **6**, 746 (1958).
- (4) J. E. Newell, R. J. Mazaika and W. J. Cook, *J. Agr. Food Chem.*, **6**, 669 (1958).
- (5) H. P. Burchfield : *Phytopathology*, **38**, 665 (1948).
- (6) 平山健三 : 化学実験講座, Vol. I, 丸善, 1958, p.199.
- (7) E. Barendrecht : *Chem. Weekbl.*, **50**, 785 (1954).
- (8) H. Trachman and F. Zucker : *Anal. Chem.*, **36**, 269 (1964).
- (9) 長谷部信康, 樋口修一郎 : 工化, **68**, 2366(1965).
- (10) M. Kotakemori and K. Okada : *Agr. Biol. Chem.*, **30**, 935 (1966).
- (11) H. S. Knight : *Anal. Chem.*, **30**, 2030 (1958).
- (12) 未発表.
- (13) T. Furuya, S. Shibata and H. Iizuka : *J. Chromatog.*, **21**, 116 (1966).
-