

Poroshell 120 PFP カラムを使用した 位置異性体の分析

アプリケーションノート

環境

著者

William Long and Jonathan Horton
Agilent Technologies, Inc.

はじめに

Agilent Poroshell 120 PFP (ペンタフルオロフェニル) 固定相は、ハロゲン化合物の位置異性体の分析で優れた保持力と選択性を実現します。PFP カラムは、ヒドロキシル基、カルボキシル基、ニトロ基、その他の極性基が含まれる極性化合物などの非ハロゲン化合物の選択的分析にも使用できます。官能基を芳香環またはその他の強い環系に配置すると、この選択性がさらに強化されます [1]。

このアプリケーションノートでは、トリメトキシベンゼンとジニトロベンゼンの 3 種類の位置異性体の分離を Agilent Poroshell 120 PFP カラムで行います。さらに、EPA 8330 に記載された 14 種類の爆発性化合物の分離についても説明します [2]。この混合物には複数の位置異性体対が含まれています。多くの場合、これらの位置異性体の完全な分離は Poroshell 120 PFP カラムだけで実施できます。それ以外には、有機溶媒含有量を下げると他の一部のカラムでも完全な分離が可能です。



Agilent Technologies

材料とメソッド

Agilent 1260 Infinity LC を使用しました。
構成は以下のとおりです。

- Agilent バイナリポンプ SL、最大 600 bar での送液に対応 (G1312B)
- Agilent カラムコンパートメント (G1316C)
- Agilent 高性能オートサンブラ SL Plus (G1376D)
- Agilent ダイオードアレイ検出器 (G4212A)、G4212-60008 10 mm 光路長、1 μ L フローセル搭載

以下のカラムを使用しました。

- Agilent Poroshell 120 PFP、4.6 \times 50 mm、2.7 μ m (p/n 699975-408)
- Agilent Poroshell 120 EC-C18、4.6 \times 50 mm、2.7 μ m (p/n 699975-902)
- Agilent Poroshell 120 Bonus-RP、4.6 \times 50 mm、2.7 μ m (p/n 699968-901)
- Agilent Poroshell 120 Phenyl-Hexyl、4.6 \times 50 mm、2.7 μ m (p/n 699975-912)

機器のコントロールとデータ処理には、Agilent OpenLAB バージョン C.1.05 を使用しました。この実験で使用した化合物には、Sigma-Aldrich Corp. から購入した 1,2,3-トリメトキシベンゼン、1,2,4-トリメトキシベンゼン、1,2,5-トリメトキシベンゼン、1,2-ジニトロベンゼン、1,3-ジニトロベンゼン、1,4-ジニトロベンゼンが含まれます。これらの化合物を図 1 に示します。さらに、Cerilliant Corp. (ERE-021) から購入した 14 種類の爆発性化合物を使用しました。これには、それぞれ 200 μ g/mL の 1,3,5-トリニトロベンゼン、1,3-ジニトロベンゼン、2,4,6-トリニトロトルエン (TNT)、2,4-ジニトロトルエン、2,6-ジニトロトルエン、2-アミノ-4,6-ジニトロトルエン、2-ニトロトルエン、3-ニトロトルエン、4-アミノ-2,6-ジニトロトルエン、4-ニトロトルエン、HMX、ニトロベンゼン、RDX、テトリル (2,4,6-トリニトロフェニル-メチルニトロアミン) が含まれます。これらの化合物を図 4 に示します。メタノールは Honeywell (Burdick and Jackson) から購入し、水は Milli Q システム (Millipore) の 0.2 μ m フィルタでろ過しました (18 M Ω)。

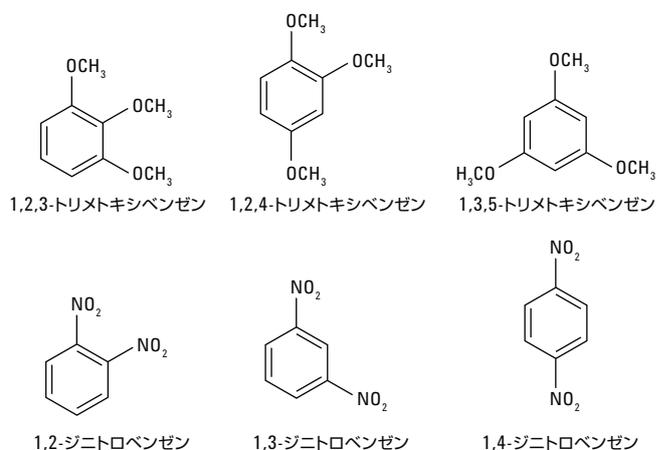


図 1. トリメトキシベンゼンとジニトロベンゼンの位置異性体の構造

結果と考察

選択性は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分離を最適化するためのもっとも強力な手段となります。このパラメータを変えるには、C18、極基内包型、フェニル結合型、パーフルオロフェニルなどの異なる結合相を用いるか、移動相を変更します。このアプリケーションノートでは、Poroshell 120、4.6 \times 50 mm カラムを使用して、メソッド開発の選択肢を迅速に評価しました。短いカラム長と高い効率により分離時間が短縮され、迅速な平衡化が可能になります。その結果、選択性の検証が迅速化します。

ペンタフルオロフェニル基の環系では電子が不足しているため、これは Lewis 酸となります。この Lewis 酸により、電子供与 Lewis 塩基との間で電子的相互作用が発生します。電子供与体/受容体の関係により、PFP 相と電子の多い化合物との相互作用が強まります。メトキシおよびニトロ置換ベンゼンは、PFP 相との相互作用が発生する 2 つの Lewis 塩基例です。さらに、メトキシおよびニトロ置換ベンゼンの芳香族性が PFP 相の分子構造を最大限に活用し、p-p スタッキングによって固定相との相互作用を強めます。PFP カラムは電子受容体であり、Lewis 塩基である化合物はこの相と強い相互作用を起こします。Lewis 塩基とは、OH⁻ イオンなど、非結合電子の一部を供与できる物質のことです。したがって、Lewis 塩基は電子対供与体です。これらの塩基は求核種または陽子核と呼ばれることもあります。Lewis 塩基には、メトキシベンゼンやニトロベンゼンなどの化合物が含まれます [3]。

図2に示すように、これら3種類のすべてのトリメトキシベンゼン異性体を分離できるのは Poroshell 120 PFP だけです(図1に示す)。C18、Phenyl-Hexyl、および Bonus-RP 相は 1,2/1,3 および 1,2,4 化合物だけを分離します。Poroshell 120 Bonus-RP および Phenyl-Hexyl カラムは、これらの条件下ではトリメトキシベンゼンをほぼ同様に保持します。いずれの場合でも、1,25-トリメトキシベンゼンは最後に溶離します。

図3では、ジニトロベンゼン化合物が4つのカラムで分離されており、図1の例と同様に、Poroshell 120 PFP による分離が最も良好です。この場合、Poroshell 120 Bonus-RP および Poroshell 120 PFP は、1,4 < 1,3 < 1,2 の同じ順序でこの3種類の化合物を溶離しますが、PFP カラムは相互作用が大幅に強いいためこれらの化合物を保持します。C18 カラムはこれらの物質を 1,2 < 1,4 < 1,3 の順に、Phenyl-Hexyl カラムは 1,4 < 1,2 < 1,3 の順に溶離します。

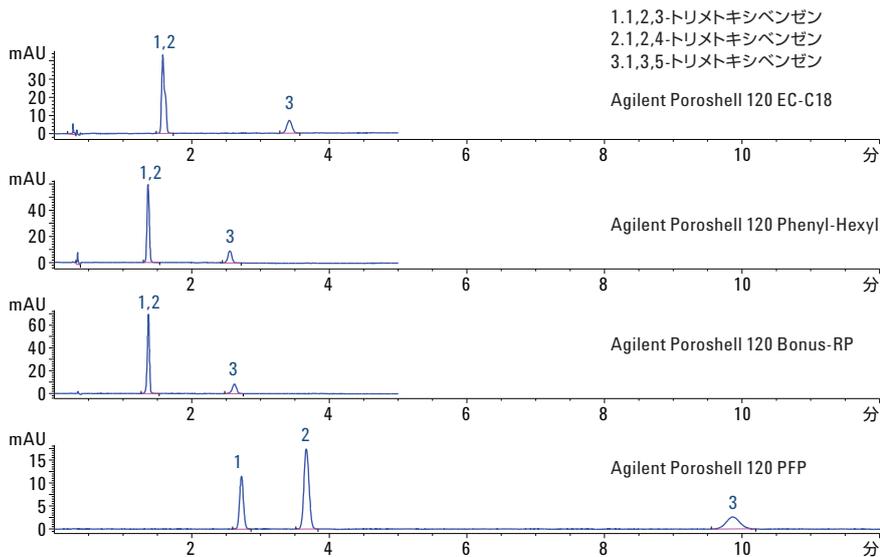


図2. さまざまな Agilent Poroshell 120 相でのトリメトキシベンゼンの位置異性体の分離 (Agilent Poroshell 120、4.6 × 50 mm カラム、70:30 水:メタノール、1.5 mL/min、40 °C、254 nm 上のトリメトキシベンゼン混合物)

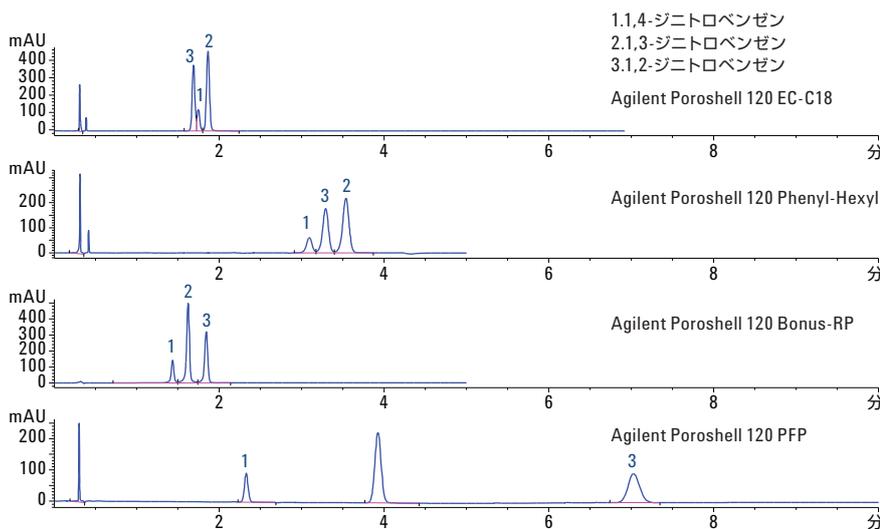
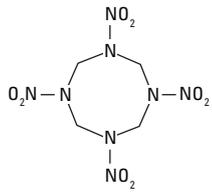
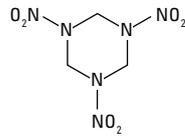


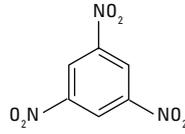
図3. さまざまな Agilent Poroshell 120 相でのジニトロベンゼンの位置異性体の分離 (Agilent Poroshell 120、4.6 × 50 mm カラム、35:65 メタノール:水、1.5 mL/min、40 °C、215 nm 上のジニトロベンゼン混合物)



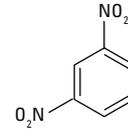
1. HMX
1,3,5,7-テトラニトロ-1,3,5,7-テトラゾカン



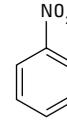
2. RDX
1,3,5-トリニトロ-1,3,5-トリアジナン



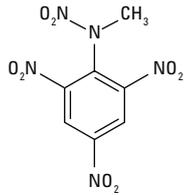
3. 1,3,5-TNB
1,3,5-トリニトロベンゼン



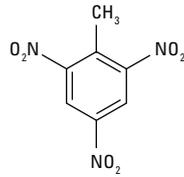
4. 1,3-DNB
1,3-ジニトロベンゼン



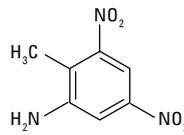
5. NB
ニトロベンゼン



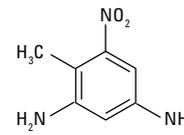
6. Tetryl
N-メチル-N-(2,4,6-トリニトロフェニル)ニトラミド



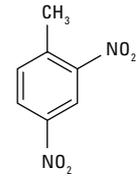
7. TNT
2,4,6-トリニトロトルエン



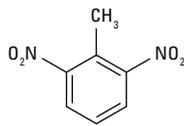
8. 2A-2,6-DNT
2-アミノ-4,6-ジニトロトルエン



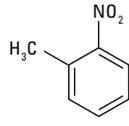
9. 4A-2,6-DNT
4-アミノ-2,6-ジニトロトルエン



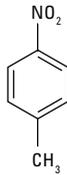
10. 2,4-DNT
2,4-ジニトロトルエン



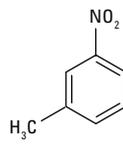
11. 2,6-DNT
2,6-ジニトロトルエン



12. 2-NT
2-ニトロトルエン



13. 4-NT
4-ニトロトルエン



14. 3-NT
3-ニトロトルエン

図 4. 爆発性混合物中の化合物の構造 (複数の位置異性体対を含む)

図 5 では、EPA 8330A に記載された 14 種類の化合物の分離を 4 つのすべてのカラムで行っています。Poroshell 120 PFP カラムと Phenyl-Hexyl カラムはこの混合物を最もよく分離します。C18 および Phenyl-Hexyl カラムでもこの分離は可能ですが、Poroshell 120 PFP カラムの方が強い溶媒強度を示します。

Poroshell 120 PFP は、C18 の主な疎水性機構に加えて、Phenyl-Hexyl の p-p 疎水性機構に代わる革新的な選択性を備えています。PFP の選択性は p-p、電荷移動、双極子、水素結合、および静電相互作用に基づくものです。これらの化合物の分離は、これま

で C18 および Phenyl-Hexyl 相を使用して行われており、おそらく Bonus-RP 相でも実施できます。ただし、この移動相を使用すると、Poroshell 120 PFP カラムが他のカラムよりも優れた保持力を持つことがわかります。この場合、有機物含有量が他の選択肢 (C18 および Phenyl Hexyl) よりも多くなるため、このカラムが、固相抽出などのサンプル前処理が必要なメソッドの選択肢となることは明らかです。大きいサンプルを注入することも、サンプルを C18 および Phenyl Hexyl よりも強い移動相 (有機物含有量が多い) に注入することもできます。

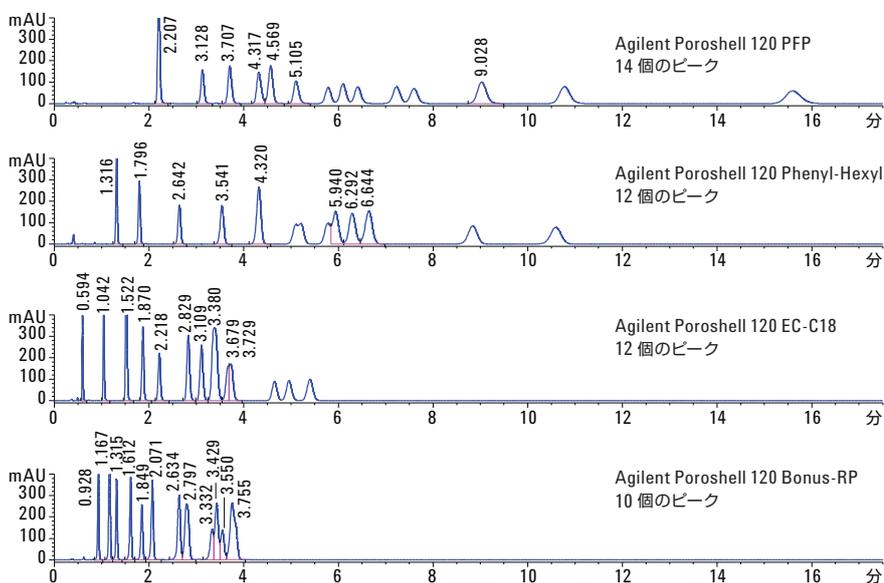


図 5. さまざまな Agilent Poroshell 120 相での爆発性混合物の分離 (Agilent Poroshell 120、4.6 × 50 mm カラム、35:65 メタノール:水、1.5 mL/min、40 °C)

結論

このアプリケーションノートでは、短い Agilent Poroshell 120 PFP カラムを使用して複数の位置異性体グループを分離し、他のいくつかのカラムでも同様の分離を行いました。トリメトキシベンゼンの分離では、Poroshell 120 PFP カラムだけがこれらの3種類のすべての化合物を正しく分離します。ジニトロ位置異性体の場合、すべてのカラムである程度の分離が得られますが、Poroshell 120 PFP カラムによる分離が最も良好なことは明らかです。最後に、複数の位置異性体対が含まれる EPA 8330A サンプルの複雑な分離を Poroshell 120 PFP カラムで行いました。位置異性体が含まれるサンプルでは、Poroshell 120 PFP をメソッド開発に用いることで良好な結果が得られました。

参考文献

1. M. Przybyciel. *LC.GC Europe*, 19, 19 (2006).
2. <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/8330a.pdf>
3. Anon. Isolation, Purification and Chromatography of Nitro Compounds and Explosives. *Agilent Technical Overview*, Publication number 5990-5552EN (2010).

詳細情報

これらのデータは一般的な結果を示したものです。アジレントの製品とサービスの詳細については、アジレントの Web サイト (www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2014

Printed in Japan

April 3, 2014

5991-4373JAJP



Agilent Technologies