

ガスクロマトグラフによる 2, 4-ジニトロ フェニルヒドラゾンの分析

笹 村 泰 昭*
森 田 修 吾**

Gas Chromatographic Analysis of 2, 4-Dinitrophenylhydrazones

Yasuaki SASAMURA
Syūgo MORITA

要 旨

16 種のカルボニル化合物の 2, 4-ジニトロフェニルヒドラゾン (2, 4-DNPH) のガスクロマトグラフによる分析を試みた結果オンカラム, オンディクター方式のガラスカラムで電子捕獲検出器 (ECD) を使用した場合ヒドラゾンの前処理なしにベンゼン溶液中数百 μg までの検出が可能であった。

水素炎イオン化検出器 (FID) では数 μg まで検出できるが, 保持時間の小さいヒドラゾンのピークが溶媒ピークと重なる欠点があった。又ステンレスカラムを使用した場合ピークが認められずヒドラゾン分析には不相当と判断した。

元のカルボニル化合物が非対称の場合 sym, anti 型幾何異性体と考えられる 2 つのピークが認められた。

Synopsis

Sixteen carbonyl compounds have been analyzed as their 2, 4-dinitrophenylhydrazones by gas-liquid chromatography on 1.5 % OV-17 glass column. It makes feasible the identification of the order of 100 μg when the electron capture detector was employed.

Some of the 2, 4-dinitrophenylhydrazones gave double peaks. This phenomenon has been observed even when the derivative is further purified by repeated recrystallizations.

A possible explanation is that this is due to the separation of syn and anti isomers of 2, 4-dinitrophenylhydrazone.

緒 言

カルボニル化合物は 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン (2, 4-DNP) とすみやかに反応し良晶性の黄色または橙色の 2, 4-ジニトロフェニルヒドラゾン (2, 4-DNPH) を生成する。

この 2, 4-DNPH の分析は薄層¹⁾, ペーパー²⁾, カラムクロマト³⁾ 法による分離と種々の検出方法を組合せて行われているが簡便さ, 迅速性, 検出感度の点からやや難点がある。

ガスクロマトグラフィーによるものでは, ヒドラゾンを分離カラムの前で硫酸による加水分解をしたり⁴⁾, ある種のカルボン酸と混合溶融してもとのアルデヒドを再生し, そのアルデヒドを検出する方法⁵⁾, あるいはヒドラゾンをオゾン分解し遊離の脂肪酸として分析している例⁶⁾がある。

Kallio ら⁷⁾ はガスクロマトグラフの検出器に水素炎イオン化検出器 (FID) および電子捕獲検出器 (ECD) を利用しそれぞれ 2, 4-DNPH の酢酸エチル, *n*-ヘキサン溶液を直接分析し良好な結果を得ている。著者らも 2, 4-DNPH を高感度で分離分析することに意義を認め主に ECD を使用し 2, 3 の知見を得たのでその結果について報告する。

* 助手 工業化学科

** 教授 工業化学科

実 験

カルボニル化合物の 2, 4-DNPH の調整

カルボニル化合物はアクロレイン、クロトンアルデヒドを硫酸ナトリウムで脱水後窒素気流中で蒸留所定の沸点留分を使用した以外は市販品をそのまま実験に供した。2, 4-DNP は市販品を濃硫酸と蒸留水で溶解後エタノールを加え⁹⁾ 2 週間以内に使用した。2, 4-DNPH の合成はカルボニル化合物を水あるいはエタノール溶液とし計算量の 2, 4-DNP 溶液を加え室温で 30 分攪拌し析出した沈澱を 50% エタノールで 1 回蒸留水で数回洗浄後アクロレイン、クロトンアルデヒドの 2, 4-DNPH は酢酸エチル、メチル *n*-ヘキシルケトン、ジジェチルケトンのは *i*-プロピルアルコール、ベンゾインのはピリジン、それ以外のものについては 95% エタノールから 2~5 回再結晶しシリカゲル入りデンシテーターで真空乾燥した。得られた 2, 4-DNPH の融点を Table 1 に示す。*n*-ブチルアルデヒドのヒドラゾン値は文献値よりもかなり低いがガスクロマトグラフで他と変ったピークが認められなかったのでそのまま使用した。ガスクロマトグラフへはこの 2, 4-DNPH を残留農薬分析用ベンゼンにて 0.2~2×10⁻¹¹ モル (0.5~10 ng) 2, 4-DNPH/ μ l に調整し 1~5 μ l 注入した。

ガスクロマトグラフ

予備的な実験でステンレスカラムではピークが表われないことガラスカラムを使用した場合でも FID では保持時間の小さいホルムアルデヒド、ベンゾインの 2, 4-DNPH では溶媒のベンゼンが防げになり好ましくないこと、ECD が FID に比べ数千倍の高感度で検出が可能であることがわかったので以後の実験は専ら ECD 付オンカラム、オンディテクター方式の日立 023-E 型 (⁶³Ni 10 mCi) を使用した。運転条件は

Column: OV-17 1.5%, 3 mm×1.5 m
support~ChromosorbW (AW-DMCS) 60~80 mesh
Carrier Gas: N₂ (99.995% up)
Diluent Gas: N₂ (99.995% up) 10 ml/min
Inj. Temp.: Notch 7
Detector Volt: 30
Amplifier Range: 10, Attenuation: 32
Recorder Range: 1 mV

でそれ以外の条件は Fig. or Table 中)に示した。

結果と考察

元のカルボニル化合物が対称的なホルムアルデヒド、アセトン、ジエチルケトンの 2, 4-DNPH は単一

Table 1

Melting points (mp) and retention times (R_t , R'_t) of 2, 4-dinitrophenylhydrazones of carbonyl compounds

Carbonyl compound	mp (°C) (literature) ⁹⁾		R_t (min)	R'_t (min)
Formaldehyde	164~165	(166)	1.5	
Acetaldehyde	152	(147,168)	2.1	sholder
Propionaldehyde	153~154	(154)	2.6	sholder
<i>n</i> -Butyraldehyde	98~101	(122)	3.3	2.9
<i>i</i> -Butyraldehyde	182	(182)	2.8	2.3
Caproaldehyde	104~105	(104)	6.7	5.6
Enanthaldehyde	103	(108)	9.2	7.7
Capnylaldehyde	100	(106)	12.7	10.6
Caprinaldehyde	102~104	(104)	24.2	20.0
Lauraldehyde	102~104	(106)	46.0	38.5
Acrolein	168~169	(165)	2.7	2.4
Crotonaldehyde	193	(190)	5.3	4.5
Acetone	125~125.5	(126)	2.5	
Methyl <i>n</i> -hexylketone	55	(58)	9.9	8.3
Diethyl ketone	154	(156)	3.7	
Benjoin	282	(234)	1.7	1.2
2, 4-DNP	199~200	(194)	2.4	

R_t , R'_t ~ the retention times of main peaks and small peaks

のピークを示したがその他は Fig. 1 の例に見られるように保持時間の短い小さなピークについてメインピークが表われた。これらは再結晶をくりかえしてもピークの型状が変化しないこと、他の 2, 4-DNPH の保持時間に相当するものが見うけられないことから $>C=N-$ 結合に起因する syn, anti 型の幾何異性体の 2 成分であると推定した。Table 1 にメインピークと小さなピークの保持時間 R_t , R'_t を示した。

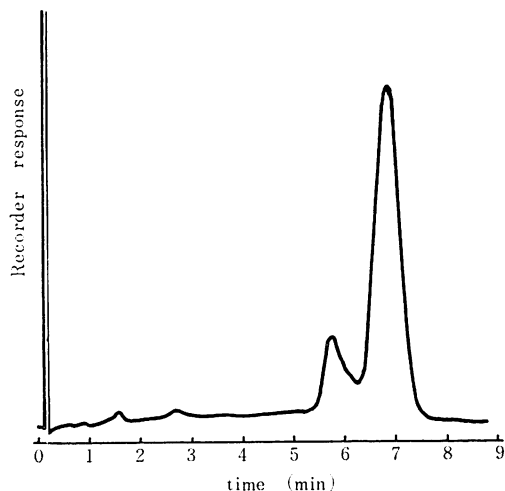


Fig. 1 Gas Chromatogram 2, 4-DNPH of *n*-Caproaldehyde

実験に使用した 2, 4-DNPH のうち直鎖脂肪族アルデヒドについてそれらの保持時間と元のアルデヒドの炭素数とを片対数にてプロットすると Fig. 2 のよう

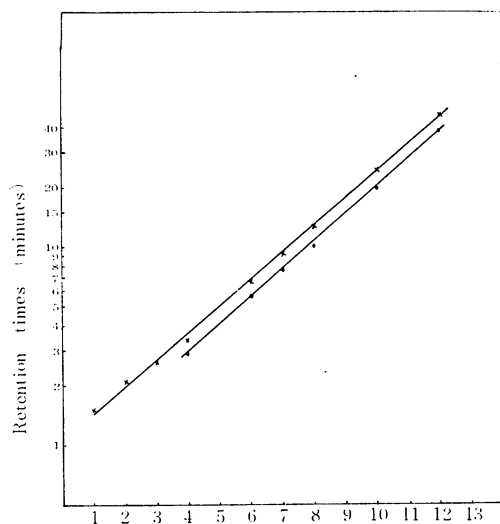


Fig. 2 R_t , R'_t vs C number

な直線関係が得られた。これはカラム中での 2, 4-DNPH の液相への分配的挙動が元のカルボニル化合物の性質に依存していることを意味する。

単一ピークを示すホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの 2, 4-DNPH の検量線の例を Fig. 3 に示す。

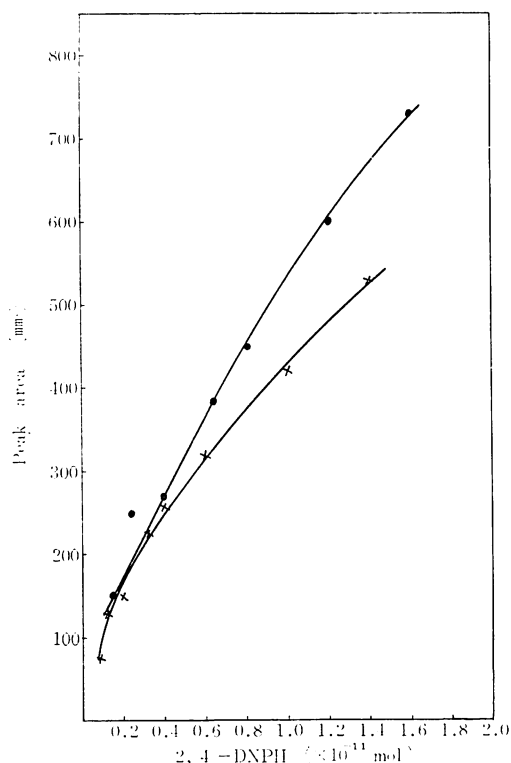


Fig. 3 Standard curves Peak area vs. mol of 2, 4-DNPH

直線的でないのは濃度に対し応答が指数関数的に増加する ECD 特有の現象であるが曲線はなめらかで低濃度では充分検量線として使用できる。この実験条件でピーク面積 150 mm² までを検出限界の目安とすれば 0.15×10^{-11} モルすなわち 300 pg 程度まで定量可能である。しかし定量にあたっては装置の条件を同じにセットしてもその感度は微妙に変化するので連続運転した同一日の検量線で行うよう注意しなければならない。

ま と め

電子捕獲検出器 (ECD-⁶³Ni 10 mCi) 付ガスクロマトグラフにて 2, 4-DNPH を加水分解等の前処理なしにベンゼン溶液中数百 pg の高感度で検出できた。

参 考 文 献

- 1) 武内ら 分析化学 **19**, 926~931 ('70)
- 2) 丸田ら 工化誌 **64**, 2129~2131 ('61)
- 3) Gordon ら Anal. Chem. **23**, 1754~1758 ('51)
Pippen ら ibid **29**, 1305~1307 ('57)
- 4) Kunitake Bull. Brewing Sci. **9**, 1~5 ('63)
- 5) 西 分析化学 **11**, 415~420 ('62)
- 6) Ronkainen ら J. Chromatog., **28**, 252~258
('67)
- 7) Kallio ら ibid, **65**, 355~360 ('72)
- 8) 日本化学会編「実験化学講座 続5」p 597 ('66)
- 9) 杉山登著「有機化合物の微量確認法」
付表 3, 17.

(昭和49年11月30日受理)