

総合論文

金属錯体の液体クロマトグラフィー

斎藤 紘一*

(1986 年 8 月 26 日受理)

著者らがこれまで進めてきた金属錯体の LC に関する仕事で得られた知見を概説する。

主な内容は二部に大別され、前半においては β -ジケトン金属錯体のゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) に焦点を当て、GPC の分配係数、 β -ジケトン金属錯体の分配係数とアルカンの分配係数との比較、溶媒とゲルとの相互作用の反映としての膨潤度、実際の GPC の分配係数を説明するための分配モデルの導入とその妥当性の確認、ゲルの違いや溶媒と溶質の相互作用の影響などについて触れる。後半においては、ポルフィリン金属錯体の液体クロマトグラフ挙動に焦点を当てる。固定相の違いによる保持の特性、錯体の保持に及ぼす中心金属、ポルフィリンの化学構造、及び化学結合型シリカゲル上の残存シラノールの影響、錯体の保持と溶解度の関連性について述べ、ポルフィリン金属錯体の相互分離にも触れる。

以上のほか、複雑な試料中に含まれる微量金属成分の存在状態での分別定量への LC の適用の試みも紹介する。

1 緒言

金属錯体を対象にした LC の研究は、有機化合物を対象にしたそれが非常に活発であるのと比較して、はるかに例は少ない。1970 年初めまで、錯体の LC 挙動の研究の多くは TLC で行われており、カラム法は主に錯体の精製などの分取規模で用いられることが多かったようである。その後、HPLC の普及に伴って、分析用高性能カラムを使用した錯体の分離や錯体の形での金属イオンの定量に関する研究報告が増加してきた^{1)~3)}。近年、TLC の高性能化が進み、高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) として、種々の応用が報告されてきたが、金属錯体に適用した例はまだ、極めてまれである。

金属錯体の LC 挙動を系統的に調べた研究例が少ないため、ともすれば報告されたデータが断片的になり、他への応用がきかず、いまだに経験や試行錯誤に頼って分離条件を探ることが多いようである。これは、溶媒抽出分離法の分野では既に実用的な金属錯体抽出条件が多数確立されており⁴⁾、分配定数に及ぼす溶媒や溶質の影響についての定量的解釈^{5)~7)}や抽出に関与する各種平衡

データの集積⁸⁾⁹⁾が進んで、最適抽出条件の設定や結果の予測が可能な段階になっているのとは対照的である。

金属錯体の物理的及び化学的性質は、配位子と金属イオンの双方に依存するが、LC 挙動は、更に、固定相、移動相の物性や相互作用の性質に支配される。従って、錯体の LC 挙動を把握しようとするには、これらの因子の影響を系統的に調べることが必要であろう。

著者らは、サイズ排除という極めて特徴的な分離機構によるゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) に注目し、 β -ジケトンの金属錯体の保持挙動に焦点を当て、アルカンなどの有機化合物との比較を行いつつ考察を加え、特に溶媒の選択に関して有用な指針を得た。又、生化学や有機地球化学においても関心の高いポルフィリン金属錯体に注目し、種々の固定相-移動相の保持挙動を調べてきた。一方、得られた知見をもとに、実試料中に金属錯体として存在する微量金属成分の分離・定量への LC の適用の試みも進めてきた。

ここでは、これまでの著者らの仕事で得られた知見を中心に、金属錯体の LC 挙動に関してまとめることを試みた。いまだ解決をみていない問題もあるが、あえて記し読者のご批判を仰ぐことにしたい。

* 東北大学理学部化学教室：980 宮城県仙台市荒巻字青葉

2 実験における留意点

信頼性の高いクロマトグラフデータを得るため、使用する溶媒の純度は当然のことながら、実験温度にも注意し、可能な限り恒温室内で実験した。又、金属錯体という対象の特殊性を考え、装置の接液部の材料としては、可能な限り金属を避けた。

錯体の LC を行う場合、しばしば問題となることの一つが分離過程における錯体の解離である。従って、錯体が安定に過程を経たか否かの確認は、極めて重要である。この目的のため、繰り返し高速走査可能な多波長吸光光度検出器 (MWD) が試作され¹⁰⁾、カラムから溶出する成分の同定に活用されている。この装置は、掃引速度 0.8 nm/ms で 200~800 nm を 1 Hz で走査する。

3 β -ジケトン金属錯体の GPC 挙動

3.1 GPC における分配係数

GPC は、主として溶質分子の立体的大きさの差異により、ゲル内の空間のうち溶質を受け入れる部分の分率が変わることを利用する分離法と考えられる。

溶質の保持体積 V_R とカラムパラメーターを関係づける分配係数には、次の2種、 K_d と K_{av} が用いられており、それぞれ式(1) 及び (2) の関係にある。

$$V_R = V_0 + K_d V_i \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$V_R = V_0 + K_{av} V_x \quad \dots\dots\dots (2)$$

ただし、 V_0 はカラム内のゲル粒子外の溶媒体積、 V_i はゲル内部空孔の容積 (空孔内溶媒体積)、 V_x は膨潤したゲル相の体積で V_i とゲルマトリックスポリマーの体積の和に相当する。 K_d と K_{av} のいずれにおいても、使用するゲルの有効範囲内では、溶質の分子サイズの増加に伴って、その値は減少する。一般に、溶質のモル容や分子量 (同族体の場合) の対数と分配係数は、ある範囲内においては、近似的に直線関係を示すことが知られている。

著者らの仕事においては、実験的に V_0 と V_x の両方を正確に決め得ることと、ゲルマトリックスポリマーの存在が V_x の中に考慮されていることを考え、ほとんどの場合、分配係数としては K_{av} を用いている。

3.2 アセチルアセトンの金属錯体の分配係数

典型的 β -ジケトンであるアセチルアセトン (Hacac ; Fig. 1 において $R_1=R_2=CH_3$) の金属錯体の挙動を市販のポリ酢酸ビニルゲルを用いて調べた。

非水溶液系 GPC による金属錯体のクロマトグラムの

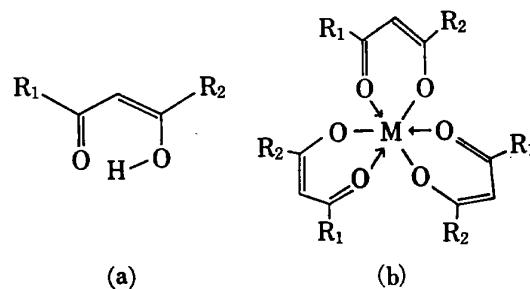


Fig. 1 β -Diketone (enol form) (a) and its complex with trivalent metal ion M (b)

最初の例として、クロム(III) 錯体 $[Cr(acac)_3]$ が取り上げられた¹¹⁾。溶媒としてクロロホルムが使用された。分配係数は、カラム温度 5~25°C で一定であり、カラムに注入する試料量にも依存しないことが確認された。

次いで、中心金属の異なる錯体に対象が拡大され、移動相溶媒をテトラヒドロフラン (THF) とし、 $Be(acac)_2$, $Al(acac)_3$, $Cr(acac)_3$, $Fe(acac)_3$, $Co(acac)_3$, $Ni(acac)_2$ 及び $Cu(acac)_2$ の保持が調べられた¹²⁾。このうち、ニッケル錯体は、カラム中で解離した。錯体の分配係数 K_{av} とモル容 V_m の関係は、Fig. 2 に示されるように、サイズ排除効果 (分子ふるい効果) で一般に予想される傾向と矛盾しない。しかし、比較のために調べたアルカンの関係とは一致していない。これは、実際の分離がサイズ排除効果のみによらず、他の何らかの効果が溶質の保持に関与している可能性を示唆している。

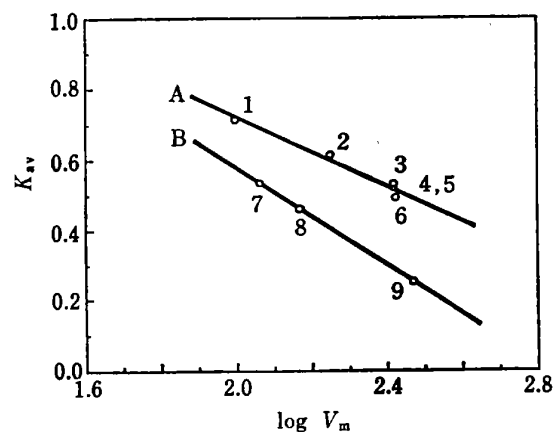


Fig. 2 Relationship between distribution coefficient, K_{av} , and molar volume, V_m , for metal acetylacetonates (A) and alkanes (B)¹²⁾

Column : Merckogel OR-PVA 2000 (E. Merck) at 25.0°C; Solvent : THF; Compounds : 1 Hacac, 2 $Be(acac)_2$, 3 $Fe(acac)_3$, 4 $Cr(acac)_3$, 5 $Co(acac)_3$, 6 $Al(acac)_3$, 7 pentane, 8 heptane, 9 hexadecane

ものと考えられた。この効果が、溶質と溶媒、ゲル間の相互作用に基づくものであれば、錯体とアルカンの間に見られた保持挙動の違いは溶媒に依存するはずである。

そこで、ケトンやエーテル、芳香族など種類の異なる溶媒 10 種を用いてアルカン¹³⁾、Hacac¹⁴⁾ 及びその金属錯体¹⁵⁾について K_{av} を求め、溶媒の影響を相互に比較した。各化合物の K_{av} は、溶媒に大きく依存する。例えばアルカンの場合、 V_m と K_{av} の関係を Fig. 3 に示す。Hacac の K_{av} を $Be(acac)_2$ 及び $Cr(acac)_3$ の値と比較した Fig. 4 においても、見掛け上、サイズ排除に従った保持の変化ではあるが、これら三者間の K_{av} 値の差は溶媒に依存しており、 K_{av} が増大する溶媒の順序は、対象とする化合物で異なる。このような挙動は、Fig. 3 のアルカンの例にも一部の溶媒について見られる。

ここで、金属錯体とアルカンについてのカラムの保持特性を比較するため、アルカンについて求められた $(\log V_m) - K_{av}$ プロット (Fig. 3 参照) を便宜的に検量線として用い、錯体の K_{av} の値を適用することによって、錯体の見掛けのモル容 V_{eff} を求めてみた結果を Table 1 に示す。 V_{eff} の値は、溶媒で大きく異なり、しかも、溶液の密度測定¹⁶⁾や経験式から見積もられた値と大差があるものも見られる。溶液中の錯体の部分モル容が溶媒によって大きく変化することはない¹⁷⁾とすればこれらの結果は、サイズ排除のみを考慮する限りでは説明できない。

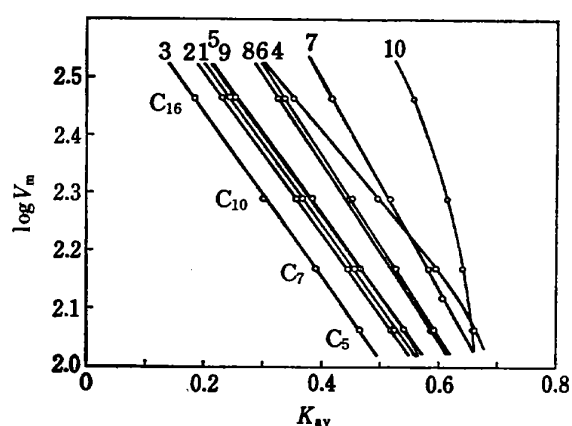


Fig. 3 Relationship between V_m and K_{av} for alkane homologs in various solvent systems¹³⁾

C₅, C₇, C₁₀ and C₁₆ denote pentane, heptane, decane and hexadecane, respectively. Column: Merckogel OR-PVA 2000, 25.0°C. Numbers in the figure denote solvents as in Table 1.

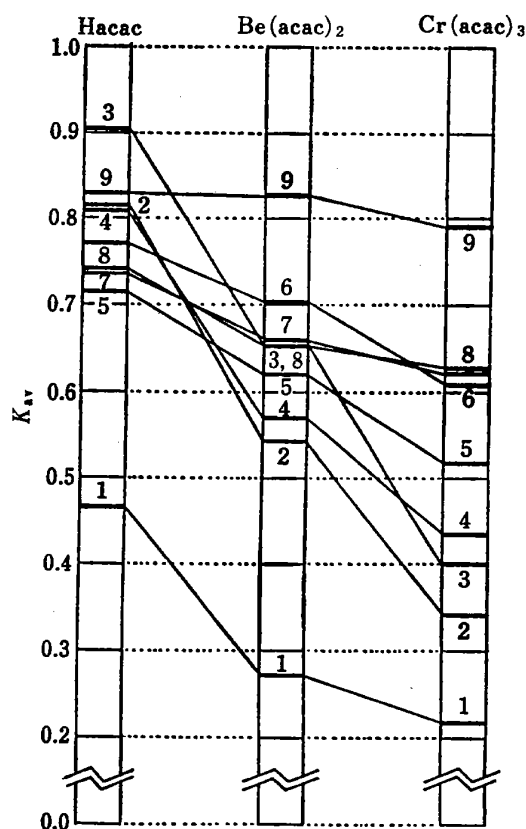


Fig. 4 Graphical demonstration of K_{av} values of acetylacetone comparing with those of its beryllium(II) and chromium(III) complexes in various solvent systems¹⁴⁾

Numbers in the figure denote solvents as in Table 1.

3.3 溶媒中におけるゲルの膨潤¹⁸⁾

GPC のカラム充填剤となるゲルのマトリックスとなる有機ポリマーは三次元網目構造をとっているため、良溶媒においても溶解せず膨潤にとどまる。そこで、ゲルの骨格をなすポリマーと溶媒の親和性の一つの尺度として膨潤度に注目し、ポリ酢酸ビニルゲルの一種について乾燥ゲル 1 g 当たりの溶媒保有量 S_r を求め、膨潤ゲル相中のマトリックスポリマーの体積分率 ϕ_g の逆数として定義される膨潤度 Q を算出した。

膨潤を、ゲルマトリックスポリマー中への溶媒分子の溶解と近似すれば、Hildebrand の溶解度パラメーター δ ¹⁹⁾を用いることにより、溶解熱 ΔH_o は、

$$\Delta H_o = V_{m,o} \phi_g^2 (\delta_g - \delta_o)^2 \quad (3)$$

ただし、添字 g, o は、それぞれ、ポリマーと溶媒を指すものとする。

式(3)によれば、 $\delta_o = \delta_g$ のとき、ポリマーと溶媒は最も親和しやすく、従って、 S_r は極大を示すものとする。

Table 1 The V_{eff} values of metal acetylacetonates determined using the calibration charts based on the GPC data for alkanes¹⁵⁾

No.	Solvent	$V_{\text{eff}}/\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}$				
		Al(acac) ₃	Cr(acac) ₃	Fe(acac) ₃	Co(acac) ₃	Be(acac) ₂
1	chloroform	315	317	245	317	266
2	benzene	211	202	150	210	108
3	toluene	150	143	126	144	56
4	1,4-dioxane	234	230	217	232	155
5	tetrahydrofuran	133	125	117	122	86
6	ethyl acetate	128	106	102	99	65
7	acetone	143	120	110	104	94
8	ethyl methyl ketone	111	97	96	86	88
9	butyl acetate	48	27	23	47	13
10	methanol	—	95	—	216	—
$V_{\text{m}}/\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}$		271†	267†	269†	261†	184††

† From density measurement on solutions¹⁶⁾. †† By estimation.

想される。 S_r の測定値を用いた溶媒の δ_o に対してプロットした結果を Fig. 5 に示す。予想どおり、 S_r は極大を示し、この結果から実験に用いたゲルの δ_g の値として $9.7 \text{ cal}^{1/2} \text{ cm}^{-3/2}$ が見積もられた。 δ_o がこの値から遠ざかるほど、ゲル相における溶媒の量は少なくなると予想できる。クロロホルムの特異的に大きな S_r は、ゲルと溶媒の間に別種の相互作用（水素結合など）が存

在していることを示唆している。

3.4 分配モデルの導入と評価²⁰⁾

式(2)で導かれる分配係数 K_{av} は、ゲルの網目構造によるサイズ排除効果を見れば、固定相となる膨潤ゲルと移動相であるゲル粒子外の溶媒の間での溶質の分配を表すものと言える。サイズ排除効果で限定されたゲル相を、近似的にマトリックスポリマーと溶媒との混合液と見なすならば、この混合液と外部溶媒間に液-液分配系を仮定することができる。

このとき、全分配係数 K_{av} は、サイズ排除による分配係数 K_{size} とゲル/溶媒間分配係数 K_{part} により、

$$K_{\text{av}} = K_{\text{size}} \times K_{\text{part}} \quad \dots\dots\dots (4)$$

K_{part} に関して、溶質のモル容 $V_{\text{m},s}$ 、ゲルの膨潤度 Q 、ゲルマトリックスポリマー、溶媒、及び溶質の溶解度パラメーター、 δ_g 、 δ_o 、 δ_s を用いた次式が導かれた。

$$\ln K_{\text{part}} = V_{\text{m},s} [2(\delta_s - \delta_o)(\delta_g - \delta_o) - (\delta_g - \delta_o)^2 / Q] / QRT + \ln (V_{\text{m},o} / V_{\text{m},x}) \quad \dots\dots\dots (5)$$

ただし、 $V_{\text{m},o}$ と $V_{\text{m},x}$ は溶媒と膨潤ゲル（ポリマーと溶媒の混合物としての平均的な値）のモル容とする。

分子サイズが同じであるにもかかわらず、化合物で保持に差がみられた原因は、式(4)によれば K_{part} の不一致であり、式(5)により K_{part} に影響を及ぼす因子を定量的に論ずることができると期待される。

例えば、Fig. 2 に示された錯体とアルカンの保持挙動の違いについて、 $\text{Be}(\text{acac})_2$ とモル容の等しい仮想的アルカン $r(\text{Be})$ の二者を例に、分配効果を考えてみる

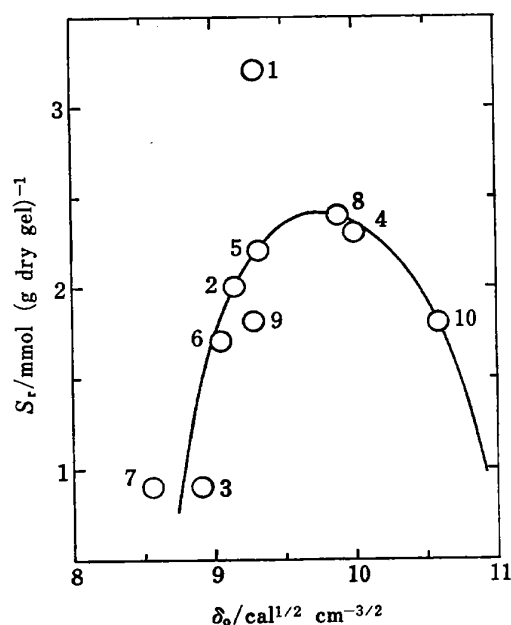


Fig. 5 Relationship between the solvent, S_r , of Merckogel OR-PVA 2000 and the solubility parameter, δ_o , of the solvent at 25°C¹⁸⁾

Solvents: 1 chloroform, 2 benzene, 3 toluene, 4 1,4-dioxane, 5 tetrahydrofuran, 6 ethyl acetate, 7 butyl acetate, 8 acetone, 9 ethyl methyl ketone, 10 acetylacetone

と、両者の保持比 $R_{Be/r(Be)}$ について以下の式が導かれる。

$$R_{Be/r(Be)} = K_{av, Be} / K_{av, r(Be)} \\ = K_{part, Be} / K_{part, r(Be)} \quad \cdots \cdots (6)$$

$$Q \ln R_{Be/r(Be)} = [-2V_{m, Be}(\delta_{Be} - \delta_{r(Be)}) / RT] \\ \times (\delta_o - \delta_g) \quad \cdots \cdots (7)$$

ただし $V_{m, Be}$ は $Be(acac)_2$ のモル容とする。

$Be(acac)_2$ の K_{av} の実測値、Fig. 3 の関係を用いて見積もられた $r(Be)$ の K_{av} 値、及び 3.3 に述べた膨潤度 Q の測定結果をもとに、 $Q \ln R_{Be/r(Be)}$ を δ_o に対してプロットした結果を Fig. 6 に示す。クロロホルムを例外として他の溶媒のプロットは近似的に直線関係に並んでおり、回帰直線のこう配は、式(7)で予想された値に近かった。直線の δ_o 軸切片から δ_g の値として $10.4 \text{ cal}^{1/2} \text{ cm}^{-3/2}$ が得られたが、この値は膨潤測定で見積もられた値 9.7 に近い (3.3 参照)。以上のことは、式(5)で表された分配効果の考え方が妥当であることを示すものであって、 δ_o が δ_g から異なるほどこの効果の寄与が大になることが分かる。サイズ排除効果のみによる GPC 分離を行うためには、 δ_o が δ_g に等しいような溶媒を使用する必要があることが指摘される。

Fig. 6 に示されている溶媒群においては、1,4-ジオキ

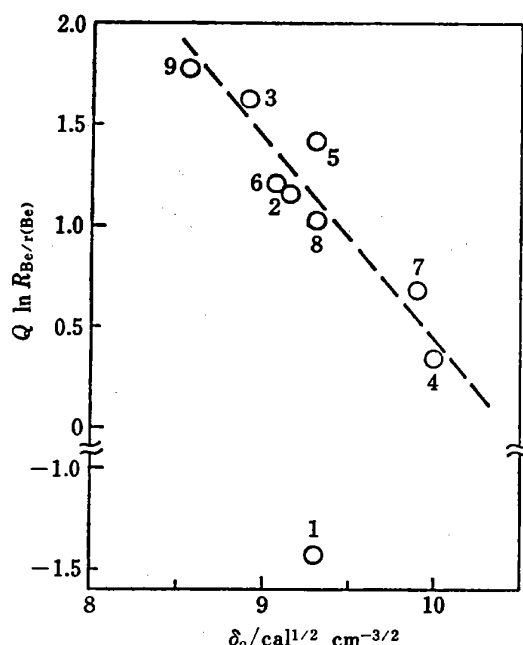


Fig. 6 Plot of $(Q \ln R_{Be/r(Be)})$ versus δ_o of solvent

Column: Merckogel OR-PVA 2000, at 25.0°C (20). Figures 1~9 denote solvents as in Table 1. Dashed line shows the regression line.

サンが最も分配効果の小さな溶媒と言える。

3.5 ゲルの種類と溶媒依存性

移動相溶媒を 1,4-ジオキサンに統一し、サイズ排除限界の異なるポリ酢酸ビニルゲルとポリスチレンゲルの各 2 種をカラム充てん剤に用いた系での、 β -ジケトン 7 種及びそのクロム(III) 錯体とアルカンの保持挙動が調べられた²¹⁾。幾つかの化合物を例に、各ゲル上での保持を比較して Fig. 7 に示す。保持が増大する化合物の順序は、マトリックスポリマーが同じゲル上であれば排除限界の違いによらずほぼ同一である。しかし、ポリ酢酸ビニルゲルとポリスチレンのゲルの間には、化合物の保持の順序に関して違いが見られる。

排除限界の異なる同種ポリマーのゲルにおいて、同じ化合物の K_{av} に差が見られるのは、主として K_{size} の違いによるものと考えられ、一方、種類の異なるポリマーのゲル間でみられる保持の順序の違いは、主として、 K_{part} の違いによるものと思われた。

ポリスチレンゲルでの K_{part} の寄与と、その溶媒依存性に関し、アルカン、エーテル、ケトン及びアルコー

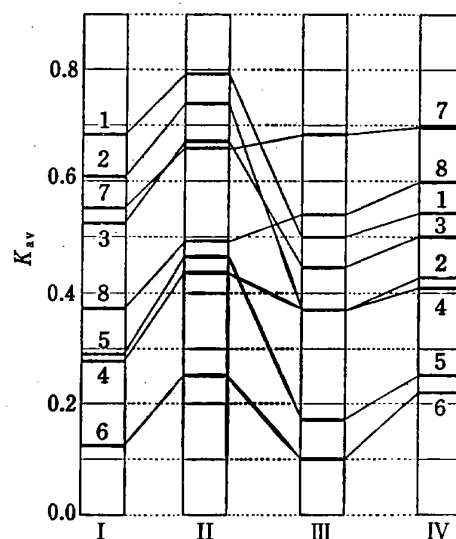


Fig. 7 Graphical demonstration of dependence of K_{av} values on gels²¹⁾

Gels: I Merckogel OR-PVA 500 {poly (vinyl acetate) gel, exclusion limit mol. wt., ca. 500}; II Merckogel OR-PVA 2000 {poly(vinyl acetate) gel, exclusion limit mol. wt., ca. 2400}; III Bio-Beads S-X8 {polystyrene gel, exclusion limit mol. wt., ca. 1000}; IV Styragel 60 (polystyrene gel, exclusion limit mol. wt., ca. 2400). Solvent: 1,4-dioxane, at 25°C ; Solutes: 1 Hacac, 2 trifluoroacetylacetone (Htfa), 3 dibenzoylmethane (Hdbm), 4 $Cr(acac)_3$, 5 $Cr(tfa)_3$, 6 $Cr(dbm)_3$, 7 pentane, 8 decane

ル類を対象に保持が調べられた²²⁾²³⁾. 各同族体についての K_{av} と V_m の関係は、一部の例外 (アセトンを経媒としたときのアルカンの保持) を除いて、 V_m の増加につれて K_{av} が減少する傾向となった. それぞれの K_{av} - V_m プロットを基に、各同族体について便宜上 $V_m=100 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ の仮想的化合物の K_{av} 値を見積もり、仮想アルカンに対する保持比 R を求め、Fig. 6 に準じて、 R の対数と溶媒の δ_o をプロットして Fig. 8 に示す関係を得た. 膨潤度 Q の値が与えられていないため、各プロットは、Fig. 6 に示すような直線とはならないが、アルコールを除くすべてのプロットは δ_o 約 9.2 で交差し、このとき $\log R=0$ となっている. これは、式(6)と同様な関係をポリスチレンゲルを用いた系にも成立することを示唆するものであり、上の結果から、用いられたゲルの δ_g の値として $9.2 \text{ cal}^{1/2} \text{ cm}^{-3/2}$ が見積もられた.

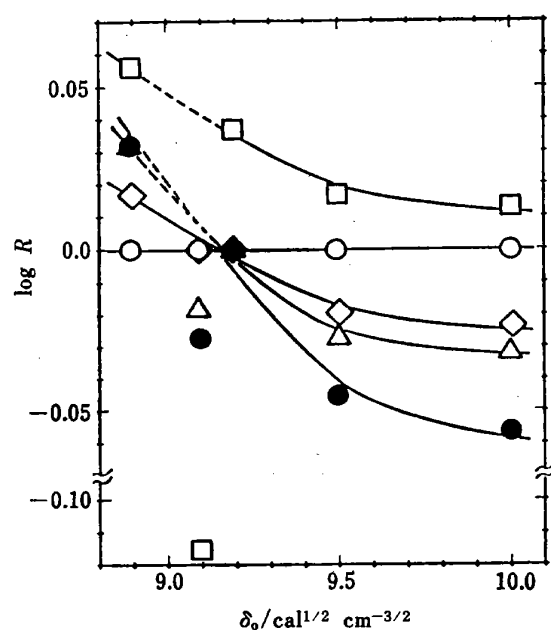


Fig. 8 Relationship between the relative retention, R , of an imaginary compound with $V_m = 100 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ and solubility parameter, δ_o , of solvent²⁴⁾

The K_{av} value of an imaginary alkane is taken as unity. Compounds: $\circ$ alkane, $\diamond$ ether, $\triangle$ ester, $\bullet$ ketone, $\square$ alcohol; Solvents ($\delta_o / \text{cal}^{1/2} \text{ cm}^{-3/2}$): toluene (8.9), tetrahydrofuran (9.1), benzene (9.2), chlorobenzene (9.5), dichlorobenzene (10.0)

以上の結果から、ポリスチレンゲルを用いる GPC では δ_o が 9.2 付近の溶媒を使用すれば保持における分配効果の寄与を無視することができ、分配係数 K_{av} は

サイズ排除効果のみに支配されるものと期待される. 実際に、7 種類の β -ジケトンとそのベリリウム(II) 及びクロム(III) 錯体の保持をポリスチレンゲルのカラムで調べ、 K_{av} と $\log V_m$ の関係を種々の溶媒系で比較したところ、ベンゼン ($\delta_o=9.2$) を溶媒としたとき、実験されたすべての化合物のプロットが、ほぼ一本の線上に並んだ²⁴⁾.

Fig. 8 において、トルエン ($\delta_o=8.9$) とクロロベンゼン ($\delta_o=9.5$) での化合物の保持の順序に逆転が見られる (アルコールは例外) が、これは $(\delta_o - \delta_g)$ の符号の変化と対応して、 K_{part} の大小関係が逆転するためである {式(6), (7) 参照}.

積極的に δ_o が δ_g と異なる溶媒を用いて、分配効果の寄与を利用し、分子サイズの差異の小さな錯体を分離する試みが、チオテノイルトリフルオロアセトン (Hstta) の金属錯体を対象に行われた²⁵⁾. カラム充填剤はポリスチレンゲルである. 錯体の保持体積 V_R と移動相溶媒の δ_o の関係を Fig. 9 に示す. 溶媒がベンゼンのとき、すべての化合物の V_R はほぼ一致して小さ

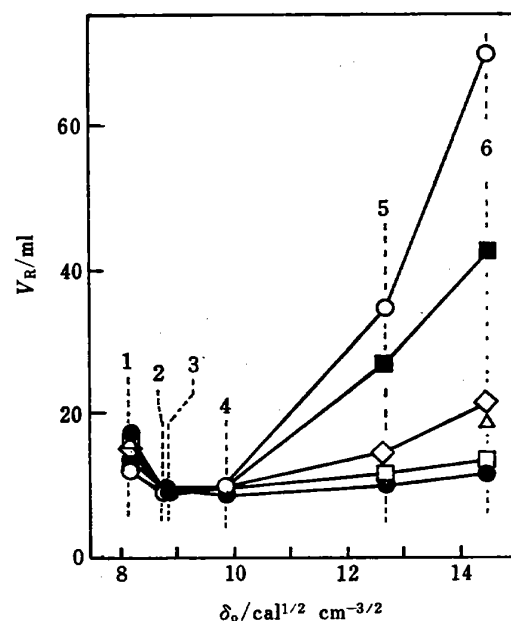


Fig. 9 Relationship between the retention volumes, V_R , for Hstta and its metal chelates and the solubility parameter, δ_o , of the mobile phase

Column: Shodex Polymerpak 80524L, 500 mm $\times$ 5-mm i. d., 25°C²⁵⁾; Mobile phase: cyclohexane (1), ethyl acetate (2), benzene (3), acetone (4), ethanol (5), methanol (6) (containing $5 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ Hstta in each case), 1.2 ml/min; Solutes: $\bullet$ Hstta, $\square$ Cd(stta)₂, $\triangle$ Ni(stta)₂, $\diamond$ Zn(stta)₂, $\blacksquare$ Cu(stta)₂, $\circ$ Co(stta)₂ [or Co(stta)₃]

く、 $\delta_o < \delta_g$ と考えられるシクロヘキサンや $\delta_o > \delta_g$ のエタノールやメタノールでは、 V_R の増加はみられるが、化合物の保持順序は逆転しており、シクロヘキサンでは、すべての錯体の溶出したあと Hstta の溶出が始まるのに対し、エタノールでは、Hstta が優先的に溶出する。

3.6 溶質と溶媒の相互作用

Fig. 8 において、テトラヒドロフラン (THF) を除く他の溶媒系でアルコールはアルカンより大きな保持を示すことが分かる。この理由が、アルコールとポリスチレンの相互作用によるものか、アルコールの分子サイズの見積もりに誤差があるためか、現在まだ明らかになっていない。一方、THF を溶媒とする系でのアルコールの保持は著しく小さく、アルコールと THF が会合して有効分子サイズが大きくなっていることを示唆している。

ポリ酢酸ビニルゲルのカラムで、1,4-ジオキサンを溶媒としてテノイルトリフルオロアセトン (Htta) の金属錯体の保持が調べられた²⁶⁾。Htta とそのベリリウム(II)、アルミニウム(III)、コバルト(III)、クロム(III)錯体について、保持能 k' とモル容 V_m の関係は、Fig. 10 のように表される。ここで同時に求められたニッケル(II)、銅(II)、亜鉛(II) 及びパラジウム(II) の錯体の

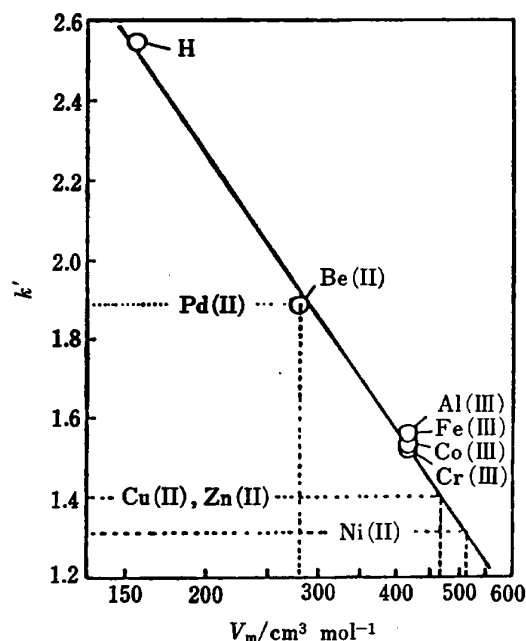
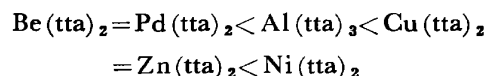


Fig. 10 Plot of k' versus V_m for tta metal complexes²⁶⁾

Column : Fractogel PVA-2000 (previous name, Merckogel OR-PVA 2000); Solvent : 1,4-dioxane, at 25°C.

k' と比較すれば、見掛けのモル容は次の順に大きくなっている。



同じ平面型のビス-錯体でありながら、銅(II) やニッケル(II) の錯体はパラジウム(II) の錯体よりモル容の大きな化学種として振る舞っている。銅(II)、亜鉛(II)、ニッケル(II) の tta 錯体にジオキサンが付加した形でクロマトグラフィーが行われている可能性が示唆された。

3.7 混合配位子錯体の分離

酢酸エチル中で $\text{Be}(\text{acac})_2$ と $\text{Be}(\text{tta})_2$ が反応して生じる $\text{Be}(\text{acac})(\text{tta})$ の分離に GPC が用いられた。ポリスチレンゲルをカラム充てん剤とし、溶媒に酢酸エチルを用いた場合、 $\text{Be}(\text{tta})_2$, $\text{Be}(\text{acac})(\text{tta})$, $\text{Be}(\text{acac})_2$ と、分子量の減少する順にカラムから溶出し、これら三者は完全に分離した。純品として得られた混合配位子錯体について、NMR や吸収スペクトルデータが求められた²⁷⁾。

4 ポルフィリン金属錯体の LC 挙動

4.1 ポルフィリン

ポルフィリンは、Fig. 11 に示すように大環状構造の N_4 -四座配位子として種々の金属イオンと安定な錯体を形成する。それらのうちの幾つかは、生物体や化石燃料中に存在することが知られており、従って、このような試料中の微量金属化学種についての分析を進める場合、考慮すべきものであろう。ポルフィリンやその金属錯体の単離や精製の実験過程において、しばしば、LC はかぎを握る分離法として用いられている。しかし、これらの化合物の保持データを、一定の条件のもとで求め、クロマトグラフィーの立場から相互に比較し考察しようとした報告はほとんどなく、従って、これまで断片的に、異なる条件のもとで求められたデータをもとに比較せざるを得ない状況にあった。又、これまで R_f 値や k' 値などの保持データが多少なりとも報告された化合物は、生体関連のポルフィリンとそのメチルエステルが大部分であり、金属錯体においても、銅や亜鉛など限られたものにとどまっていた。クロマトグラフ系としては、セルロース、ポリアミド、シリカゲルなど極性吸着剤を用いるものがほとんどであり、近年利用度の高まっている化学結合固定相を用いる逆相分配系が適用された例は、ほとんどなかった。

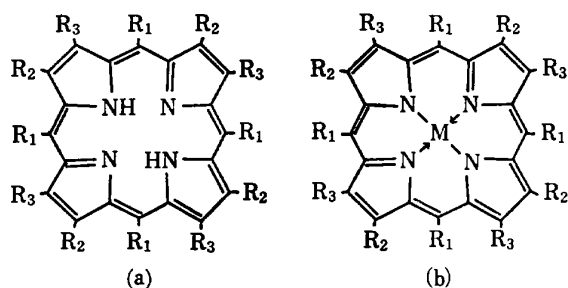


Fig. 11 Porphyrin (a) and its metal complex (b)

著者らの研究において対象とするポルフィリン及びポルフィリン金属錯体には、合成で得られる油溶性のものを主に用いた。固定相表面あるいは移動相溶媒分子に対しポルフィリンが特定の配向をすることによって解釈が複雑化するのを避けるため、ポルフィリン環上の置換基の位置については、その対称性を考慮した。これまで保持データを求めることができた合成ポルフィリンを、ここでの略称とともに Table 2 に示す。

4.2 固定相の影響

シリカゲル、セルロース、 NH_2 -化学結合シリカゲル (NH_2 -シリカと略記)、 C_{18} -化学結合シリカゲル (C_{18} -シリカ) を固着した HPTLC プレート上で数種の溶媒を用いて、化学構造の異なるポルフィリンの銅(II)錯体の移動度を測定し、その溶媒依存性の観点から各固定相の特性を比較した²⁸⁾。LC における移動相溶媒の溶出力の尺度としては、Snyder による溶媒強度 ϵ° ²⁹⁾ など、幾つかの経験的溶媒パラメーターが知られてはいるが、 NH_2 -シリカや C_{18} -シリカを固定相とする系につい

て求められたものはまだない。そこで便宜的に、溶媒の分子間力と直接的関係を持つ固有な物性値である Hil-debrand の溶解度パラメーター δ を溶媒の尺度に用いると、各固定相上での錯体の R_f の溶媒依存性は、Fig. 12 に二、三の銅錯体について例示するものと同様になる。

シリカゲル、セルロース、 NH_2 -シリカを固定相とす

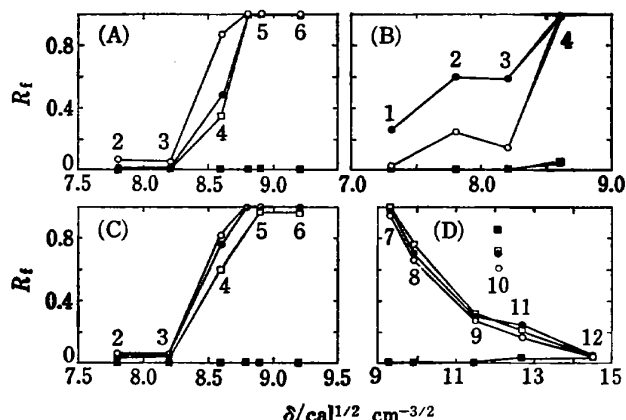


Fig. 12 Solvent dependence of the R_f values of copper porphyrins on different TLC plates: A silica gel, B cellulose, C NH_2 -bonded silica, D C_{18} -bonded silica; Copper porphyrins: ● Cu(TPP), ○ Cu(TCPP), ■ Cu(TPyP), □ Cu(TNP); Solvents: 1 methyl cyclohexane, 2 cyclohexane, 3 carbon tetrachloride, 4 *m*-xylene, 5 toluene, 6 benzene, 7 methyl ethyl ketone, 8 acetone, 9 isopropanol, 10 dimethyl formamide, 11 ethanol, 12 methanol. Plot for Cu(TNP) is not given at B.

Table 2 List of porphyrins

No.	Porphyrin	(abbreviation)	mol. wt.	$R_1^\dagger$	$R_2^\dagger$	$R_3^\dagger$
1	porphine	(POR)	310.36	-H	-H	-H
2	tetramethylporphine	(TMP)	366.47	-Me	-H	-H
3	tetraphenylporphine	(TPP)	614.75	-Ph	-H	-H
4	tetra-4-pyridylporphine	(TPyP)	618.71		-H	-H
5	tetra-4-tolylporphine	(TTP)	670.86		-H	-H
6	tetrakis(4-methoxyphenyl)porphine	(TMPP)	734.86		-H	-H
7	tetrakis(4-fluorophenyl)porphine	(TFPP)	686.71		-H	-H
8	tetrakis(4-chlorophenyl)porphine	(TCPP)	752.53		-H	-H
9	tetrakis(4-nitrophenyl)porphine	(TNPP)	794.74		-H	-H
10	tetra-1-naphthylporphine	(TNP)	814.99	-Naph	-H	-H
11	etioporphyrin I	(ETIO)	478.74	-H	-Me	-Et
12	octaethylporphyrin	(OEP)	534.79	-H	-Et	-Et

† See in Fig. 11; Me=methyl; Et=ethyl; Ph=phenyl; Naph=1-naphthyl

る系では、いずれの錯体の R_f 値も溶媒の δ の増大とともに増す傾向にある。一般に極性の高い溶媒ほど δ が大になることを考えると、これらの事実は、極性固定相と低極性移動相から成る LC 系で、普通の有機化合物が示す溶媒依存性と同様であって、錯体であることによる特殊性は見られない。各錯体の保持は、溶媒が同じなら、セルロース<NH₂-シリカ<シリカゲルの順に増大する。

一方、C₁₈-シリカを固定相とする系では、移動相溶媒の δ の増加に伴って R_f が減少する傾向を示し、いわゆる逆相 LC 系として機能している。TPyP とその金属錯体は、極めて強く固定相に保持されるが、ジメチルホルムアミドを移動相とする逆相系では、容易に移動することは興味深い。

4.3 錯体の中心金属の影響

LC におけるポルフィリン金属錯体の保持と中心金属との関連性については、TPP³⁰⁾, TTP³¹⁾³²⁾, ETIO³³⁾, POR³⁴⁾ などの合成ポルフィリンの錯体、及び生体由来の親水性ポルフィリンであるヘマトポルフィリン IX (HP)³⁵⁾ の錯体について調べられている。

例えば、TTP とその金属錯体 M(TTP) {M=Mg, VO (バナジル), Ni, Cu, Zn, Pd} の R_f 値が、シリカゲル、セルロース、C₁₈-シリカの HPTLC プレート上で、種々の溶媒を用いて測定された。それぞれのプレート上で適度な移動度を示す移動相溶媒として、シリカゲルでは四塩化炭素-*m*-キシレン、セルロースではヘキサン-四塩化炭素、C₁₈-シリカではアセトン-アセトニトリルの混合系が見いだされた。シリカゲル及び C₁₈-シリカの場合について、混合溶媒組成と R_f の関係を、それぞれ Fig. 13 と Fig. 14 に示す。シリカゲル上では、Ni-, Cu-, Pd 錯体の移動度が極めて接近しており相互分離は困難である。C₁₈-シリカ上では、各錯体の移動度が適度に異なっており、錯体の相互分離に有効である。なお、セルロース上では、 R_f 値自体は錯体間で異なるが、スポットが拡散し分離度が低下するため有用性は低い。

シリカゲル、セルロースのそれぞれを固定相として求められる錯体の R_m 値と C₁₈-シリカ上での R_m 値との関係の一例を Fig. 15 に示す。ただし、 $R_m = \log(R_f^{-1} - 1)$ 。

錯体の中心金属について保持の増加傾向を比べると、C₁₈-シリカ上とセルロース上での金属の順序はほぼ逆転している。シリカゲル上では、セルロースに比較して TTP とバナジル錯体 [VO(TTP)] の保持が特異的に大きい。TTP は、ポルフィリン環中央部にある塩基性

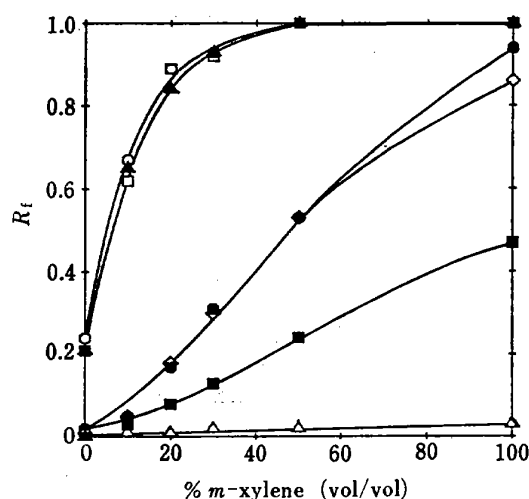


Fig. 13 R_f values of TTP metal complexes as a function of the composition of carbon disulfide-*m*-xylene binary mobile phase³¹⁾

HPTLC plate : silica gel; Compounds :
 $\triangle$ Mg(TTP), $\blacksquare$ VO(TTP), $\blacktriangle$ Ni(TTP),
 $\circ$ Cu(TTP), $\bullet$ Zn(TTP), $\square$ Pd(TTP),
 $\diamond$ TTP

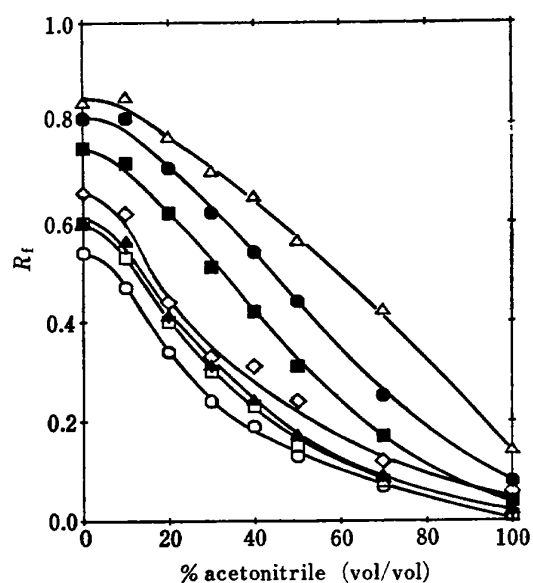


Fig. 14 R_f versus solvent composition curves for TTP metal complexes on C₁₈-bonded silica TLC plate³²⁾

Mobile phase solvent : acetone-acetonitrile mixture. The marks refer to the compounds as in Fig. 13.

窒素とシリカゲル上のシラノールとの相互作用により、又、VO(TTP) は、その構造に由来する極性のために、それぞれシリカゲル上に強く吸着されたものと考えられる。

錯体の保持に及ぼす中心金属の影響に関連して、中心

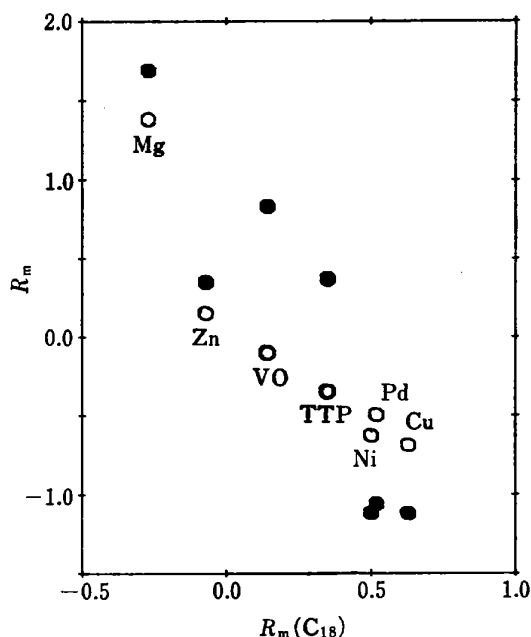


Fig. 15 R_m of TTP metal complex on silica gel (●) or cellulose (○) plotted against R_m on C_{18} -bonded silica

Phase systems: silica gel/carbon disulfide-*m*-xylene (70:30 v/v); cellulose/hexane-carbon tetrachloride (50:50 v/v); C_{18} -silica/acetone-acetonitrile (60:40 v/v)

金属の尺度として便宜的に Pauling の電気陰性度 E_N と有効イオン半径 r_i の比を用い、錯体の R_m との関係調べた。一例として、 C_{18} -シリカ上での TTP 金属錯体の R_m と (E_N/r_i) のプロットを Fig. 16 に示す。中心金属の (E_N/r_i) が増加するに従い保持は大きくなる傾向にある³²⁾。セルロースやシリカゲルの薄層上で得られる R_m に関しては、これと逆の傾向が見られる³¹⁾。 (E_N/r_i) の大きな金属イオンの場合には、配位原子Nから金属への電子移動による電荷の中和の程度が大きく、ポルフィリン環電子系の局在化の程度が減少して、極性の高い相（順相系では固定相、逆相系では移動相）との相互作用が小さくなり、その結果、順相系では保持が減少し、逆相系では増大する傾向を示すものと考えられる。

4.4 ポルフィリンの化学構造による影響

異なる置換基を導入した数種のポルフィリンについてその保持の大きさと分子量の関係を、シリカゲル、セルロース、 NH_2 -シリカの薄層上で調べた³¹⁾。結果の一例を Fig. 17 に示す。ポルフィリンの分子量の増大とともに R_m が減少する傾向は、これら極性固定相上で、溶媒が異なっても、共通して見られた。類似の傾向は、こ

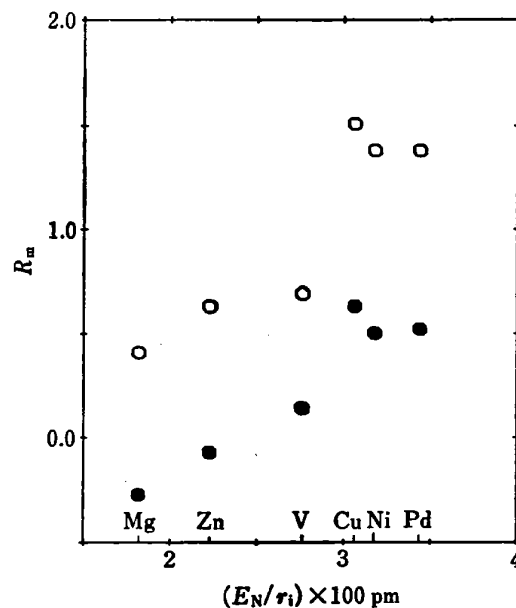


Fig. 16 R_m of TTP metal complex versus the E_N/r_i ratio of its central metal ion

HPTLC plate: C_{18} -silica; Mobile phase: methanol (○) or acetone-acetonitrile (60:40 v/v) (●)

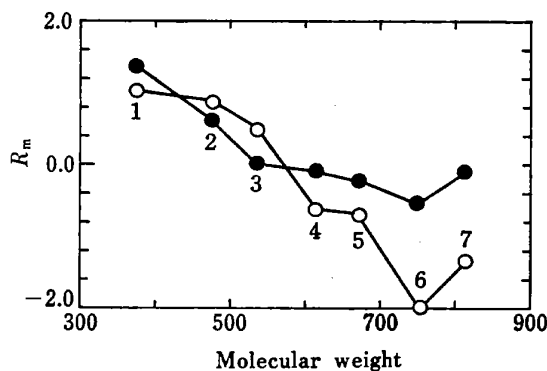


Fig. 17 R_m as a function of the molecular weight of porphyrin

TLC phase systems: silica gel/*m*-xylene (○), NH_2 -bonded/carbon tetrachloride (●); Porphyrins: 1 TMP; 2 ETIO; 3 OEP; 4 TPP; 5 TTP; 6 TCPP; 7 TNP

れらポルフィリンの銅錯体についても見られた。シリカゲルへの吸着エネルギーは、アルキル基よりフェニル基のほうが一般に大きい²⁹⁾ことが知られている。この例においては、フェニル基を導入した化合物のほうが保持が小さくなっている。このことは、ポルフィリン環平面とは同一面上にないフェニル環のπ電子系は、ポルフィリンの吸着には大きな寄与をしていないことを示唆している。

従って、極性の吸着剤への吸着は、主としてポルフィ

リン環の π 電子系あるいは中央部の塩基性窒素と吸着剤との相互作用によるものと考えられ、これにアルキル基やフェニル基が導入されて分子が大きくなるに従い、ポルフィリン-分子の吸着面積当たりの吸着エネルギーが減少するため、 R_m 値の減少となって観察されるものと思われる。

C_{18} -シリカを固定相とする系でのポルフィリンの保持がカラム法で調べられた³⁶⁾。アセトン-アセトニトリル混合溶媒を移動相に用いた場合の各ポルフィリンの k' を移動相組成の関数として、Fig. 18(a)に示す。アルキル基が導入された ETIO や OEP の k' は、他に比べて極めて大きく、これらをカラムから溶出させるのに長時間を要した。TMP の k' も比較的大きく、かつテイルングを示した。これらのポルフィリンが C_{18} -シリカに強く保持される直接的原因が置換基として存在するアルキル鎖にあるのかポルフィリン環の中央部にある錯形成していない N 又は NH 部分と固定相との相互作用にあるのかを確かめるため、各ポルフィリンの銅錯体の保持を調べた {Fig. 18(b)} ところ、他のポルフィリンの場合とは対照的に、ETIO, OEP, TMP の錯体の k' は、対応するポルフィリンの k' より減少していることが明らかとなった。従って、これらアルキル基を持つポルフィリンは、金属と錯体を形成しないフリーのポルフィリンの形のときのみ保持が特異的に大きくなると言える。

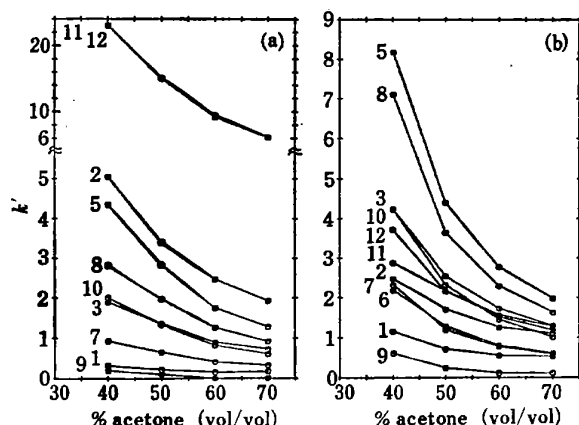
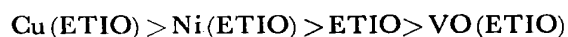


Fig. 18 Capacity factors (k') for porphyrins (a) and copper complexes (b) as a function of the composition of an acetone-acetonitrile binary mobile phase

Column : Partisil ODS-3 (250 mm $\times$ 1-mm i. d.). Numbers in the figures refer to porphyrins as in Table 2.

4.5 C_{18} -シリカ上の残存シラノールの影響

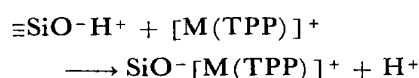
C_{18} -シリカを固定相として、ETIO とそのバナジル、ニッケル、銅錯体の保持を種々の極性有機溶媒を移動相に使用して調べたところ、移動相がアセトンやアセトニトリルのような非プロトン性溶媒のとき、ETIO の保持は金属錯体のいずれよりも大きい、メタノールなどアルコールを溶媒とすれば ETIO の保持は減少して、保持の序列は



となった³³⁾。非プロトン性溶媒中でみられた ETIO の大きな保持は、 C_{18} -シリカ上に残存するシラノールと ETIO の $>NH$ あるいは $>N$ との相互作用によるものでありアルコールの使用によりシラノールの吸着活性が低下するものと考えられる。類似の挙動は、OEP, TMP についても観察されている³⁶⁾。

C_{18} -シリカを固定相に用いた HPLC において、銅など二価金属の錯体が速やかに溶出する条件において、マンガン(III)の錯体が極めて強くカラムに保持され、溶出が困難であることが指摘された³⁷⁾。マンガン(III)のような錯体は、ポルフィリンの配位のみではその正電荷が中和されず、対陰イオン(たとえば Cl^-)と結合しており、従ってこのような極性の高い性質のため、極性移動相を用いる逆相系での保持は小さいものとの予想に反した挙動である。

移動相として塩化アンモニウムを含むエタノールを用い、種々の TPP 錯体を調べた結果、コバルト(II)など二価金属の錯体、鉄(III)錯体の μ -オキシダイマー $[Fe(TPP)_2]_2O$ 、及びバナジル(IV)錯体 $[VO(TPP)]$ の保持が塩化アンモニウム濃度に依存せず一定であるのに対し、マンガン(III)とコバルト(III)錯体の保持は塩化アンモニウム濃度の増加に伴って減少し、Fig. 19に示すように、保持能 k' の対数は塩濃度の対数に対し、こう配約 -1 の直線関係にあることが見いだされた³⁸⁾。塩を含まない移動相の系で見られた三価金属の錯体の大きな保持は、移動相中で解離して生じた錯体陽イオン $[M(TPP)]^+$ が C_{18} -シリカ上の残存シラノール部位へイオン交換吸着することにより起こるものと考えられた。



この解釈は、その後、塩の種類を変えた実験やシラノール残存量の異なる C_{18} -シリカを用いた実験によって支持されている³⁹⁾。

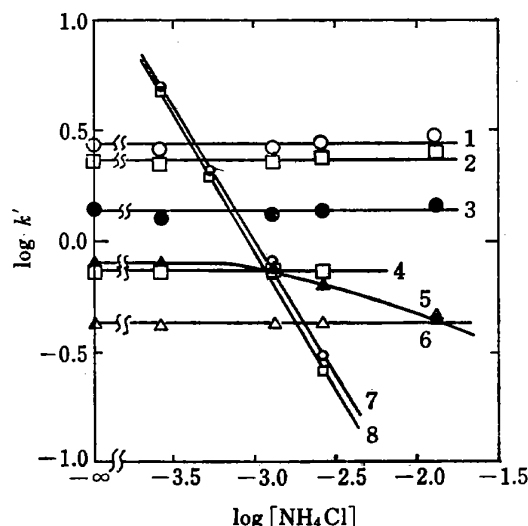


Fig. 19 log-log plot between the capacity factor (k') and the concentration of ammonium chloride in ethanolic mobile phase

Compounds: 1 $[\text{Fe}(\text{TPP})_2]\text{O}$, 2 $\text{Ni}(\text{TPP})$, 3 TPP , 4 $\text{Co}(\text{TPP})$, 5 $\text{Fe}(\text{TPP})\text{Cl}$, 6 $\text{VO}(\text{TPP})$, 7 $\text{Mn}(\text{TPP})\text{Cl}$, 8 $\text{Co}(\text{TPP})\text{Cl}$; Column: LiChrosorb RP-18 ($7\mu\text{m}$, $250\text{mm} \times 4\text{-mm i.d.}$), at room temperature

4.6 錯体の保持の大きさと溶解度の関連性

非水移動相を用いる逆相系における保持の機構は、まだ十分解明されてはいない問題である。固定相である C_{18} -シリカを高分子量アルカンに近似し、LC 系をこのアルカンと移動相溶媒から成る液-液系に近似すると、溶質の二相間分配は固定相と移動相への溶質の溶解度 S_s と S_m によって決まり、 k' は次式で与えられる。

$$\log k' = \log S_s - \log S_m + \log \phi \quad \text{.....(11)}$$

移動相溶媒により相比 ϕ が変化しなければ、 k' の対数と S_m の対数は、こう配 -1 の直線関係を示すものと予想される。

そこで、ETIO のバナジル、ニッケル、パラジウム錯体について、種々のアルコール、ケトン及びメタノール-アセトン混合溶媒への S_m を測定する一方、これらの溶媒を移動相に用いて k' を求めた。その結果、一例として Fig. 20 に示されるようなプロットを得た⁴⁰⁾。一部の例外を除き、各プロットはこう配 -1 の直線関係に平行して並んでいる。他の 2 種の ETIO 金属錯体でも同様な傾向がみられた。これらの結果は、逆相 LC 系を液-液系に近似させて考察しようとする考え方に一つの指針を与えるものであるが、この問題は、今後とも、錯体に限らず種々の有機化合物を対象にして LC 挙動と液-液分配挙動の関連性を調べることを通して明らか

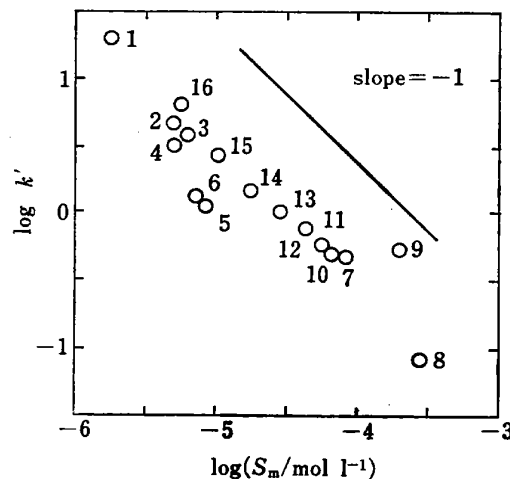


Fig. 20 Relationship between the chromatographic capacity factor (k') and the solubility (S_m) of $\text{Ni}(\text{ETIO})$ in the mobile phase solvent used

Column: LiChrosorb RP-18; Solvents: 1 methanol, 2 ethanol, 3 1-propanol, 4 2-propanol, 5 1-butanol, 6 2-butanol, 7 acetone, 8 2-butanone, 9 dimethylformamide, 10~16 methanol-acetone mixture [% methanol (v/v)—10: 5%, 11: 10%, 12: 20%, 13: 30%, 14: 40%, 15: 60%, 16: 80%]; Temperature at 25.0°C

になるものと期待される⁴¹⁾。

4.7 ポルフィリン金属錯体の分離

化学構造の異なるポルフィリンやその金属錯体の分離には、シリカゲル、 NH_2 -シリカ、 C_{18} -シリカなどの固定相を用いることが可能であり、それぞれ特徴のある分離結果が期待できる (4.4 参照)。p-置換フェニル基を導入したポルフィリンの銅錯体を C_{18} -シリカカラムで分離した例を Fig. 21 に示す。この場合、銅錯体の溶出順序は、TMP を除いて母体であるポルフィリンの溶出順序に一致する。

中心金属の異なる錯体の相互分離には、非水移動相を用いた逆相 LC 系が有用である。この場合、固定相として C_{18} -シリカとオクチル-(C_{18} -) 結合シリカを比較したところ、前者によるほうが分離係数が大であることが TPP の金属錯体を対象とした実験で確かめられている³⁰⁾。

C_{18} -シリカを固定相、アセトン-アセトニトリル混合溶媒を移動相にした系は、種々の金属錯体の分離に有用なものであって、例えば、TTP の金属錯体の分離例⁴²⁾を Fig. 22 に示す。この例で、錯体の保持は、次に示す中心金属の順に増加している。

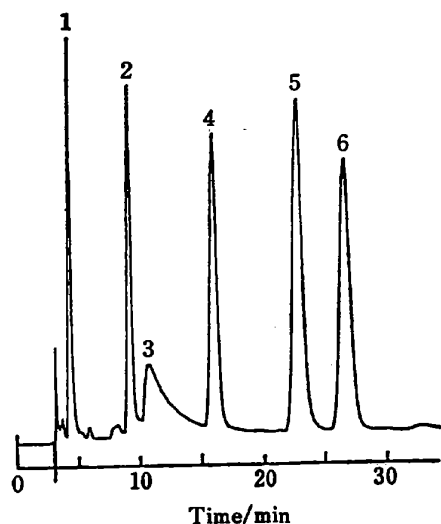


Fig. 21 HPLC separation of copper complexes of *meso*-substituted porphines³⁴⁾

Column : Partisil ODS-3 (10 μ m, 250 mm $\times$ 1-mm i.d.), at 25°C; Mobile phase : acetone-acetonitrile (40 : 60 v/v), 50 μ l/min; Peaks : 1 Cu(TNPP), 2 Cu(TFPP), 3 Cu(TMP), 4 Cu(TPP), 5 Cu(TCPP), 6 Cu(TTP); Detection at 415 nm

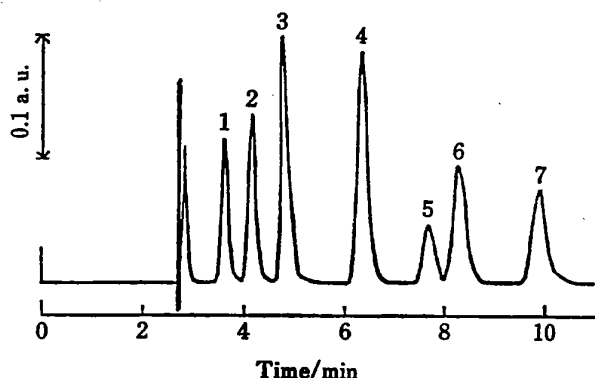
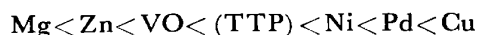


Fig. 22 HPLC separation of TTP metal complexes

Column : LiChrosorb RP-18 (7 μ m, 250 mm $\times$ 4-mm i.d.)⁴²⁾; Mobile phase : acetone-acetonitrile (70 : 30 v/v), 1 ml/min; Peaks : 1 Mg(TTP) 27 ng, 2 Zn(TTP) 29 ng, 3 VO(TTP) 59 ng, 4 TTP 60 ng, 5 Ni(TTP) 135 ng, 6 Pd(TTP) 149 ng, 7 Cu(TTP) 130 ng; Detection at 420 nm



メタノールを移動相として POR の亜鉛, ニッケル, パラジウム及び銅錯体³⁴⁾, アセトン-メタノール (30 : 70 v/v) 混合移動相により ETIO のパラジウム, ニッケル, パラジウム及び銅錯体³⁶⁾, メタノール-リン酸緩衝液 (pH 3) (85 : 15 v/v) 混合移動相により, HP の亜鉛, ニッケル, 銅錯体³⁵⁾が, それぞれ記した金属の順

に従ってカラムから溶出し, 短時間ではほぼ完全な相互分離が達成された. これらの分離例で, ポルフィリンの構造や溶媒が異なるにもかかわらず, 錯体の保持に関してその中心金属の順序に矛盾のないことは興味ある事実であって, 逆相系におけるポルフィリン金属錯体の保持に共通する序列と言えよう.

マンガン(III) やコバルト(III) の錯体の保持は, 移動相に添加した塩濃度を選ぶことで, 選択的に制御し得る (Fig. 19 参照). Fig. 23 に示す例においては, マンガン(III) 錯体が最も早く溶出するように 塩濃度が選ばれている.

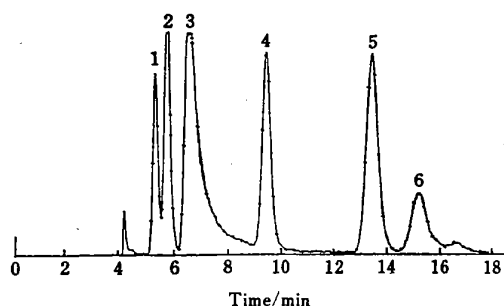


Fig. 23 Reversed phase HPLC separation of TPP metal complexes

Column : LiChrosorb RP-18 (7 μ m, 250 mm $\times$ 4-mm i.d.)³⁸⁾; Mobile phase : 2.57×10^{-3} mol/l NH_4Cl in ethanol, 0.6 ml/min; Peaks : 1 Mn(TPP)Cl, 2 VO(TPP), 3 Fe(TPP)Cl, 4 TPP, 5 Ni(TPP), 6 $[\text{Fe}(\text{TPP})]_2\text{O}$

TLC とカラム法での保持の関連性は, 理論上当然のことと考えられてはいるが, 具体的な例でこれを示したものは極めてまれである. 固定相として C_{18} -シリカを用いた HPTLC での R_m と HPLC での k' の関係が TPP の金属錯体について調べられており, 種々の移動相溶媒の系で, R_m と $\log k'$ がこう配約 1 の直線関係にあることが確かめられた³⁷⁾. このことは, HPTLC で得られた移動度のデータと, HPLC による保持データが互いに他方の結果の予測又は, 分離条件の選択に有用であることを意味する.

HPTLC によっても, 錯体の良好な分離が期待でき, C_{18} -シリカの TLC プレート上で, TPP³⁰⁾, TTP³²⁾, HP⁴³⁾⁴⁴⁾ やその金属錯体が分離されている.

TPP の金属錯体が非水移動相を用いる逆相 HPLC で迅速に分離され, 又, これらの錯体の Soret 吸収バンドのモル吸光係数 (ϵ) が著しく大 ($\epsilon > 10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) であることを利用して, 水溶液試料中の微量ニッケル, 銅, 亜鉛を TPP 錯体として HPLC 分離し, 吸光光度

検出する同時定量法が開発された⁴⁵⁾。水溶液中の金属イオンを TPP 錯体として抽出するのは困難なため、本法においては、水相から有機相へは ジエチルジチオカルバミン酸 (DDTC) 錯体として抽出し、有機溶媒中で DDTC 錯体を TPP 錯体に変換する方法がとられている。NBS 標準試料 Bovine Liver の分析に応用され、NBS による公表値と一致する結果が得られている。

5 金属化学種の分別定量への応用の試み

試料中に含まれる微量金属成分の定量において、一般には定量結果として総量としての金属元素量が与えられる場合が多い。実際の複雑な試料においては、同じ金属元素であっても様々な化学形で存在するものと予想され、従って、化学種ごとに分別定量できるなら試料中の金属成分について極めて有用な情報が得られるものと期待される。このような金属化学種のうち、分離の過程でも安定なものであれば LC によって分別し得ると考えられ、著者らは、石油試料を例に、含有されるバナジウム分、ニッケル分に注目し、その分別定量への LC の適用を試みつつある。これには、GPC と HPLC を分離手段として組み合わせ、高速走査吸光検出器 (MWD) と AAS を用いてカラム溶出成分について定性・定量情報を得、必要なら MS などとも同定に使用している。

残油試料から溶媒溶出法⁴⁶⁾によりベンゼンに溶ける成分を分離し、これをポリスチレンゲルをカラム充てん剤に用いた GPC で分離した⁴⁷⁾。この際の溶媒として、ベンゼン (メタノールを 5% 添加) が使用された。波長 405 nm で記録されたクロマトグラムと、AAS により得たカラム溶出液中のバナジウム及びニッケル濃度のヒストグラムを重ねて Fig. 24 に示す。用いたカラムの排除限界分子量は、ポリスチレンにおいて約 5000 である。従って、バナジウム、ニッケルのいずれもがカラムの排除限界に及ぶ高分子種から低分子種にわたる広範囲な化学種の形で存在していることが分かった。

更に、バナジウムは、ニッケルに比較して、よりサイズの小さな化学種としての存在比率の高いことが示唆された。MWD によれば、 $V_R=30\sim40$ ml にポルフィリン金属錯体に特徴的なスペクトルを示す成分が特に多量溶出しており、VO(ETIO) と Ni(ETIO) の V_R が、それぞれ 32, 34 ml であることから、残油試料中のバナジウムやニッケル分の中には、分子サイズが ETIO 錯体に近いポルフィリン錯体が含まれている可能性が高いと考えられた。

上述のようにバナジウムやニッケルが多様な存在状態

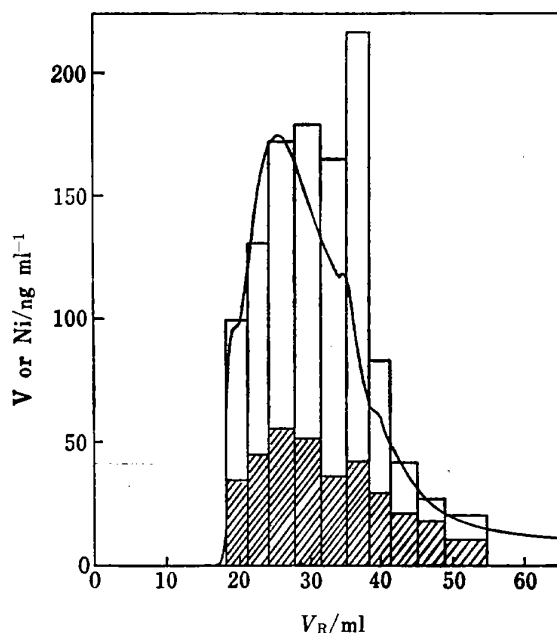


Fig. 24 Elution profiles of vanadium (open histogram) and nickel (shaded histogram), and the curve obtained by detection at 405 nm, for GPC separation of a residual oil sample⁴⁷⁾

Column: Shodex 801 gel, 52 cm×17.5-mm i. d., 25°C; Solvent: benzene-methanol (95:5 v/v), 1.22 ml/min

にあることが予想されたため、GPC に先立って、シリカゲルを固定相とする吸着 LC を組み入れ、これにより低極性、中極性、高極性 (酸性及び塩基性) 成分に分離した後、それぞれについて、GPC と逆相 HPLC 分離する方法が行われた⁴⁸⁾。一例として、重質油原油の中極性分 (シリカゲルカラムからベンゼン-アセトン混合液で溶出する成分) を GPC 分離した際の分子量数百に相当する領域のカラム溶出液を分取し、逆相 HPLC 分離して得たクロマトグラムを Fig. 25(a) に示す。少なくとも 5 本の明りょうなピークが得られている。各ピークの頂点付近での吸収スペクトルは、MWD により、Fig. 25(b) に示すように即時記録された。各スペクトルの形は、ポルフィリン金属錯体、特に VO(ETIO) のスペクトルに似た特徴を有している。AAS により、各ピーク部分にバナジウムが検出されたが、その量は各ピーク面積にほぼ比例した。ニッケルは、各ピーク中とも検出限度以下であった。以上から原油中のバナジウム分には少なくとも 5 種のポルフィリン錯体が含まれることが明らかになった。

6 結 語

本稿においては、前半で GPC という特徴ある分離機

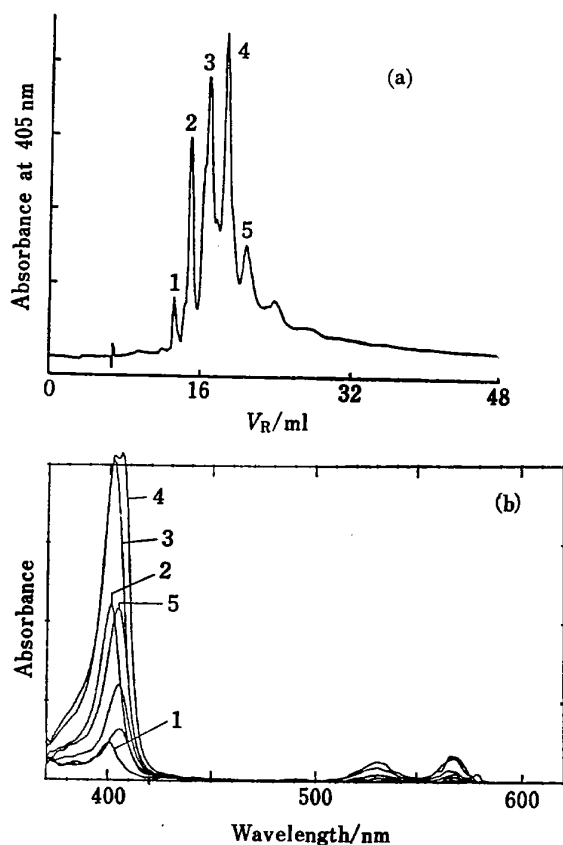


Fig. 25 An example of chromatogram (a) of preliminarily fractionated crude oil, and the spectra (b) recorded for respective elution peaks by MWD

HPLC column : LiChrosorb RP-18 (7 μ m, 250 mm $\times$ 4-mm i. d.); Mobile acetone : acetonitrile (10 : 90 v/v), 0.8 ml/min

構によるクロマトグラフィーの方法に焦点を絞り、後半ではポルフィリンという特徴ある化学構造をもつ化合物の錯体に注目して、これまで著者らが得た知見をまとめてみた。著者らの研究に終始し、他の研究者の成果との関連性を論ずるに至らず、又、金属錯体の LC 挙動に関する著者らの仕事においても、前に挙げた二つの焦点から外れるものについては言及しなかった。これらは別の機会に触れることにしたい。

ポルフィリン金属錯体の挙動に関しては、保持データがある程度集まり、同時に解釈を要する問題も浮上してきている段階で、今後解決すべき問題は山積している。

著者らが当初から目指した、種々の錯体の形で試料中に存在する金属化学種の分別定量への LC の適用は、やっとその手がかりを得たところであるが、興味ある展開が期待できよう。

最近、金属錯体の HPLC についての研究報告が増加の傾向にある。ここに述べた著者らの仕事が、いささか

でも読者の方々の研究の進展に役立つものであれば、この上なく幸いとするところである。

ここで述べた仕事のすべては、鈴木信男教授の下で行われたものであって、同教授のご指導とご助言に負うところが極めて多い。公私にわたる鈴木先生のご指導、ご助言に対し、心より感謝の意を表したい。又、これまで仕事を共にした多くの学生、院生の方々に厚くお礼申し上げたい。ポルフィリン及びその金属錯体の同定に際しては、近畿大学理工学部の西川泰治教授より貴重なご助言、ご協力をいただいた。感謝申し上げる。その他、お名前を省かせていただくが、数多くの方々のご協力をいただいたことを記し謝意を表する。本稿を終えるに当たり、これを書く機会を与えていただいた本誌編集委員長赤岩英夫教授にお礼申し上げる。

文 献

- 1) G. Schwedt : "Chromatographic Methods in Inorganic Analysis", (1981), (Hüthig Verlag, Heidelberg).
- 2) 鈴木信男, 斎藤絃一 : "最新高速液体クロマトグラフィー, 応用編", 南原利夫, 池川信夫編著, p. 724 (1983), (廣川書店).
- 3) 鈴木信男, 斎藤絃一 : "高分解能クロマトグラフィー" (化学の領域増刊 138 号), 波多野博行編, p. 127 (1983), (南江堂).
- 4) T. Sekine, Y. Hasegawa : "Solvent Extraction Chemistry", (1977), (Marcel Dekker, New York).
- 5) N. Suzuki, K. Akiba : *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **33**, 1897 (1971).
- 6) H. M. N. H. Irving : "Ion Exchange and Solvent Extraction", Edited by J. Marinsky, Y. Marcus, Vol. 6, p. 140 (1974), (Marcel Dekker New York).
- 7) H. Watarai, H. Oshima, N. Suzuki : *Quant. Struct. - Act. Relat.*, **3**, 17 (1984).
- 8) 鈴木信男, 斎藤絃一, 井村久則, 馬場和夫 : *ぶんせき*, **1983**, 70 (1983).
- 9) 鈴木信男, 斎藤絃一, 渡会 仁 : *分化*, **33**, T 52 (1984).
- 10) K. Saitoh, N. Suzuki : *Anal. Chem.*, **51**, 1682 (1979).
- 11) K. Saitoh, M. Satoh, N. Suzuki : *J. Chromatogr.*, **92**, 291 (1974).
- 12) K. Saitoh, N. Suzuki : *J. Chromatogr.*, **109**, 333 (1975).
- 13) K. Saitoh, N. Suzuki : *J. Chromatogr.*, **111**, 29 (1975).
- 14) 斎藤絃一, 鈴木信男 : *分化*, **25**, 491 (1976).
- 15) N. Suzuki, K. Saitoh : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **50**, 2907 (1977).
- 16) J. S. Smith : Ph. D. Thesis, University of Leeds, (1968); H. M. N. H. Irving : "Ion Exchange and Solvent Extraction", Edited by J. Marinsky, Y. Marcus, Vol. 6, p. 182 (1974), (Marcel Dekker, New York).
- 17) H. M. N. H. Irving, J. S. Smith : *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **31**, 1212 (1969).
- 18) K. Saitoh, T. Ozawa, N. Sunzki : *J. Chro-*

- matogr.*, **124**, 231 (1976).
- 19) J. H. Hildebrand, R. S. Scott: "The Solubility of Nonelectrolytes", (1964), (Dover, New York).
 - 20) K. Saitoh, N. Suzuki: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 116 (1978).
 - 21) N. Suzuki, K. Saitoh, M. Shibukawa: *J. Chromatogr.*, **138**, 79 (1977).
 - 22) E. Ozaki, K. Saitoh, N. Suzuki: *J. Chromatogr.*, **177**, 122 (1979).
 - 23) K. Saitoh, E. Ozaki, N. Suzuki: *J. Chromatogr.*, **239**, 661 (1982).
 - 24) H. Noda, K. Saitoh, N. Suzuki: *J. Chromatogr.*, **168**, 250 (1979).
 - 25) N. Suzuki, J. Suzuki, K. Saitoh: *J. Chromatogr.*, **177**, 166 (1979).
 - 26) K. Saitoh, N. Suzuki: *Anal. Chem.*, **52**, 30 (1980).
 - 27) H. Noda, K. Saitoh, N. Suzuki: *Chromatographia*, **14**, 189 (1981).
 - 28) 斎藤紘一, 柏理恵, 鈴木信男: 日本分析化学会第32年会講演要旨集, p. 444 (1983).
 - 29) L. R. Snyder: "Chromatography (third edition)", Edited by E. Heftman, p. 57 (1975), (Van Nostrand Reinhold, New York).
 - 30) K. Saitoh, M. Kobayashi, N. Suzuki: *Anal. Chem.*, **53**, 2309 (1981).
 - 31) M. Kobayashi, K. Saitoh, N. Suzuki: *Chromatographia*, **18**, 441 (1984).
 - 32) M. Kobayashi, K. Saitoh, N. Suzuki: *Chromatographia*, **20**, 49 (1985).
 - 33) S. Miyake, K. Saitoh, N. Suzuki: *Chromatographia*, **20**, 417 (1985).
 - 34) Y. Wakui, K. Saitoh, N. Suzuki: *Chromatographia*, **22**, 160 (1986).
 - 35) N. Suzuki, K. Saitoh, Y. Sugiyama: *Chromatographia*, **22**, 132 (1986).
 - 36) K. Saitoh, N. Suzuki: Proceedings of the Seventh International Symposium on Capillary Chromatography, p. 802 (1986).
 - 37) K. Saitoh, M. Kobayashi, N. Suzuki: *J. Chromatogr.*, **243**, 291 (1982).
 - 38) N. Suzuki, T. Takeda, K. Saitoh: *Chromatographia*, **22**, 43 (1986).
 - 39) 斎藤紘一, 平野兼次, 鈴木信男: 第47回分析化学討論会要旨集, p. 355 (1986).
 - 40) 三宅定明, 斎藤紘一, 鈴木信男: 日本分析化学会第32年会講演要旨集, p. 440 (1983).
 - 41) 斎藤紘一, 野村広正, 鈴木信男: 日本分析化学会第34年会講演要旨集, p. 297 (1985).
 - 42) M. Kobayashi, K. Saitoh, N. Suzuki: *Chromatographia*, **20**, 72 (1985).
 - 43) 杉山禎彦, 斎藤紘一, 鈴木信男: 日本分析化学会第34年会講演要旨集, p. 320 (1985).
 - 44) K. Saitoh, Y. Sugiyama, N. Suzuki: *J. Chromatogr.*, **358**, 307 (1986).
 - 45) K. Saitoh, N. Suzuki: *Anal. Chim. Acta*, **178**, 169 (1985).
 - 46) T. Tsukada, K. Saitoh, N. Suzuki: *Anal. Chim. Acta*, **183**, 89 (1986).
 - 47) T. Tsukada, K. Saitoh, N. Suzuki: *Anal. Chim. Acta*, **183**, 97 (1986).
 - 48) 斎藤紘一, 鈴木信男, 郷田秀樹: 日本分析化学会第35年会講演要旨集, p. 432 (1986).

☆

Liquid chromatography of metal complexes.

Koichi SAITOH (Department of Chemistry, Faculty of Science, Tohoku University, Aramaki, Aoba, Sendai-shi, Miyagi 980)

Studies on liquid chromatography (LC) of metal complexes by our group are critically reviewed. In the third chapter is described gel permeation chromatography (GPC) of metal complexes of β -diketones. The distribution coefficient, K_{av} , for every metal complex depended much on the solvent used. Practical GPC was regarded as one based on a combined function of size exclusion effect and partition effect. Introducing the concept of a regular solution to a phase system of GPC, the contribution of the partition effect could be estimated from the solubility parameters of solute, solvent and gel, the degree of gel swelling, and molar volume of the solute. Solubility parameter was the most useful guide for choice of the solvent to be used. In the fourth chapter, the HPTLC or HPLC behavior of porphyrin metal complexes is described. The effects of stationary phase material and mobile phase solvent on the retention of various porphyrins and porphyrin metal complexes were investigated. The effects of the ligated metal ion of complex and the chemical structure of ligating porphyrin were also studied. Reversed phase HPLC and HPTLC were successfully used for separation of several porphyrin metal complexes. In the fifth chapter was introduced the application of LC to analysis of petroleum samples, especially with respect to the vanadium- or nickel-containing species in the samples. By use of both GPC and HPLC equipped with rapid-scanning UV-visible spectrophotometric detector and AAS, several vanadium species as porphyrin complexes were separated and detected.

(Received August 26, 1986)

Keyword phrases

LC of metal complex; gel permeation chromatography of metal complex; HPLC of metal complex; metal chelates; porphyrin.

.....