

キャピラリーSFCによるポリスルフィド化合物の分離分析

新製品開発研究所 分析研究室 深谷秀貴

1 はじめに

超臨界流体クロマトグラフィー(Supercritical Fluid Chromatography, SFC)は移動相として超臨界流体を用いることを特徴とするクロマトグラフィーである。SFCは1962年に Klesper¹⁾らによって初めて報告された後、1980年中頃には基礎技術が確立され、ガスクロマトグラフィー(GC)と高速液体クロマトグラフィー(HPLC)の両方の特徴を併せ持つ手法として注目を集めている。SFCには移動相に用いる超臨界流体の性質からGCやHPLCにはない特徴があり、その特徴を生かして油脂成分の分離分析²⁾、合成高分子のような重合同族体の分離分析³⁾などに活用されてきた。

SFCは分離に用いるカラムの種類によってキャピラリーSFC(C-SFC)と充填カラムSFC(P-SFC)に大別され、それぞれ得意とする分野が異なっている。分析研究室では、1998年にC-SFC装置を自製して種々の試料への応用を試みてきた。本報では、C-SFC法の特徴・測定原理と最近の分析実施例について紹介する。

2 基礎原理^{4)~8)}

2.1 超臨界流体とは

物質の状態図を図1に示す。物質を臨界点以上の温度及び圧力にすると、物質は気体でも液体でもない流体相が形成される。この状態にある流体を超臨界流体と呼ぶ。

状態図からもわかるように、物質は臨界点付近では、圧力を変えらることによって、気体に近い状態から液体に近い状態まで密度を連続的に変化させることが出来る。物質の粘度、拡散係数や極性

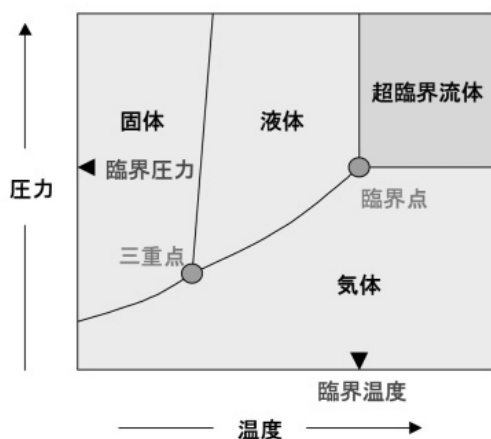


図1. 物質の状態図

などの諸物性もそれと共に変わる。超臨界流体は、これらの物性を制御することにより高い溶解力と高拡散性という特性を併せ持つことから、化学物質の抽出・分離などの抽出媒体として早くから利用されてきた。SFCはこの特性をクロマトグラフィーに応用した手法である。

表1にSFCで使用される代表的な物質の臨界定数を示す⁴⁾。これら物質のうち、現在最も注目されている物質は二酸化炭素(臨界温度31、臨界圧力7.38MPa)と水(臨界温度374、臨界圧力22.1MPa)である。特に二酸化炭素は比較的容易に超臨界状態を実現することができるのに加えて、低毒性かつ不燃性でありさらに安価であるため最も広く利用されている移動相物質である。ただ二酸化炭素や炭化水素類は無極性の移動相であるので、極性化合物の分離には溶出力が不足する。そこでメタノールやエタノールといった少量の極性溶媒を修飾剤(modifier)として添加することが多い。

2.2 超臨界流体を移動相に用いる利点

表2に超臨界流体、気体及び液体の諸物性を示す。このような物性及び特異な性質を有する移動相を用いることでSFCは以下のような特徴を持つ³⁾⁸⁾。

超臨界流体の密度は気体より $2 \sim 5 \times 10^2$ 倍大きく、どちらかという液体に近い。密度が大きい方が分子同士の相互作用が増大して分子間力が強くなるため、溶質の溶解度が大きくなる。それゆえ、GCで分離困難な高沸点化合物の分離が可能となる。

表1 主な物質の臨界定数

	臨界温度(°C)	臨界圧力(MPa)
二酸化炭素	31.0	7.38
フロン13	28.8	3.92
エタン	32.2	4.88
プロパン	96.6	4.24
ベンゼン	289.2	4.90
メタノール	239.6	8.09
エタノール	243.0	6.38
水	374.2	22.12

表2 超臨界流体、気体及び液体の諸物性値

	密度(g/cm ³)	粘度(Pa·s × 10 ⁻⁵)	拡散係数(cm ² /s)
気体	(0.6~2.0) × 10 ⁻³	0.5~3.5	0.01~1.0
超臨界流体	0.2~0.9	2.0~9.9	(0.5~3.3) × 10 ⁻⁴
液体	0.8~1.0	30~240	(0.5~2.0) × 10 ⁻⁵

超臨界流体の粘度は液体に比べて1~2桁小さくむしろ気体に近い。一方、超臨界流体中での拡散係数は液体中より1桁高いことから、液体を移動相に用いる場合と比べて、クロマトグラフィーにおける分離能が大幅に向上する。また、移動相の流速を大きく設定できるので分析時間の短縮が可能になる。

温度と圧力を制御することで超臨界流体の溶質の溶解力を幅広く変化させることができる。つまり、単一の流体で溶出力を調節できることになり、少量のmodifierを添加すれば、溶出力の選択範囲を更に広げることが可能である。

二酸化炭素のような常温気体である物質の超臨界流体は、常温・常圧では気体として揮散してしまうので、分取を行なった後の移動相除去の手間が大幅に省ける。

3 C-SFC装置の特徴^{9)~10)}

C-SFC装置の典型的な装置構成図を図2に示す。C-SFCは分離カラムや検出器など装置的にはキャピラリーGCに近い構成となっている。分離カラムには内径0.1~0.05mm、長さ10m程度のカラムが使用され、キャピラリーGCで一般的に使用されている内径0.25mm、長さ30m程度のカラムに近いカラム効率を持っている。

検出器には殆どの有機化合物に応答可能な万能型検出器である水素フラームイオン化検出機(FID)を用いた装置が一般的であるが、そのほかに熱イオン化検出器、炎光光度検出器、電子捕獲検出器などGC用検出器が使用されることもある。しかし、これらの検出器はどれも移動相に有機溶媒を含むものが使用できないので、C-SFCの移動相には二酸化炭素が単独で使用されることが多い。

キャピラリーGCと装置的に大きく異なるのは圧力制御に関する部分で、加圧ポンプとして40MPa程度まで加圧可能なシリンジポンプや往復動ポンプが使用され、圧力制御のためにカラム出口にリストリクターと呼ばれるキャピラリーカラム用抵抗管が取り付けられる。

C-SFCは分離能が高い反面、溶質注入量のキャパシティーが少なく、多量の試料の導入が困難であることが欠点で、微量成分の検出や分取クロマトグラフィーにおいてはP-SFCの方が優れている。

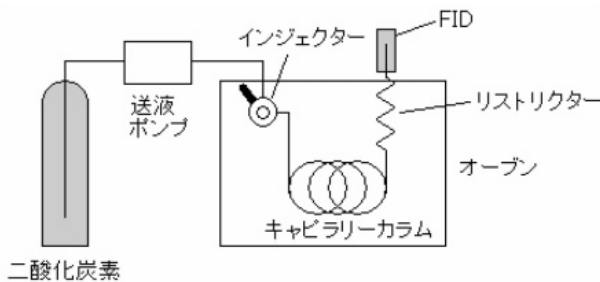


図2 C-SFC装置の構成図

被検試料はポリスルフィド結合を含む市販の化合物で、メーカーのカatalog上はテトラスルフィド(分子量538)となっている。しかし、実際には硫黄数の異なる S_2 体~ S_n 体の混合物であり、 $R-S_n-R$ (分子量: $410 + 32n$)という構造式で表される。この試料を絶対分子量が測定可能なマトリックス支援レーザー脱離イオン化-飛行時間型質量分析法(MALDI-TOFMS)で分析した時のMALDIマススペクトルを図3に示す。 $m/z=497, 529, 561, 593$ (図中の○印を付したピーク)に硫黄1原子分である分子量32間隔のシグナルが観察され、それぞれ S_2 体、 S_3 体、 S_4 体、 S_5 体のNa付加体に相当する。

この試料について、ガスクロマトグラフ/質量分析法(GC/MS)、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)、及びC-SFCの3つの分析法で測定し、比較した。

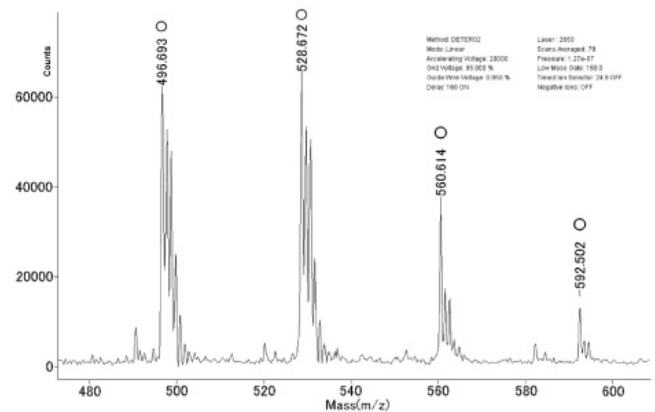


図3 ポリスルフィド化合物のMALDIマススペクトル
(マトリックス: Diethanol, イオン化剤: NaI, ポジティブイオン検出)

4.1 装置及び測定条件

4.1.1 ガスクロマトグラフ/質量分析計

ガスクロマトグラフ/質量分析計には島津製作所製QP-5050A型GC/MSを使用し、分離カラムにはJ&W製DB-5(0.25mmID×30m、膜厚0.25 μ m)を用いた。カラムの昇温条件は初期温度70から毎分10の速度で昇温した後、最終的に300で30分間保持した。

4.1.2 サイズ排除クロマトグラフ

サイズ排除クロマトグラフには東ソー製HLC-8020型SECを使用し、分析カラムには東ソー製TSKgelGHM_{XL}-L(7.8mmID×30cm)を4本使用した。溶離剤にはTHFを用い、検出器には示差屈折計(RI)を使用した。

4.1.3 キャピラリー超臨界流体クロマトグラフ

C-SFC装置には当研究室で自作した装置を使用した。送液ポンプには島津製作所製LC-6A型ポンプに冷却用クーラーを取り付け、

圧力コントロールができるように改造した。オープン及び検出器(FID)は日立製作所製163型GCを転用し、リストリクターはフーズシリカキャピラリーチューブの先端を加工して作製した。

分離カラムにはAgilent製HP-1(0.10mmID×10m,膜厚0.4μm)を使用して、カラム温度は100℃で固定した。移動相には二酸化炭素を用い、圧力条件は初期圧100atmから毎分5atmの速度で昇圧した後、最終的に270atmで16分間保持した。

4.2 結果

GC/MS分析によるトータルイオンクロマトグラムを図4に示す。20minまでに検出されている低沸不純物を除けば、32.7minにピークが1本検出されたのみであった。このピークのマスペクトルを解析した結果、分子量474のS₂体であることが分かった。結局GC/MSで分析できたのはS_n体中最も沸点の低いS₂体のみで、主成分とされているS₃体は検出すらされなかった。

SECクロマトグラムを図5に示す。32.6minにシャープなピークが1本検出されているのみで、硫黄含有数による分子量分布は認められなかった。隣接ピークの分子量の差は硫黄1原子分の32しかないので、SECでは各ピークを分離することは非常に困難であると判断した。

C-SFCクロマトグラムを図6に示す。10本以上のピークが検出されており、C-SFCでは硫黄含有数ごとに化合物が良好に分離することが確認できた。GC/MS分析及びMALDI-TOFMS分析の結果と組合わせて考察すると、検出された成分はS₂体～S₁₂体であると推定された。ピーク面積値から求めた各成分の濃度を表3にまとめた。この結果テトラスルフィドと称しているが、実際には最も多く存在するのはS₃体であり、各成分濃度を考慮して1分子当りの平均硫黄含有数を計算すると1分子当たり4.1個となった。

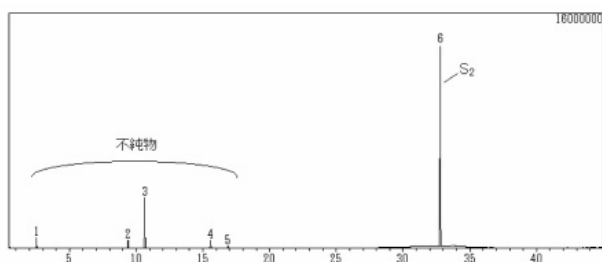


図4 ポリスルフィド化合物のトータルイオンクロマトグラム

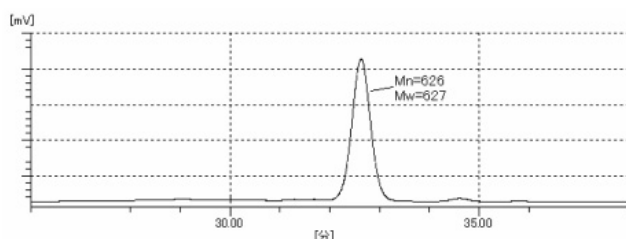


図5 ポリスルフィド化合物のSECクロマトグラム

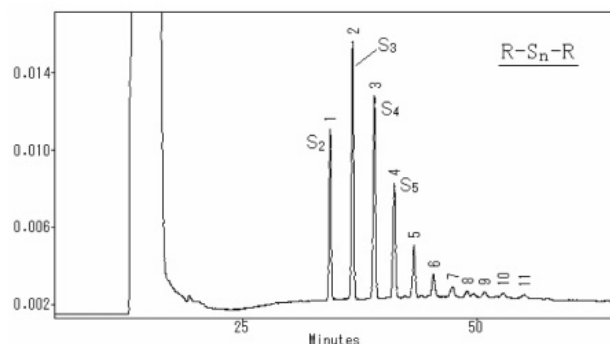


図6 ポリスルフィド化合物のC-SFCクロマトグラム

表3 C-SFCで検出された各成分の組成比

No.	成分名	組成比(%)	No.	成分名	組成比(%)
1	S ₂ 体	16.7	7	S ₈ 体	1.9
2	S ₃ 体	27.5	8	S ₉ 体	0.9
3	S ₄ 体	24.4	9	S ₁₀ 体	1.0
4	S ₅ 体	14.6	10	S ₁₁ 体	0.7
5	S ₆ 体	7.0	11	S ₁₂ 体	0.7
6	S ₇ 体	3.1		その他	1.5

5 おわりに

オリゴマーの分離分析における1つの手法としてC-SFC法について紹介した。C-SFC法を含めたSFCは移動相の圧力と温度を制御することで溶質の溶解力を幅広く選択することができるという優れた特徴があり、GCやHPLCを補う第3のクロマトグラフィーとして期待されている。また近年、環境意識の高まりにより、有機溶媒の使用量の削減が望まれており、その観点からもSFCは有効な手法である。

今回はSFCの分離分析法としての側面について重点的に紹介したが、SFCは混合物の分取法としても有用な手法である。今後もSFCを積極的に活用し、オリゴマーを中心とした当社の製品開発に役立てていきたいと考えている。

謝辞

本研究にあたり御指導賜りました豊橋技術科学大学物質工学系平田幸夫助教授に深く感謝致します。

引用文献

- 1) E.Klesper, A.H.Crown, D.A.Turner, *J.Org.Chem.*, 27, 700 (1962)
- 2) H.E.Schwartz, *LC-GC*, 110, 14(1987)
- 3) 右手浩一, *高分子加工*, 43, 518(1994)

-
- 4) 藤田一紀, *ぶんせき*, 1985, 847.
 - 5) 前田恒昭, 保母敏行, *ぶんせき*, 1988, 332.
 - 6) 杉山謙吉, *ぶんせき*, 1991, 205.
 - 7) 平田幸夫, *ぶんせき*, 1995, 651.
 - 8) 平田幸夫, *ぶんせき*, 1997, 796.
 - 9) 平田幸夫, *分析化学*, 48, 21(1999).
 - 10) 日本分析機器工業会編, "分析機器総覧2000", *分析機器解説*(2000), p.79.