薄層クロマトグラフィの放射化学への利用[†]

牧 康行, 村上悠紀雄*

神奈川県工業試験所

*東京都立大学理学部

1. まえがき

薄層クロマトグラフィ (thin-layer chromatography: TLC) は1938年 Izmailov, Schreiberにより, はじめて提案されたが, その後, あまりかえりみられず, 1956年に Stahl が, この方法の標準化を行なってから, 各方面に急速に利用されるようになった。とくに有機化学, 生化学, 薬学などの分野での利用が圧倒的に多く, 最近は無機イオンや錯体の分離にも多用され, すでに, いくつかのすぐれた解説書や総説^{1)~4)}が出ている。

TLC の利点である操作の簡便性, すぐれた分離能, 短い分離時間, 経済性などは, そのまま放射化学への利用に好ましい。すなわち, 簡便性は放射性核種による汚染, その結果生ずる身体や実験データへの影響などマイナスの因子をさけうる点でつごうがよい。また, すぐれた分離能により無担体核種や反跳化学種の分離も可能になり, さらにトレーサーに用いる放射性核種の純度チェックや放射化学的純度の高い核種を得ることもできる。放射平衡核種から短寿命娘核種を得るには迅速分離が要求されるが, TLC はこの目的にも有効な場合が多い。このように TLC は放射化学の分野でも非常に有効な分離法として, その利用度はますます高くなりつつある。また, 分離された放射性試料はオートラジオグラフィやスキャニング法などの検出技術により, そのまま薄層上で検出, 同定, 定量できるなど, 他の分野における TLC の検出法にくらべて, かなり特異なため, この方面の研究もさかんになりつつある。本論にはいる前に TLC について簡単に

ふれてみよう。

TLC とは吸着剤の薄層上にスポットした混合試料溶液を適当な展開剤により, 分離する一種のオープンクロマトグラフィである。分離は固定相 (吸着剤), 移動相 (展開剤) および溶質 (試料) の3者の相互作用, すなわち, 吸着, 分配, イオン交換, 分子ふるい, 沈でんまたは溶解などにより行なわれるという。操作は非常に簡単で, ガラス板, プラスチックシートなどに吸着剤としてシリカゲル, アルミナ, セルローズ, イオン交換樹脂, 無機イオン交換体, 活性炭, その他天然または人工の吸着性物質などを塗布し, 均一な厚さ (ふつう250~300 μ) の薄層をつくり, この一端に試料溶液をスポットし, 展開槽中で展開を行なう。展開距離は, 試料をスポットした位置から展開剤先端まで10~15cm もあれば十分であり, 展開時間は展開剤にもよるが, 数10分程度と非常に短い。展開時間, 分離能とも同じオープンクロマトグラフィに属するペーパークロマトグラフィに比較して非常にすぐれている。

TLC は試料によって吸着剤, 展開剤の選択, 展開槽中の蒸気の有無, 二次元展開法の採用, その他, 実験者のくふうにより, いくらかでも分離能を向上させる可能性をもつきわめて興味ある分離手段といえる。

以下, 放射化学における TLC の実験操作法, とくに最近の興味ある核種検出法および同定法, ついで核種の無担体分離精製, 純度決定, 分析および反跳化学などへの利用について紹介する。

2. 実験操作法

薄層プレートの作製, 試料の塗布, 展開などは, とくに通常の TLC の操作と変わらないが, 放射性試料溶液の調製および展開された試料の検出, 同定, 記録には特別の操作が必要である。

2・1 放射性試料溶液の調製および展開

比放射能が低い試料の場合は通常の調製法と同じ

[†] Application of Thin-layer Chromatography in Radiochemistry, Yasuyuki MAKI, *Yukio MURAKAMI: Industrial Research Institute of Kanagawa Prefecture, Showa-cho, Kanayawaku, Yokohama, *Tokyo Metropolitan University, Komazawa, Setagaya-ku, Tokyo.

で、とくに問題はないが、無担体または比放射能が高い試料溶液を調製および展開する場合は、ラジコロイドの生成、共沈、固体表面への沈着、揮発および放射線による自己酸化または還元などの現象が生じ、マクロ量の場合と異なった行動をとることもあり、注意を要する。このさい、担体の有無がこれらの試料の分離に大きな影響を与える。たとえば、 ^{77}Ge の β^- 崩壊により生成する ^{77}As の大部分は無担体では ^{77}As (V) として検出されるが、 As (III) 担体を加えると、 ^{77}As (III) の比率のほうが高くなる⁵⁾。また、無担体 $^{131}\text{I}^-$ はプレート上で空気中の酸素と光により $^{131}\text{IO}_3^-$ と $^{131}\text{IO}_4^-$ に酸化される^{6), 7)}。したがって、分離しようとする核種の状態 (化学形、担体の有無など) を十分に留意せねばならない。

2.2 分離されたスポットの検出

放射能の検出にあたっては、その量、放射線の種類およびエネルギーを考慮して行なうが、感光材料 (工業用ノースクリーン型X線フィルムが一般的である) を用いて検出するオートラジオグラフィと測定器により計数して検出する方法に大別できる。

1) オートラジオグラフィ

この方法は検出能力がきわめて高く、放射線の種類を問わず、特別な装置も必要とせず、手軽に利用できるなどの利点をもつ。操作は薄層上にフィルムをのせ、露光、現像を行ない、フィルム上に現われた黒化像からスポットの分布をみる。また、黒化度を濃度計により定量することもできる⁷⁻⁹⁾。

γ 線や高エネルギーの β 放射体の検出は容易だが、 ^3H や ^{14}C などの軟 β 放射体では吸着剤や試料の自己吸収のため検出はむずかしい。たとえば、 ^3H の最大飛程は $0.7\text{mg}/\text{cm}^2$ と非常に短く、 $0.3\text{mg}/\text{cm}^2$ の薄層では β 粒子の1%しか通過しない。そこで吸着剤にシンチレーターを混合し、 β 粒子エネルギーを光に変換し、フィルムにより検出するシンチレーションフルオログラフィが開発された¹⁰⁻¹⁴⁾。検出感度は温度により著しく影響される。たとえばシリカゲルにアンスラセンを混合した薄層をドライアイス (-78°C) で冷却すると、 ^3H の検出限界は $5\text{nCi}\cdot\text{day}/\text{cm}^2$ と非常に高いが、室温では $45\text{nCi}\cdot\text{day}/\text{cm}^2$ にすぎない¹⁴⁾。低温でシンチレーターの性質をもつベンゼンにクロマトグラムを浸してから、液体窒素で冷却し、フィルムまた

は光電子増倍管により測定すると、他のシンチレーターにくらべて2桁以上の検出感度が得られる。クロマトグラムを室温にもどせば、ベンゼンは蒸発し、試料は完全に原形を保ち、汚染もさけられる¹⁵⁾。

光電子増倍管によりシリカゲルとシンチレーター ($\text{Zn}_2\text{SiO}_4:\text{Mn}$) を混合した薄層上で ^3H に対し、最大60%以上の検出効率 (cpm/dpm) がえられた¹⁵⁾。また、アンスラセンと混合した薄層上で ^3H と ^{14}C の同時検出も可能である¹⁵⁾。

^3H や ^{14}C で二重標識した化合物の同時検出にカラーオートラジオグラフィも有効である。放出する β 線エネルギーの差によりポジ画面に色相の差が生じ、核種の選別ができる。すなわち、ポラロイドカラーフィルムに ^3H (0.018MeV) はコバルトブルー、 ^{14}C は (0.15MeV) は青緑、 ^{59}Fe (0.46MeV) は黄緑、 ^{137}Cs (0.51MeV) は橙、 ^{32}P (1.7MeV) と $^{144}\text{Ce}+^{144}\text{Pr}$ ($0.323+3.15\text{MeV}$) は白を発色する¹⁶⁾。また、2層の感光乳剤をもつフィルムでは ^3H は青、 ^{32}P は赤または黄を発色し、適切な条件を設定すると、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{60}Co 、 ^{36}Cl 、 ^{32}P が選別でき、 ^{32}P -無機リン酸、 ^{14}C -alanine、 ^3H -thymidine の TLC 分離のさい、各成分は完全に分離しなくても発色の違いにより識別できる¹⁷⁾。

^{14}C で標識した糖類のオートラジオグラムを熱中性

図1 ^{14}C 標識フラクトースのオートラジオグラムによる定量曲線

* 1日露光したときフィルムで検出できる単位面積あたりの最小放射能の量

子照射すると、黒化像中の Ag 粒子は ^{110m}Ag になり、GM 管で測定すると、黒化濃度測定より検出範囲が広がる。また、 ^{203}Hg で標識した水銀補力液を用いると、黒化像に ^{203}Hg が標識され、さらに検出感度が上がる。たとえば、フラクトース- ^{14}C の定量範囲は図 1 のように、濃度測定では $10^{-3}\sim 5\times 10^{-3}\mu\text{Ci}$ であるが、放射化法と ^{203}Hg 標識法によると、 $10^{-4}\sim 10^{-2}\mu\text{Ci}$ に広がる⁹⁾。

2) 計数法

薄層を原点から展開剤先端に向かって、一定の間隔でけずりと、適当な測定器を用い、展開された放射性物質の分布状態を知る方法が一般的だが、多数の試料を処理するには手間がかかる。薄層をかきとり、液体シンチレーションカウンターで測定する自動装置も開発された¹⁸⁾。検出感度はすぐれているが、高価格、低放射能試料には測定時間が長すぎるなどの欠点がある。検出、定量を行なうには、自動スキャン法が便利である。すなわち、記録計に接続させた検出器をスリット板の上に設置し、プレートを移動して展開された放射性物質の分布を自動的に記録計に描かせる。検出器、スリットの大きさ、スリット板の材質、厚さなどは放射線の種類、エネルギーにより適切にえらび、スポットの分布状態を正確にとらえるようにする。現在、 ^{14}C や ^3H のスキャン測定には窓なしガスフロー GM 管がよく用いられているが、その検出効率を表 1 に示す¹⁹⁾。

表 1 窓なしガスフロー GM 管による放射性スポットの検出効率

放射性核種	最大エネルギー (keV)	cpm/dpm (%)
^3H	18.5	1.5
^{14}C	159	8
^{35}S	167	8
^{131}I	250~810	10
^{32}P	1710	15

チャンネル電子増倍検出器 (channel electron multiplier detector) を用いてスキャンする方法も注目される^{20,21)}。ノイズレベルが非常に低いので冷却

図 2 チャンネル電子増倍検出器

する必要がなく、図 2 に示すように入射した電子は検出器の電圧勾配をかけた電圧の低い一方からはいる、衝突をくりかえし、カスケード現象をおこし、増幅され、最終的にはパルスとして取り出される。検出器を正常に作動させるには $5\times 10^{-4}\text{Torr}$ 以下の減圧にする必要があり、スキャナー全体を減圧箱中に収めてある。 ^3H または ^{14}C を標識したグルコースを二次元展開し、数 mm 幅の検出器でスキャンすると、スポット面積 0.7cm^2 で ^{14}C 5 nCi が検出でき、一次元スキャンでは最小 1mm^2 のスポットが検出できる。このデータを電算機処理して二次元クロマトグラムの濃度分布を等高線で表わす試みもなされ、今後の改良とコストダウンが待たれる。スパークチャンバーを利用した検出法も開発された^{22,23)}。薄層プレート上に長さ 25 cm の銅陽極コイル 50~60 本とコイルの中を通る陰極線を 2 mm 間隔で並べ、プレートとのすき間を数 mm になるように設置する。 β 線が陽極と陰極の間を横切るとき生ずるスパークをボラロイドカメラでとら

図 3 (a)スパークチャンバーの構造と(b)人体中で代謝された tyramine の分解生成物の検出
(1)分解生成物のスポットと(2)グリッドスポット

えると、図 3 のようなクロマトグラムが得られる。 ^{32}P , ^{35}S , ^{14}C , ^3H が検出でき、 ^{14}C および ^3H の径 0.5 cm のスポットは 10 分間露光でおおの 0.03 nCi, 3 nCi まで検出可能である。また、ベータカメラ^{18,19)}は 1622 個の超小型ガスフロー GM 管を備え、スポットを写

図 4 ^{14}C スポットの(A)フィルムオートラジオグラフィ (17日間露出) と(B)ベータカメラ (5分間露出) による検出

真(図4), シンチレーションスクリーン上にまたはデジタルに表示できる。検出感度は通常のオートラジオグラフィの 10^4 倍であるが, スポットの検出面積は $0.04 \sim 64 \text{ in.}^2$ で, 他の検出法にくらべるといくぶん劣るようである。図5に ^{14}C の各検出法の感度の比較¹⁰⁾を示したが, さらに検出感度と分解能のすぐれた検出法の開発が期待される。

図5 ^{14}C に対する各検出法の感度の比較
○一次元, ●二次元

TLCの γ 放射体(^{75}Se , ^{125}I , $^{99\text{m}}\text{Tc}$)標識化合物の純度決定にNaI(Tl)検出器とオージェまたは転換電子を計数する 2π 窓なし比例計数管との優劣が比較された²⁴⁾。スリットなしの場合, 計数効率は, オージェ電子が薄層に吸収されるため, γ 線計数のほうがすぐれているが, スキャンニング測定すると, スリットによる γ 線散乱のため, 分解能は図6に示すようにオージェ電子計数のほうがすぐれている。また, 二次元スキャ

図6 隣接したスポットに対する(a) NaI(Tl)検出器(スリット幅18mm)と, (b)比例計数管(スリット幅2mm)の分解能の比較, 各スポットは ^{75}Se $0.1 \mu\text{Ci}$ 。

ニングではNaI(Tl)検出器にコリメーターをつけるため, 薄層と検出器との距離が開き, 幾何学的効率が下がるので相対的に比例計数管の計数が上がる。したがって γ 放射体のスキャンニング測定は一次元, 二次元の別なく, オージェ電子を計数するほうが有利である。

2.3 分離されたスポットの同定

分離された放射性スポットの同定には, つぎの方法がある。

1) 前記の方法により検出した放射性核種の半減期が比較的短い場合は崩壊曲線を求めて半減期を調べ, また, γ 放射体であれば γ 線エネルギーを測定して核種を同定する。

2) 展開前に, あらかじめ, 同一展開条件で放射性試料と同一成分の非放射性試料を展開し, 発色剤またはけい光剤を噴霧して, その分離状態を調べ, 2.2で述べた検出法で調べた放射性試料の分離状態と比較し, 同定を行なう。

スポットの分離状態は通常 R_f 値で示す。 R_f 値とはスポットの濃度のもっとも高い点を用い, 原点からの移動率を示すが, 最近ではスポットの上端と下端を示すことが多く, これによるとスポットの大きさ(長さ)が表わせる。スポットの形と分離状態を記録するには, 発色剤またはけい光剤を噴霧して, 現われたスポットをスケッチするが, 放射性物質の記録はオートラジオグラフィやスキャンニング法により得られたクロマトグラムによる(図7)。

図7 中性子放射化したTe(IV)より無担体 $^{131}\text{IO}_3^-$ と $^{131}\text{I}^-$ の分離

薄層: アルミナ(塩基性), 展開剤: 水
(a) GM管によるスキャンニング
(b) オートラジオグラム
(c) 呈色剤噴霧によるスポットのスケッチ

酢酸セルローズ、ジエチレングリコール、ショウノウの混合物を展開終了した薄層にぬり、吸着剤の微粒子を結合させ、薄層を保存する方法²⁵⁾が開発された。オートラジオグラフィによりスポットを確認し、薄層上にその位置をボールペンで書き込む。スポットは薄層とともに液体シンチレーション（2容のトルエン-シンチレーターと1容の Triton X-100）で測定すると¹⁴C, ³H をクエンチングによる測定効率の低下もなく計数できる。

3. 分離分析への利用

3・1 核種分離

親娘関係にある核種、原子価の異なる同種核種の分離例を表2および3に示す。このほか Sn-¹²⁵Sb-^{125m}Te⁴⁰⁾, Fe-⁴⁹V-⁵⁴Mn-⁵¹Cr³¹⁾などの同周期元素、アルカリ族^{31), 41)~44)}, 希土類^{45)~49)}および F・P^{30), 50)}などの相互分離や高純度放射性核種の製造にも TLC の分離能の良さが実証されている。

3・2 分析への利用

表2 親娘関係にある核種の分離

吸 着 剤	展 開 剤	Rf 値			文 献		
シリカゲル	メタノール+5 N HCl	⁷⁷ Ge(Ⅳ)	⁷⁷ As(Ⅲ)	⁷⁷ As(Ⅴ)	5)		
		0.00	0.50	0.95			
シリカゲル	メタノール+NH ₄ SCN	⁹⁰ Sr	⁹⁰ Y		26)		
Dowex 50-X8	5%クエン酸アンモニウム	0.19	0.76		27)		
シリカゲル	メタノール+エーテル +4% HNO ₃	0.05	0.93		28)		
SrSO ₄ +シリカゲル	0.1N H ₂ SO ₄	0.00	1.00		29)		
シリカゲル	1 N アルカリ, アルカリ土類金 属塩化物溶液	0.00	0.90		31)		
		0.90~0.98	0.00				
シリカゲル	ブタノール+ジオキサン +水+0.25M シュウ酸	⁹⁵ Zr	⁹⁵ Nb		28)		
	メタノール+10N HF	0.00	0.90		26)		
		0.03	0.50				
シリカゲル	アセトン	⁹⁹ Mo	^{99m} Tc		31)		
セルローズ	ブタノール+1 N HCl 飽和	0.04	0.98		32)		
		0.0~0.2	0.7~1.0				
シリカゲル	メタノール+5 N HCl	¹¹³ Sn	^{113m} In		33)		
	酢酸+水	0.00	0.50		34)		
		0.00	0.90				
アルミナ (塩基性)	水	¹³¹ Te(Ⅳ)	¹³¹ Te(Ⅵ)	¹³¹ I ⁻ ¹³¹ IO ₃ ⁻ ¹³¹ IO ₄ ⁻	6)		
シリカゲル	0.1N NaOH	0.00	0.00	0.95	0.50	0.00	
	アセトン+6 N NH ₃	0.25	0.00	0.95	0.65	0.00	
				0.9	0.4	0.1	28)
アルミナ	アセトン+H ₂ SO ₄	¹³¹ IO ₄ ⁻	^{131m} XeO ₃				
		0.06	0.61				35)
シリカゲル	メタノール+0.3N HCl	⁴¹⁰ Ba	¹⁴⁰ La				
シリカゲル	1 N アルカリ, アルカリ土 類金属塩化物溶液	0.00	0.85				36)
シリカゲル (石膏 5% 0.1N HNO ₃ 処理)	水	0.85~0.95	0.05~0.15				31)
		0.00	0.95				31)

表3 原子価の異なる同一核種の分離

吸 着 剤	展 開 剤	Rf 値			文 献
シリカゲル	アセトン+H ₃ PO ₃	As(Ⅲ) 0.10	As(V) 0.65		37)
セルローズ アルミナ	ブタノール+3 N HCl 飽和 60% H ₂ SO ₄	Te(Ⅳ) 0.2 0.95	Te(Ⅵ) 0.8 0.0		38)
シリカゲル	アセトン+プロパノール +NH ₃ +水 メタノール+NH ₃ +水	I ⁻ 0.85	IO ₃ ⁻ 0.16	IO ₄ ⁻ 0.00	7)
			0.69	0.00	39)
シリカゲル	アセトン+水	Au(コロイド) 0.0	Au(Ⅲ) 0.9		28)

TLC で扱える試料溶液は少量のため、含まれている微量成分の定量は困難だが、放射能測定ではこれが可能なところに特色がある。すなわち、検出感度のよい放射化分析と分離能のよい TLC をうまく組み合わせれば、すぐれた分析手段となる。TLC-後放射化法により Al 中の Mn, Ag 中の Hg が定量された。試料をシリカゲル薄層上でオキシノープロパノール-水混合溶液により展開後、薄層を 5 mm 幅で原点から展開剤先端までけずりと、おのおのを放射化(熱中性子束 $10^7 \sim 10^8 \text{ n/cm}^2 \cdot \text{sec}$, 1~5 時間)し、その γ 線スペクトル測定により 1 ppm の Mn が、シリカゲル薄層と 2.5 N HCl 展開剤により 10 ppm の Hg が定量された⁵¹⁾。Sc が共存する試料中の Zn を非破壊放射化法で定量する場合、⁶⁵Zn が ⁴⁶Sc より少ないと、⁶⁵Zn の光電子ピーク (1115 keV) が ⁴⁶Sc (1120 keV) に妨害され、分解能のすぐれた Ge(Li) 検出器を用いても測定しにくい。そこで試料を放射化 ($1.5 \times 10^{12} \text{ n/cm}^2 \cdot \text{sec}$, 6 時間) したのち、セルローズ薄層と *n*-プロパノール-3 N HCl 展開剤を用い両者を分離し、各 γ 線スペクトルを NaI(Tl) 検出器で測定すると、Zn 部分に ⁴⁶Sc はまったく検出されず、Zn の定量限界は 5 μg 、また、 γ 線全計数測定によると 1 μg であった⁵²⁾。シリカゲル薄層とメチルイソブチルケトン-TBP-4.7 N HNO₃ 混合展開剤により他イオンから分離した U を放射化 ($1.7 \times 10^{12} \text{ n/cm}^2 \cdot \text{sec}$, 30 分) すると、生成した ²³⁹U は β 崩壊により ²³⁹Np になり、この γ 線スペクトル測定により 0.02 μg の U が定量できた⁵³⁾。魚の消化器中の γ -BHC と DDT が定量された。消化器を *n*-ヘキサンで抽出した成分を放射化 ($3 \times 10^{12} \text{ n/cm}^2 \cdot \text{sec}$, 30 分) したのち、シリカゲル 1-1 アルミナ混合薄層とシクロヘキサン 1-1 シリコン油混合展

開剤で展開すると、 γ -BHC と DDT が分離された。両成分に含まれる ³⁶Cl の γ 線スペクトル測定により、DDT 1.12 ppm, BHC 0.36 ppm が定量でき、実用性が評価できる⁵⁴⁾。

TLC の有効性は、さらに、同位体希釈法と組み合わせで示された。すなわち、プラズマ中の rifamicin 系抗生物質と Morpholino-rifamicin が定量できた⁵⁵⁾。

3.3 RI 標識化合物の純度の確認

RI 標識化合物の純度を確認する手段として、ペーパークロマトグラフィがよく用いられるが、展開中、ろ紙により還元される試料もある。シリカゲルやアルミナを用いる TLC にはその心配はない。¹³¹I で標識した 26 種類の有機化合物中の不純物は 1 N HCl 展開剤により分離された。無機ヨウ素の Rf 値は 0.98~1.00, ¹³¹I 標識化合物のそれは 0.0~0.36 を示し、展開時間は 15 分であった^{56), 57)}。シリカゲル薄層と 10% 炭酸ナトリウム-10% モリブデン酸アンモニウム混合展開剤により ⁵¹Cr で標識した Cr(VI) に含まれる Cr(Ⅲ) が分離され、放射化学的純度 99.95% の放射性 Cr(VI) が得られた⁵⁸⁾。また、セファデックスを用いた薄層ゲルクロマト法によりヨウ化インシュリン-¹²⁵I, ヨウ化 IgE-¹²⁵I およびヨウ化 PVP-¹³¹I 注射液の純度試験が行なわれ、好結果が得られた。この方法は標識高分子物質の純度決定に適している⁵⁹⁾。その他 ⁵¹Cr, ^{113m}In, ³²P, ¹⁹⁸Au, ^{99m}Tc で標識した医薬品の純度試験⁶⁰⁾にも利用され、この分野は TLC のもっとも得意とするところである。

3.4 RI ゼネレーターへの利用

放射平衡にある親娘核種から放射化学的純度の高い

娘核種を大量、高収率でミルキングするのにカラムを用いる RI ゼネレーターがある。TLC を用いて親核種が原点にとどまり、娘核種が展開剤先端に濃縮するような吸着剤と展開剤を求め、ゼネレーターに利用する。 ^{99m}Tc ゼネレーターを例にあげると、シリカゲル薄層とアセトン展開剤で ^{99}Mo (半減期67時間) から ^{99m}Tc を分離しえたので、この結果をゼネレーターに利用した⁶¹⁾。すなわち、熱中性子照射した三酸化モリブデンをアンモニア水に溶解した試料溶液をシリカゲルと水でおり、110°C、2時間乾燥後、カラムに詰め、アセトンで溶離すると放射化学的純度99.99%以上の ^{99m}Tc が収率約95%で得られる。また、 ^{113}Sn (115日) - ^{113m}In (100分) から ^{113m}In をミルキングするゼネレーターがシリカゲル吸着剤と0.1Nチオシアン酸アンモニウム-メタノール混合展開剤によって作られた⁶⁰⁾。

3.5 電気泳動薄層クロマトグラフィ (thin-layer electrophoresis: TLE)

展開媒体としてろ紙のかわりに薄層プレートを用いた電気泳動法を TLE という。ろ紙にくらべて泳動したスポットは小さくまとまり、スポットの検出、採取など泳動後の処理に TLC の利点をそのまま利用できる。 ^{90}Sr - ^{90}Y または ^{212}Pb - ^{212}Bi 系から、その娘核種をシリカゲルシート、0.5Mクエン酸電解液を用い、500Vの電圧をかけて分離した。泳動時間はわずか5分である⁶²⁾。 ^{192}Ir で標識した Ir(III) と Ir(IV) のクロロ錯体の加水分解生成物と無担体反跳生成物をセルローズとシリカゲル薄層を用いた TLE により分離したが、ろ紙の場合に比較して、多くの生成物が検出でき、また、ろ紙による Ir(IV) の還元も防止できる^{61), 63)}。

TLE と TLC を組み合わせると、前者は試料の電荷、後者はその構造にもとづいて分離作用を行なうので、同一支持体 (同一プレート) 上で両法により二次元展開を行なうと、分離された未知試料の構造や電荷の傾向などさまざまな情報が、つぎに述べるように得ることができる。

4. 反跳化学および無担体化学への利用

核反応により化合物中の原子の一部は反跳原子になるが、その反跳エネルギーは化学結合エネルギーより大きいので、化合物との結合を切断し、新たな放射性原子または分子を生成する。これらは無担体状態で、しばしば複雑な化学種として存在し、沈でん法や溶媒

抽出法のような一般の方法では分離が困難な場合もあるが、TLC を用いれば、その化学種にもとづき容易に分離できることが多い。中性子照射した Ir クロロ錯体の無担体生成物が TLE と TLC により分離された。 ^{192}Ir で標識した錯体の加水分解生成物の移動距離はイオンの電荷と大きさに比例することを TLE により、また、その R_f 値は H_2O リガンド数に比例することを TLC により明らかにされた。すなわち、中性子照射した Ir クロロ錯体を同一薄層上で TLE と TLC により二次元展開したところ、単量体、その立体異性、2量体、多量体など35種の生成物が分離検出された。反跳および加水分解生成物の違いは展開後の薄層を放射化分析して同定できる^{61), 63)}。無担体 $^{131}\text{I}^-$ をスポットしたシリカゲル薄層を露光したのち、展開すると各化学形の ^{131}I が分離されるという興味ある研究が行なわれた。露光時間が長くなるほど高い酸化状態の IO_3^- , IO_4^- および化学形不明のヨウ素化学種が生成するが、プレートを暗所に放置すると IO_3^- は生成せず IO_4^- が生成する⁷⁾。また、 $^{131}\text{I}^-$ の酸化に対する I^- 担体の保護効果も明らかにされた。アルミナ薄層と水展開剤により $^{131}\text{Te} \xrightarrow{\beta^-} ^{131}\text{I}$ により生成する各化学形の ^{131}I が分離され、 I 担体の有無、試料溶液の液性がおよぼす各化学形の ^{131}I の分布への影響が調べられた。また、薄層上の無担体 $^{131}\text{I}^-$ の光による酸化反応は空気中の酸素が大きな役割を果たすことが明らかになった⁶⁾。中性子照射した As(V) をシリカゲル薄層とアセトン-濃リン酸混合液により展開すると、生成する ^{76}As の35~40%は反跳効果により $^{77}\text{As(III)}$ として分離できた³⁷⁾。また、シリカゲル薄層とメタノール-1N HCl 混合展開剤を用いて $^{77}\text{Ge} \xrightarrow{\beta^-} ^{77}\text{As}$ より生成する3価と5価の ^{77}As に対する担体の影響が調べられた。 As(III) 担体が存在すると、生成する ^{77}As のうち80%が $^{77}\text{As(III)}$ 、無担体では95%が As(V) として検出された³⁾。ベンゼン、シクロヘキサンおよびシクロヘキサン中で $\text{Li}(n, \alpha) ^3\text{H}$ 反応を生ぜしめ、生成する ^3H で標識された高沸点化合物を無担体分離しそれらの収率決定⁶⁴⁾に、また、芳香族クロロ誘導体のジラードチャルマー反応により生成する ^{36}Cl 標識化合物の収率決定にも TLC が用いられた⁶⁵⁾。

5. あとがき

TLC で扱える試料が微量でも、それが放射性物質であれば、検出感度は高く、したがって検出範囲も拡大され、非放射性物質の TLC における検出より有利

である。たとえば放射化した Ge から約 2×10^{-14} g という超微量の ^{77}As も分離検出できる⁹⁾。多量の試料を処理するには、幅広いプレート (20cm×20cm) に線状にスポットしたり、1~2 mm の厚さの吸着層を用いたり、また、 $^{99m}\text{Tc}^{61)}$ や $^{113m}\text{In}^{36)}$ ゼネレータのように吸着剤をカラムに詰めて使用することもできる。

多くの有用な化合物に標識できる軟 β 放射体の ^3H や ^{14}C を薄層上で効率よく、迅速に検出することが、もっとも困難な点である。ラジオ薄層クロマトグラフィの検出法の最近の進歩は著しく、今後、 ^3H および ^{14}C の使用量の増加とともに、さらにすぐれた検出法の開発が期待される。

また、TLC はそのすぐれた特性のため、比較的短寿命の核種や無担体核種の分離および放射能測定と組み合わせた核種同定法として、放射化学の各分野に利用されよう。

文 献

- 1) E. Stahl, Ed.: "Thin-Layer Chromatography", 2nd Ed., Springer-Verlag, Berlin (1969)
- 2) 石川正幸, 原昭二, 古谷力, 中沢泰男: "薄層クロマトグラフィ, 基礎と応用" 南山堂 (1968)
- 3) 小熊幸一, 黒田六郎: 分析化学, **19**, 615 (1970)
- 4) 滝谷昭司: *ibid.*, **22**, 223 (1973)
- 5) Y. Maki, Y. Murakami: *J. Radioanal. Chem.*, **22**, 5 (1974)
- 6) Y. Maki: *ibid.*, **27**, 33 (1975)
- 7) H. Behrens: *Z. Anal. Chem.*, **236**, 396 (1968)
- 8) L. Haikal: *J. Chromatogr.*, **76**, 191 (1973)
- 9) W.J. Van Ooij, J.P.W. Houtman: *Z. Anal. Chem.*, **236**, 407 (1968)
- 10) U. Lüth, P.G. Waser: *Nature*, **205**, 1190 (1965)
- 11) S.F. Contractor, B. Shane: *J. Chromatogr.*, **41**, 483 (1969)
- 12) K. Randerath: *Anal. Chem.*, **41**, 991 (1969); *Anal. Biochem.*, **34**, 188 (1970)
- 13) S. Prydz, T.B. Melö, J.F. Koren, E.L. Erikson: *Anal. Chem.*, **42**, 156 (1970); *J. Chromatogr.*, **47**, 157 (1970)
- 14) S. Prydz, T.B. Melö, J.F. Koren: *Anal. Chem.*, **45**, 2106 (1973)
- 15) T.B. Melö, S. Prydz: *Anal. Chem.*, **42**, 1093 (1970)
- 16) 松岡理: 第8回日本アイソトープ会議報文集, 463 (1968)
- 17) 進藤英世, 中島栄一, 桑原義美, 平田明, 杉田定男: *Radioisotopes*, **17**, 433 (1968)
- 18) F.L. Snyder: *Isotop. Radiat. Technol.*, **6**, 381 (1969)
- 19) S. Prydz: *Anal. Chem.*, **45**, 2317 (1973)
- 20) T.O. Seim, S. Prydz: *J. Chromatogr.*, **73**, 183 (1972)
- 21) S. Prydz, T.B. Melö, J.F. Koren: *ibid.*, **59**, 99 (1971)
- 22) I. Smith, S.E. March, P.E. Mullen, P.D. Mitchell: *ibid.*, **82**, 75 (1973)
- 23) B.R. Pullan, J.J.P. De Lima: *Nucl. Inst. Method*, **124**, 149 (1975); *ibid.*, **124**, 153 (1975)
- 24) M. Wenzel, A. Abdul Wahid: *Int. J. Appl. Rad. Isotop.*, **25**, 119 (1975)
- 25) R.J. Redgwell, N.A. Turner, R.L. Bielen-ski: *J. Chromatogr.*, **88**, 25 (1974)
- 26) A. Breccia, F. Spalletti: *Nature*, **198**, 756 (1963)
- 27) H. Hamaguchi, N. Ikeda, A. Iwasa: *Radioisotopes*, **13**, 377 (1964)
- 28) A. Moghissi: *J. Chromatogr.*, **13**, 542 (1964)
- 29) R. Kuroda, K. Oguma: *Anal. Chem.*, **39**, 1003 (1967)
- 30) Y. Maki, Y. Murakami: *J. Radioanal. Chem.*, **14**, 317 (1973)
- 31) 牧康行, 田中一行, 村上悠紀雄; 第8回日本アイソトープ会議報文集, 191 (1968)
- 32) H. Seiler: *Helv. Chim. Acta*, **52**, 319 (1969)
- 33) H. Seiler, M. Seiler: *ibid.*, **53**, 601 (1970)
- 34) 牧康行: 分析化学, **22**, 856 (1973)
- 35) I.S. Kirin, V.K. Isupov, Yu. K. Gusev: *Radiokhimiya*, **12**, 500 (1970); *C.A.*, **73**, 444, 136902K (1970)
- 36) G. Bottura, A. Breccia, F. Marchetti, F. Spalletti: *Ric. Sci., Rend., Sez. A.*, **6**, 373 (1964); *C.A.*, **63**, 1423d (1965)
- 37) N. Ikeda, T. Sukawa, K. Oguma: *Radioisotopes*, **17**, 68 (1968)

- 38) V.M. Zaitsev, V.S. Guselnikov, S.M. Makomalkina: *Radiokhimiya*, **11**, 352 (1969)
- 39) S. Palagyi, M. Zaduban: *Chem. Zvesti.*, **23**, 876 (1969)
- 40) H. Seiler: *Helv. Chim. Acta*, **54**, 533 (1971)
- 41) S. Kawamura, K. Kurotaki, H. Kuraku, M. Izawa: *J. Chromatogr.*, **26**, 557 (1967)
- 42) A.C. Handa, K.N. Johri: *Chromatographia*, **4**, 530 (1971)
- 43) H.A. Foner: *Analyst*, **94**, 392 (1969)
- 44) M. Lesigang-Buchtela: *Mikrochim. Acta*, 1027 (1969)
- 45) A. Daneels, D.L. Massart, J. Hoste: *J. Chromatogr.*, **18**, 144 (1965)
- 46) 石田宏二, 伊藤隆夫, 黒田六郎: 分析化学, **17**, 1112 (1968)
- 47) K. Oguma: *Talanta*, **15**, 860 (1968)
- 48) 谷川啓一, 荒川基一: 分析化学, **20**, 274 (1971)
- 49) T. Shimizu, R. Ishikura: *J. Chromatogr.*, **56**, 95 (1971)
- 50) 牧康行, 村上悠紀雄: 日化誌, **1**, 85 (1972)
- 51) G. Bottura: *Ann. Chim.*, **57**, 148(1967); *C.A.*, **67**, 17506a (1967)
- 52) 牧康行, 野尻利明: 分析化学, **22**, 856 (1973)
- 53) M.L. Buchtela, K. Buchtela: *Michrochim. Acta*, **4**, 670 (1967)
- 54) Y.S. Kim, Y.C. Yim: *J. Korean Nucl. Soc.*, **5**, 339 (1973)
- 55) K. Smidt, W. Riess, H.P. Egger, H. Keberler: *Int. Conf. Radioactive Isotop. Pharmacol.*, **67** (1967, Pub.1969)
- 56) G.N.B. de Salas, N.L. Pde Troparevsky, A.E.A. Mitta: *J. Chromatogr.*, **45**, 326 (1969)
- 57) J. Alvarez, G.N.B. de Salas, A.E.A. Mitta, P. Raban: *ibid.*, **45**, 328 (1969)
- 58) 海老原寛, 上沖寛: 分析化学, **24**, 56 (1975)
- 59) 浦久保五郎, 永松国助, 池淵秀治: *Radioisotopes*, **23**, 342 (1974)
- 60) J. Alvarez: *J. Chromatogr.*, **45**, 328(1969)
- 61) 牧康行, 村上悠紀雄: 日化誌, **92**, 1911, (1970); 特許 第792721号, ^{99m}Tc の製造法
- 62) 森五彦: 分析化学, **16**, 1320 (1967)
- 63) W.J. van Ooij, J.P.W. Houtman: *Radiochim. Acta*, **20**, 47 (1973); *ibid.*, **20**, 21 (1973)
- 64) E.S. Filatov, P.P. Kukin, Yu. A. Ivanov: *Radiochem. Radioanal. Lett.*, **15**, 157 (1973)
- 65) Y.S. Kim: *J. Korean Nucl. Soc.*, **5**, 202 (1973)