The Japan Society for Analytical Chemistry

BUNSEKI KAGAKU Vol. 45, No. 2, pp. 181-184 (1996)

ノート

キャピラリーゾーン電気泳動によるナフタレンスルホン酸塩の分離

善木 道雄®*, 行武 英則**, 入澤 将*

Separation of naphthalenesulfonates by capillary zone electrophoresis

Michio ZENKI®*, Hidenori YUKUTAKE** and Masaru IRIZAWA*

*Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University of Science, 1-1, Ridai-cho, Okayama-shi, Okayama 700

**Okayama Prefectural Environment Conservation Corporation, 665, Uchio, Okayama-shi, Okayama 701-02

(Received 30 August 1995, Accepted 14 October 1995)

The separation behavior of naphthalenesulfonates (NSs) by capillary zone electrophoresis (CZE) has been investigated. Since the structural isomers of naphthalenemonosulfonate (NMS) and naphthalenedisulfonate (NDS) were identical at normal pH, modifiers such as surfactants and water soluble polymers were added to the electrophoretic buffer solution (20 mM borax, pH 9.2). Among those tested, polyethylene glycol (PEG, $n=2000$) was found to be the best modifier for the separation of NSs with high resolution. Structural isomers of two NMSs and four NDSs were successfully separated within 17 min by using a 37.8 cm×75-μm i.d. fused silica capillary. The separation of NSs was also investigated by two methods of reversed-phase HPLC using a C_{18} column. The elution orders of NDS isomers obtained by both CE and HPLC differed from each other, which indicates that many factors affect on the separation of NSs.

Keywords : separation of naphthalenesulfonates; capillary zone electrophoresis; polyethylene glycol.

1 緒　　言

ナフタレンスルホン酸塩 (NSs) は，特に染料工業において重要な中間体である．ナフタレンモノスルホン酸 (NMS) 及びナフタレンジスルホン酸 (NDS) の構造異性体はよく知られており，それら相互の分離定量は，製造工程の改良，品質管理等の上からも必要不可欠で，有効な分析法がないことと相まって，新しい分析法の確立が強く望まれている．NSs の分析法は，オクタデシルシリカ (ODS) カラムを用いる逆相高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるのが一般的で，アルキルアンモニウムイオンをイオン対形成剤として用いるイオン対法[1]と，硫酸ナトリウムのような無機塩を溶離剤として用いる塩析法[2]が提案されている．Jandera ら[3]は，34

* 岡山理科大学理学部化学科: 700 岡山県岡山市理大町 1-1
** 岡山県環境保全事業団: 701-02 岡山県岡山市内尾 665

NII-Electronic Library Service

The Japan Society for Analytical Chemistry

種のナフタレンあるいはアントラセンスルホン酸誘導体の分離について，両法を比較検討し塩析法のほうが優れていることを示した．しかし，この方法は高濃度の塩を使用するため，ライン中に塩が析出したり，カラムが劣化したりする問題がある．

一方，キャピラリー電気泳動（CE）は高い分離能，迅速な分析時間，nl オーダーの試料量及び完全自動化など優れた特徴を有するため，この 10 年間の間に急速に進歩した分離分析法である[4]．著者らは，先にアミノ基とスルホン酸基を併せ持つアミノナフタレンスルホン酸類の CE について報告してきた[5)6)]．そしてアミノ基のプロトン化がキャピラリーゾーン電気泳動（CZE）モードの分離に重要であることを示したが，スルホン酸基に関する情報は得られなかった．今回，スルホン酸基だけを持つナフタレン類について注目し検討した．スルホン酸基は通常の pH 領域では完全に解離していると考えられ，水溶液中では NSs はかさばった有機陰イオンとして挙動する．従って，泳動緩衝液単独の CZE では，それらの構造異性体は全く分離できないが，ポリエチレングリコール（PEG）のような修飾剤を添加すると効果があることが分かったので報告する．

2 実　　験

2・1 装置及び試薬

CE 及び HPLC の装置は，既報[6)]と同じものを使用した．

使用した NSs は，1-，及び 2-ナフタレンスルホン酸ナトリウム（NMS），それに 1,5-，1,6-，2,6-，及び 2,7-ナフタレンジスルホン酸二ナトリウム（NDS）の計 6 種である．これらは東京化成から購入したものをそのまま使用した．その他の試薬はすべて試薬特級を用いた．蒸留水は Milli-Q（日本ミリポア製）で精製したものを使用した．

2・2 操　作

CE の操作は既報[6)]と同様に行い，220 nm でオンカラム検出した．HPLC 用溶離液は，0.15 M 硫酸ナトリウム及び 5 mM テトラブチルアンモニウムブロミドの 34 v/v% のメタノール溶液を用い，いずれの場合も 1.0 ml/min で送液した．試料注入は 20 μl とし，カラムは TSK_{gel} ODS-80T_M を用い，検出波長は 220 nm とした．

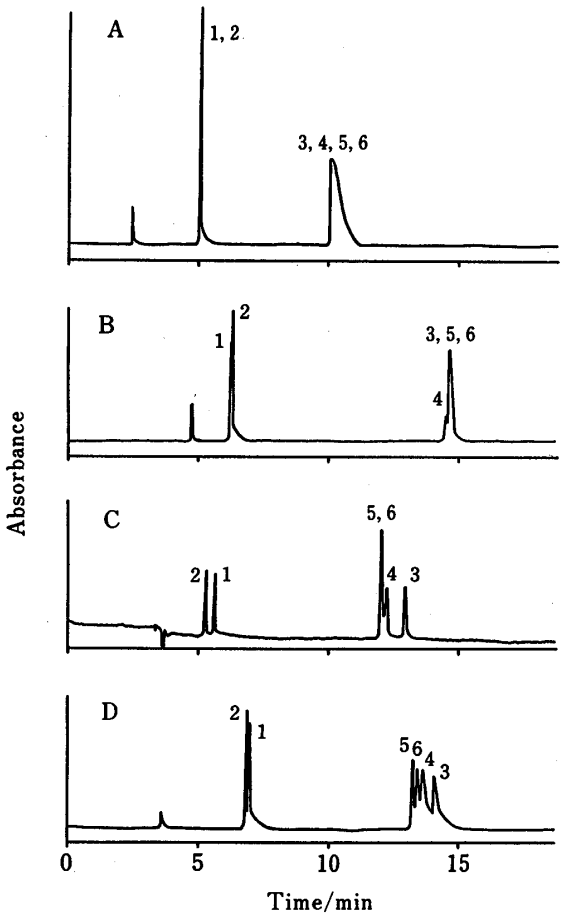

Fig. 1 Electropherogram of naphthalenesulfonates
Buffer: (A) 20 mM borax; (B) 20 mM borax containing 3 w/v% sodium dodecylsulfate; (C) 20 mM borax containing 3 w/v% Triton X-405; (D) 20 mM borax containing 3 w/v% polyethylene glycol (n=2000); pH=9.2; Capillary: 37.8 cm×75 μm i.d.; Applied voltage: 15 kV; Temperature: 30°C; Detection: at 220 nm; Sample: (1) 1-naphthalenesulfonate; (2) 2-naphthalenesulfonate; (3) 1,5-naphthalenedisulfonate; (4) 1,6-naphthalenedisulfonate; (5) 2,6-naphthalenedisulfonate; (6) 2,7-naphthalenedisulfonate. The concentration of all sample components was 1×10^{-3} M.

3 結果及び考察

3・1 NMS 及び NDS の CZE

泳動緩衝液は既報[6)]と同じ四ホウ酸ナトリウムをベースとした．Fig. 1(A) に 20 mM 四ホウ酸ナトリウム緩衝液（pH 9.2）を用いたときの，NSs のエレクトロフェログラムを示す．NMS と NDS は電荷の違いにより完全に分離しているが，2 種の NMS と 4 種の NDS の各々の異性体は全く分離できず，このことは，スルホン

NII-Electronic Library Service

The Japan Society for Analytical Chemistry

酸基は完全に解離しており，ナフタレン環上の位置にも無関係で，電気泳動上は完全に同価だということを示している[7]．従って，CZE において効果的な分離を達成するには工夫が必要で，まず修飾剤として界面活性剤を選び，その効果について検討した．陰イオン界面活性剤としてドデシル硫酸ナトリウム（SDS）及びドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム，中性界面活性剤として Triton（X-100 及び 405），Tween（20, 60, 80 及び 85），PONPE（n=5, 10, 15 及び 20），陽イオン界面活性剤としてゼフィラミン，セチルトリメチルアンモニウム，ベンザルコニウムを選んだ．Fig. 1(B)，(C) に，陰イオン及び中性界面活性剤の中で一番良好な分離を示した，SDS 及び TritonX-405 のエレクトロフェログラムを示す．陽イオン界面活性剤を添加した場合は電気浸透流が逆転し，NSs は陽極側で検出しなければならないが，検討した結果，分離が達成される系を見いだすことはできなかった[7]．

界面活性剤以外の修飾剤として，ある種の有機溶媒[8]，デキストリン[9]，PEG[10]，ポリビニルピロリドン[11]などが効果のあることが報告されている．本実験でもあらかじめこれらの添加効果について検討したところ，PEG が効果があることが分かった．Fig. 1(D) に，同様に PEG を 3 v/v% 添加したときのエレクトロフェログラムを示す．SDS，TritonX-405 に比べて良好な分離を示している．15 分の分析所要時間は，NMS，NDS の分析が同時に行われることから，3·2 で述べる HPLC 法と比べて非常に有利である．ナフタレン環の 1- 位のスルホン酸基を α- 位，2- 位のスルホン酸基を β- 位とすると，NSs の泳動順は，β->α->β, β'->α, β'->α, α'- の順になっているのは興味深い．泳動順は中性界面活性剤（TritonX-405）の場合と同様であると推定され，分子構造も類似していることから，ミセルと線状高分子の区別はあるが，同一の分離機構で分離が達成されたと推察される．なお，この泳動順は Terabe ら[7)12)]の高分子陽イオンを用いるイオン交換動電クロマトグラフィーの泳動順とよく一致している．PEG で良好な分離が達成された原因は直鎖のエチレングリコール鎖が強く関与しているためとも考えられる．事実，平均分子量（200, 400, 1000, 2000 及び 6000）の異なる PEG で検討した結果，分子量の増大とともに分離がよくなることが分かった（Fig. 2）．しかし，分子量の増大とともに粘度が上昇し，電気浸透流及び試料注入量が極端に低下して操作性が悪くなるので，平均分子量 2000 の PEG を 3 w/v% 程度添加するときが最適であった．

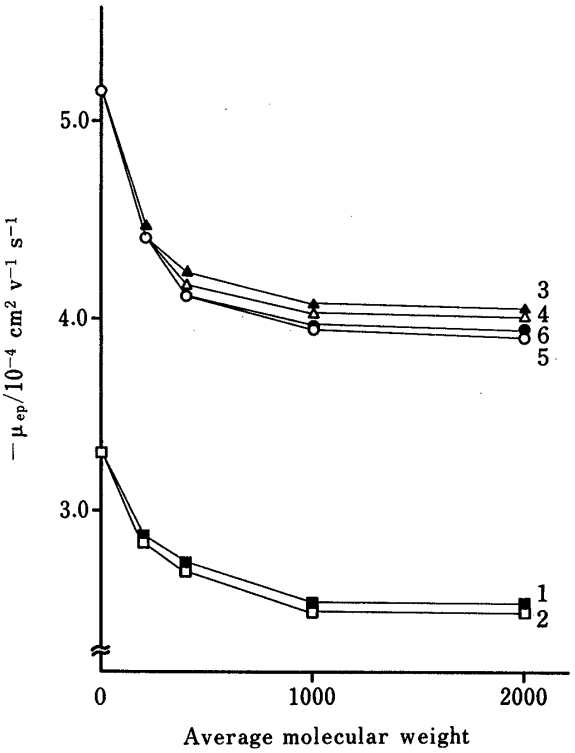

Fig. 2 Effect of average molecular weight of PEG on electrophoretic mobilities

Buffer: 20 mM borax (pH 9.2); Other conditions and sample numbers are the same as in Fig. 1.

3·2 NSs の HPLC

Jandera ら[3)]の方法を参考にして，NSs の HPLC での分離について検討した．結果を Fig. 3(A), (B) に示す．NMS と NDS は保持容量にかなり相違があり，同時定量にはこう配溶離が推奨される[1)]．本実験では，こう配溶離はとらなかったので，60 分の保持時間内に NMS と NDS を同じクロマトグラム上で分離する条件は見いだせなかった．しかし NDS の分離に関しては，CE よりも良好でベースライン分離している．ただ硫酸ナトリウムを溶離剤とする方法と，テトラブチルアンモニウムを溶離剤として用いたイオン対法とでは，NDS の溶離順が異なる．アミノナフタレンスルホン酸類の分離の場合は両法の溶離順が一致し，又 HPLC と CE との溶離・泳動挙動に相関関係があることを示した[6)]が，NSs では一転してこれらの間に相関関係を見いだすことはできなかった．このようにそれぞれの方法によって溶離・泳動順が異なることは，系を支配する要因がそれぞれ違うことを的確に現していると考えられ，分配（相互作用）だけでなく，イオン対形成能，分子の大きさと形，見掛けの電荷，溶媒和効果，溶離液及び泳動緩衝液の組

NII-Electronic Library Service

The Japan Society for Analytical Chemistry

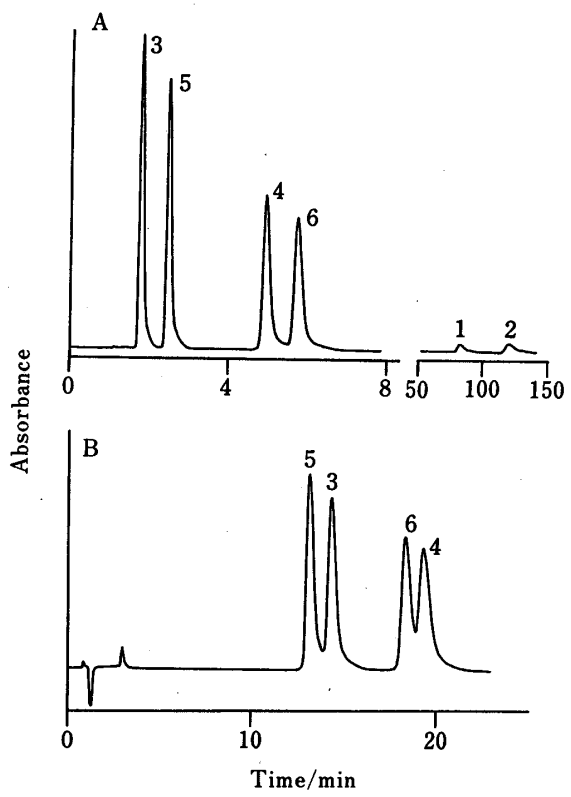

Fig. 3 Separation of naphthalenesulfonates by reversed-phase HPLC

Mobile phase: (A) 0.15 M Na_2SO_4; (B) 5 mM tetrabutylammonium bromide in 34 v/v% methanol; Column: $TSK_{gel}ODS\text{-}80T_M$ cartridge (10 cm×4.6 mm i.d.); Injection volume: 20 μl; Flow rate: 1.0 ml/min; Column temperature: 35°C; Detection: at 220 nm. The peak numbers correspond to those in Fig. 1. The concentration of all sample components was 1×10^{-4} M.

成，pH などが密接に関係していると考えられる．今後更に詳細な検討が必要である．

(1993 年 10 月，日本分析化学会第 42 年会において一部発表)

文　献

1) C. Prandi, T. Venturini: *J. Chromatogr. Sci.*, **19**, 308 (1981).
2) P. Jandera, J. Churacek: *J. Chromatogr.*, **197**, 181 (1980).
3) P. Jandera, J. Churacek, B. Taraba: *J. Chromatogr.*, **262**, 121 (1983).
4) S. F. Y. Li: "*Capillary Electrophoresis*", (1992), (Elsevier, Amsterdam).
5) 善木道雄，行武英則，入澤　将: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **44**, 227 (1995).
6) 善木道雄，入澤　将，行武英則: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **44**, 627 (1995).
7) S. Terabe, T. Isemura: *Anal. Chem.*, **62**, 650 (1990).
8) S. Fujiwara, S. Honda: *Anal. Chem.*, **59**, 487 (1987).
9) S. Terabe, H. Ozaki, K. Otsuka, T. Ando: *J. Chromatogr.*, **332**, 211 (1985).
10) Y. Esaka, Y. Yamaguchi, K. Kano, M. Goto, H. Haraguchi, J. Takahashi: *Anal. Chem.*, **66**, 2441 (1994).
11) W. Schutzner, S. Fanali, A. Rizzi, E. Kenndler: *J. Chromatogr.*, **639**, 375 (1993).
12) S. Terabe: *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **8**, 129 (1989).

NII-Electronic Library Service