

ノート

薄層クロマトグラフィー及びゲルパーミエーション クロマトグラフィーによる有機りん化合物の分離

大 城 博 伸, 佐 藤 宗 衛, 大 野 幸 雄*

Separation of Organophosphorus Compounds by Thin Layer Chromatography and Gel Permeation Chromatography.

Hironobu OHSHIRO, Soei SATO and Yukio OHNO*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance,
531, Iwase, Matsudo-Shi, Chiba-Ken, 271 Japan

Separation of alkylphosphates and alkylphosphites were examined by Thin Layer Chromatography (TLC) and Gel Permeation Chromatography (GPC).

The trialkylphosphates could be mutually separated with GPC method.

It was indicated that trialkyl phosphite was converted to dialkylphosphite through the Separation on GPC column.

For the TLC method, the alkylphosphate and alkylphosphite were separated as shown in Table 6.

It was suggested that this techniques is useful for the analysis of organophosphorus compounds.

—Received Sep. 7, 1981—

1 緒 言

鎖状のアルキル基をもつりん酸タイプ及び垂りん酸タイプのエステルは、石油添加剤、プラスチック添加剤など、極めて広い範囲にわたって用いられている。

これらりん酸エステル及び垂りん酸エステルは、関税率表上の取扱いが異なっており、それぞれ、第 29・19 号、第 29・21 号に分類され、またこれら相互の混合物、あるいはアルキル基及び置換度の異なるものの混合物は用途により第 38・14 号、第 38・19 号—11 などに分類される。したがって、これらりん化合物の輸入に際しては構造の確認とともに、アルキル基及び置換度

に関連した単一性の確認が必要となる。

この中で構造確認 (^{13}C -NMR 法) については既に報告した¹⁾。

一般にこれら化合物の単一性の確認は各種クロマト法で行われている^{2)~4)}が、なかでもゲルパーミエーションクロマトグラフィー (以下 GPC という) は分子サイズによる分離が可能で、置換度の異なるものの相互分離に有効と考えられる。また、薄層クロマトグラフィー (以下 TLC という) は分析の簡便性・迅速性の面から税関分析においては極めて有効な手段となっている。

TLC 法による有機りん化合物の分離についてはこれまでいくつかの報告があり、Bloom⁵⁾及び Lamotte^{6) 7) 8)}らが、各種の芳香族有機りん酸エステルと、いく

* 大蔵省関税中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬 531

つかの脂肪族有機りん酸エステルの分離を報告している。

ここでは主に TLC 法により、置換度又はアルキル基の異なるりん酸タイプと亜りん酸タイプのエステルの分離について検討し、さらに GPC 法による分離結果と比較検討し、いくつかの知見を得たので報告する。

2 実験方法

2・1 試料

標準試料として東京化成製、各種りん酸エステル、亜りん酸エステルの特級試薬約 30 種を用いた。

2・2 装置及び操作

2・2・1 GPC

GPC は日本分析工業社製、LC-07 型液体クロマトグラフを用い、実験条件は次のとおりである。

カラム: JAIGEL-1H (分離分子量範囲 100~1,000)

溶出溶剤: クロロホルム (特級)

流速: 3ml/min

注入試料: 2%クロロホルム溶液, 3ml

検出器: 示差屈折計及び紫外検出器 (254nm)

2・2・2 TLC

TLC の条件は次のとおりである。

試料: 標準試料をアセトン及びクロロホルムに約 0.5% の濃度になるように調製し、毛細管で適量スポットした。

吸着剤: Kieselgel G F₂₅₄ (E. Merck 製)、及びそのプレートを流動パラフィン及び 2% 水酸化ナトリウム 95% メタノール溶液で処理し、乾燥したものを用いた。

展開溶剤及び展開法: n-ヘキサン, エチルエーテル, アセトン, 酢酸チエル, n-ブタノール, メタノール等の特級試薬を単一又は混合して用いた。展開法はいずれも上昇法で、約 13cm 展開した。

検出法: モリブデン青法及びよう素蒸気法で検出した。

3 結果及び考察

3・1 亜りん酸エステルの分離

3・1・1 GPC による分離

15 種の亜りん酸エステルを GPC 法により分離した結果を Table 1 に示した。

Table 1 Elution volume of dialkyl and trialkyl phosphite

Compound alkyl number	Elution Volume (ml)	
	Dialkyl phosphite	Trialkyl phosphite
C ₁	195	195
C ₂	195	195
C ₃	210	210
C ₄	210	210
phe	168	—
C ₈	143	137
C ₁₀	137	130
C ₁₂	127	122

C₄ 以下の低級アルキル基をもつ亜りん酸ジエステルでは、溶出容量が 195~210ml となっており、これは排除限界に近く、各々のピークも重なるため、相互の分離は困難であった。一方、長鎖アルキル基をもつものでは、それぞれの溶出容量に 6~10ml の差があるので、ある程度分離は可能であるが、混合物の含有割合に大きな差がある場合には、相互の分離は良好でなかった。

アルキル亜りん酸トリエステルでは、トリエステルが分離カラム中でジエステルに分解することが示された。このことは、溶出容量が亜りん酸ジエステルのものと差がないこと、及び溶出成分の赤外吸収スペクトル結果がジエステルの吸収を示すことから示唆される。

したがって、亜りん酸トリエステルの分離に GPC 法は適用できなかった。

3・1・2 TLC による分離

3・1・2・1 アルキル亜りん酸トリエステルの分離

低級アルキル亜りん酸トリエステルは比較的不安定な化合物であり、酸性条件下及び空気中の水分で容易に加水分解されることが知られている。実際、通常のシリカゲル薄層プレートで展開すると一部分解を起こし、トリエステルとジエステルの 2 成分からなるスポットを示す。そこで、薄層プレートを 2% 水酸化ナト

ノート 薄層クロマトグラフィー及びゲルパーミエーションクロマトグラフィーによる有機りん化合物の分離

リウム溶液 (95%メタノール溶液) でアルカリ処理し、乾燥したものを用いたところ良好な結果を得た。

すなわち、Fig. 1 に示したように、展開溶剤としてヘキサン-アセトン (95:5 v/v) を用いることにより、低級アルキル亜りん酸エステルは、アルキル基相互の分離が可能であり、展開操作中での分解を防止することができた。

この条件下では、同一アルキル基をもつジエステルは原点付近に留まり、また、長鎖アルキル基をもつトリエステルは溶剤先端付近まで展開されるので、置換度差及びアルキル基差による分離確認は容易であった。

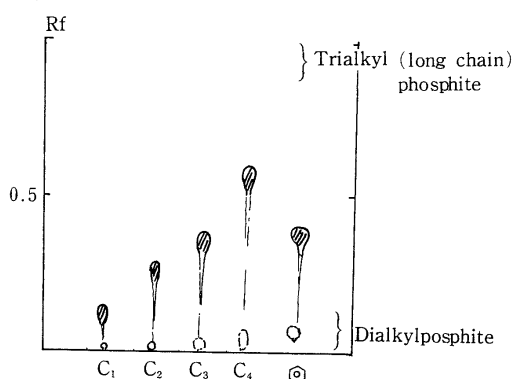


Fig. 1 Chromatogram of trialkyl ($C_1 \sim C_4$) phosphite

Adsorbent : Kieselgel 60 F₂₅₄
treated with 2% NaOH
Solvent : Hexane : Acetone
(95 : 5 v/v)

Fig. 2 に長鎖アルキル亜りん酸トリエステルの TLC 結果を示した。

長鎖アルキル亜りん酸トリエステルは、Fig. 1 に示したように溶剤先端付近まで展開され、アルキル基差による Rf 値にはほとんど差がみられなかった。しかし、薄層プレートを 2%水酸化ナトリウム及び 10%流動パラフィンで処理し、メタノール:ブタノール (70:30v/v) の混合溶剤で逆相法的に展開すると良好な分離を示した。

この場合、同一のアルキル基をもつジエステルでは Rf 値が 0.7~0.8 であり、一方、低級アルキル基をもつ

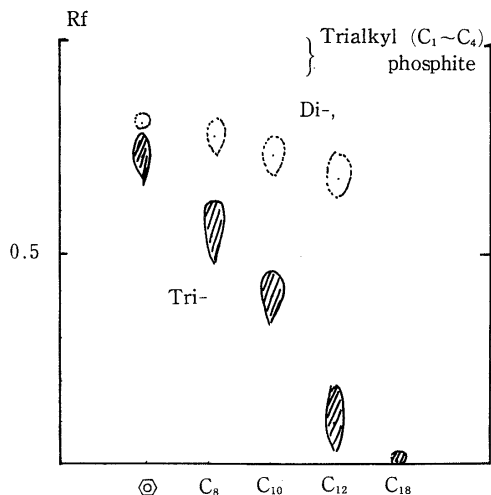


Fig. 2 Chromatogram of trialkyl (long chain) Phosphite

Adsorbent : Kieselgel 60 F₂₅₄
treated with 2% NaOH
and 10% Liquid paraffin
Solvent : Methanol : Butanol (7 : 3v/v)

Table 2 Rf values of Dialkyl phosphite with various solvents

Compound	Solvent			
alkyl number	Hexane	Chloroform	Acetone	Hexane 60 Acetone 20 Ethyl acetate 20
C ₁	0.00	0.1-0.2	0.65	0.15
C ₂			0.78	0.29
C ₃			0.82	0.42
C ₄			0.85	0.51
C ₈			0.90	0.62
C ₁₀	0.3-0.4	0.95	0.95	0.72
C ₁₂			0.95	0.79
			0.95	0.84

Absorbent : Kieselgel 60 F₂₅₄
Detection : I₂ Vapour
Distance of run : 13.5 cm

トリエステルでは溶剤先端付近まで展開されるので、これら化合物の相互分離は容易である。

3・1・2・2 アルキル亜りん酸ジエステルの分離

アルキル亜りん酸ジエステルを種々の溶剤で展開した結果を Table 2 に示した。

展開溶剤として *n*-ヘキサンを使用した場合はまったく展開されず。また、アセトンを使用した場合は溶剤先端付近まで展開され、各々のスポットは近接し、良好な分離結果は得られなかった。しかし、*n*-ヘキサン：アセトン：酢酸エチルの混合溶剤 (60：20：20v/v) を使用した場合、低級アルキル基をもつ亜りん酸ジエステルの分離は良好であった。

上記溶剤で展開した薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示した。この条件下で亜りん酸トリエステルは、メチルエステルを除いてすべて溶剤先端付近まで展開されるので、これら化合物との置換度差による分離は容易である。

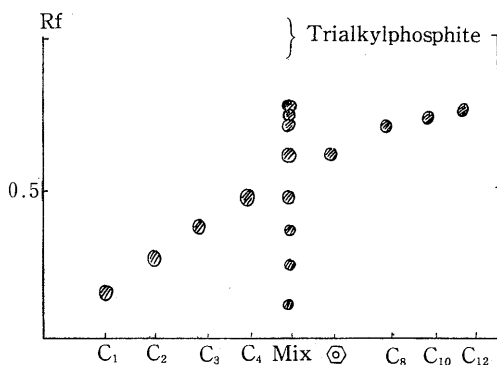


Fig. 3 Chromatogram of dialkyl phosphite

Adsorbent : Kieselgel 60 F₂₅₄
Solvent : Hexane : Acetone : Ethyl acetate (60 : 20 : 20v/v)
Detection : I₂ Vapour

次に、長鎖アルキル亜りん酸ジエステルを逆相法により分離した場合の結果を Table 3 に示した。

いずれの溶剤でもテーリング現象がみられたが、これら成分の分離にはテーリングの比較的少ないメタノール：アセトン (90：10v/v) が展開溶剤として適当と

考えられる。なお、この条件において低級アルキル亜りん酸ジエステルは溶剤先端付近まで展開される。

Table 3 Rf values of Dialkyl (C₈~C₈) phosphite with various solvents

Compound alkyl number	Solvent		
	Methanol 8 Ether 2	Methanol 8 Buthanol 2	Methanol 9 Acetone 1
C ₈₀	0.79	0.85	0.75
C ₁₀	0.74	0.82	0.67
C ₁₂	0.16	0.64	0.52
C ₁₈	0.3-0.1	0.3-0.3	0.3-0.2

Adsorbent : Kieselgel 60 F₂₅₄

treated with 10% liquid paraffin

Detection : I₂ Vapour

Molybdenum blue method

Distance of run : 13.5 cm

3・2 リン酸エステルの分離

3・2・1 GPC による分離

りん酸トリエステルを GPC 法により分離した結果を Table 4 に示した。

メチルエステルは溶出容量 172ml で、エチルエステルは溶出容量 158ml であり、相互の分離は良好であった。また、芳香族系のトリフェニルエステル、フェニルジメチルエステル、フェニルジエチルエステルも明瞭に分離されるので、GPC 法はこれら化合物の相互分離に有効であると考えられる。

Table 4 Elution volume of trialkyl phosphate

Compounds	Elution volume (ml)
(CH ₃) ₃	172
(C ₂ H ₅) ₃	158
(phe.) ₃	160
(phe.) (CH ₃) ₂	175
(phe.) (C ₂ H ₅) ₂	168

3・2・2 TLC による分離

3・2・2・1 アルキルりん酸トリエステルの分離

Fig. 4 にアルキルりん酸トリエステルのクロマトグ

ノート 薄層クロマトグラフィー及びゲルパーミエーションクロマトグラフィーによる有機りん化合物の分離

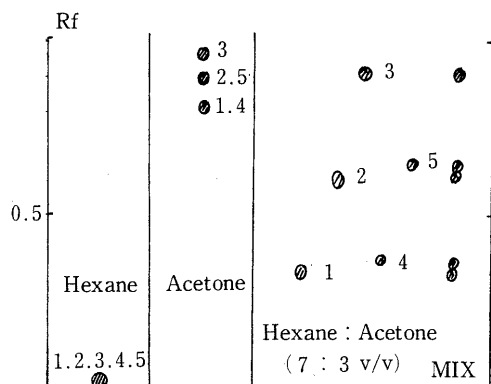


Fig. 4 Chromatogram of trialkyl phosphate

- Sample 1 : Methyl phosphate
 2 : Ethyl phosphate
 3 : Phenyl phosphate
 4 : Dimethyl phenyl phosphate
 5 : Diethyl phenyl phosphate

ラムを示した。

アルキルりん酸トリエステルはヘキサン-アセトン系溶剤で分離でき、アセトンの量を増すと Rf 値は大きくなり、また、アルキル基相互の Rf 値の差も大きくなった。

ここでは、ヘキサン：アセトン（70：30v/v）を使用することにより、メチルエステルとエチルエステルを

分離したが、プロピルエステル、ブチルエステルの相互分離もアセトンの割合を変えることにより可能である。

この条件下でアルキルりん酸ジエステルは原点付近に留まるので、トリエステルとジエステルの確認は容易である。

3・2・2・2 アルキルりん酸ジエステルの分離

アルキルりん酸ジエステルの Rf 値を Table 5 に示した。

低級アルキル基をもつりん酸ジエステルは、メタノール：エーテル(80：20v/v)の混合溶剤で、わずかにテーリング現象を示すが、アルキル基相互の分離は可能であった。この条件においてりん酸トリエステルは溶剤先端付近まで展開されるので、これら化合物との分離確認は容易である。

TLC 法による垂りん酸エステル及びりん酸エステルの分離条件を Table 6 に示した。

Table 5 Rf values of Dialkyl phosphate

Compound	Rf Values
Dimethyl phosphate	0.42
Diethyl phosphate	0.51
Di propyl phosphate	0.60
Dibuthyl phosphate	0.66

Adsorbent : Kieselgel 60 F₂₅₄

Solvent : Methanol : Ether (80 : 20 v/v)

Detection : Molybdenum blue method

Table 6 The recommended conditions for the separation of alkyl phosphate and alkyl phosphite on TLC.

Compound	Adsorbent	Solvent
Trialkyl (C ₁ ~C ₂) phosphate	Kieselgel 60 F ₂₅₄	Hexane : Acetone (70 : 30v/v)
Dialkyl (C ₁ ~C ₄) phosphate	kieselgel 60 F ₂₅₄	Methanol : Ether (80 : 20 v/v)
Trialkyl (C ₁ ~C ₄) phosphite	Kieselgel 60 F ₂₅₄ treated 2 % NaOH	Hexane : Acetone (95 : 5v/v)
Trialkyl (C ₈ ~C ₁₂) phosphite	Kieselgel 60 F ₂₅₄ treated 2 % NaOH and 10 % liquid paraffin	Methanol: Buthanol (70: 30 v/v)
Dialkyl (C ₁ ~C ₄) phosphite	Kieselgel 60 F ₂₅₄	Hexane: Acetone: Ethyl acetate (60: 20: 20 v/v)
Dialkyl (C ₈ ~C ₁₈) phosphite	Kieselgel 60 F ₂₅₄ treated 10 % liquid paraffin	Methanol: Acetone (90: 10 v/v)

4 要 約

TLC 法と GPC 法により、亜りん酸エステル、りん酸エステルのアルキル差及び置換度差による分離を検討した。

GPC 法により亜りん酸エステルを分離する場合、トリエステルでは展開中に分解し、ジエステルとしての挙動を示すため、分離確認ができなかった。またジエステルについてもほとんど分離されず、良好な結果は得られなかった。

一方、アルキルりん酸トリエステルについては良好な分離結果が得られ、これら化合物の分離に有用であった。

TLC 法で長鎖アルキル亜りん酸エステルを分離する場合、薄層プレートを流動パラフィンで処理し、逆相法的に展開すると良好な分離を示した。

TLC 法により亜りん酸タイプ及びりん酸タイプのエステルを分離した結果、各々について、アルキル基差による分離、置換度差による分離が可能であった。

文 献

- 1) 佐藤宗衛, 大野幸雄: 本誌, **21**, 11, (1980)
- 2) H. A. Moule, S. Greenfield: J. chromatog. **45**, 432, (1963)
- 3) E. J. Quinn, D. H. Ahlstrom: Anal chem. **43**, 587, (1971)
- 4) 清水勲: 油化学, **20**, 16. (1971)
- 5) P. J. Bloom: J. chromatog. **75**, 261, (1973)
- 6) A. Lamotte, Merlin: J. chromatog. **45**, 432, (1969)
- 7) A. Lamotte, A. Francina, J-C. Merlin: J. chromatog **44**, 75, (1969)
- 8) A.. Lamotte, M. Viricel: J. chromatog **76**, 381, (1973)