

木材フェノール性物質に関する研究(I)*

木材フェノール性物質に関する Trimethylsilyl 誘導体の
ガスクロマトグラフィー

佐藤 惺**・北尾弘一郎**・千田 貢***

Akira SATO,** Koichiro KITAO** and Mitsugi SENDA***: The Study on Wood Phenolics (I) Gas-Liquid Chromatography of Trimethylsilyl Derivatives of Wood Phenolics.

フェノール類を trimethylsilylether (T.M.S.) に変えてガスクロマトグラフィーにかける試みが LANGER S. H. ら¹⁾(1958)により報告された。彼らはタール酸に含まれる低沸点フェノール類を D.C. 550 及び di-n-butyl tetrachlorophthalate のカラムにかけて、クレゾール異性体の T. M. S. 誘導体は沸点の順に出てくること、芳香環上に隣接置換基がないと両種カラムでは保持容量が同じであるが、そうでないと極性カラムの方で保持容量が大きくなることを知った。また BENTLEY R. ら²⁾(1963)は糖類の誘導体を調製し、SE-52 をカラムに使用して stachyose までの分離に成功している。SATO, A. and von RUDLOFF, E.(1964)³⁾は同じく SE-52を用いて、高沸点の flavonoids や stilbenoids を含む植物フェノール性物質に応用して、red pine (*Pinus resinosa* AIT.) の心材成分の分離に成功した。

今回、我々は Dow Corning 社製シリコンゴム D. C. 430 を用いて、低沸点フェノール類からd-カテキンに至る高沸点フェノール類とサイクリトール類の分離に成功し、さらに、それらの保持時間の間にいくつかの規則性のあることを見出したので報告する。また、T. M. S. 処理法を木粉のニトロベンゼン酸化物の検索に応用して良好な結果をえたのであわせて報告する。

実 験

器械 Shimazu GC 1-B 型ガスクロマトグラフを使用し、カラムには実験室で調整した充填剤を詰めたステンレス製 (6 mm ϕ , 75 cm) U 字管を用い、160°C, 190°C および 240°C でそれぞれ運転した。気相にはヘリウムを用い (標準流速 100 ml/分), 熱伝導度セルにて感度は $s=2$ で測定した。記録紙速度は主に 5 mm/分で操作した。

カラム充填剤 (i) 5.16 g の D.C.430 (可塑性度 45 mils, $d_{25}^{\circ}=0.98$) に 50 ml の酢酸エチルを加え、湯浴上 (50°C) にて 30 分攪拌して均一に溶かした液を 12.03g (50 ml) の Chromosorb W (60—80 mesh) に攪拌しながら加え、よくかき混ぜたのち、500 ml 容フラス

* 日本農芸化学会関西支部第 215 回例会 (昭.40.1.) にて発表

** 木材化学部門, Division of Wood Chemistry

*** 京大農学部農芸化学教室, Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kyoto University.

コに入れてロータリエバポレーターを用い、溶媒を減圧留去した。これをバイブレーターを用いずにカラムに約 25 ml つめたものを 30% D.C.430 カラムとした。(ii) 上記, D.C.430 の 0.41 g を秤量し 30 ml の酢酸エチルに溶かした液を Celite 545 (30—50 mesh), 35ml (7.8g) にまぶしたものを同様カラムにつめて, 5% D.C.430 のカラムとした。

試料 試料化合物の多くは市販品を用いたが, セコイトールは合成品を恵与されたものであり, フラボノイドとステルペノイドは *Pinus banksiana* LAMB. から, d-カテキンは阿仙薬からそれぞれ著者らにより抽出されたもので純度はいずれも薄層クロマトグラフ的に均一で, その融点, 赤外吸収とも文献値に一致するものであった。

T. M. S. 処理 各試料の 10 mg を小型試験管 (1.0×7.0 cm) に採り, 特級ピリジン 0.1 ml を加えて溶解し, 0.1 ml の hexamethyl disilazane (市販品) をよく振りながら加え, さらに trimethylchlorosilane 0.1 ml を加えて振りまぜ, 5 分間静置し, 生成した塩化アンモニウムを沈でんさせたのち, 上澄液の 10~30 μl を常法によりマイクロシリンジで注入した。

ニトロベンゼン酸化 ヤマザクラ (*Prunus yedoensis* M.) の木粉 (辺材) 3 g に, 10% 水酸化ナトリウム溶液 60 ml, ニトロベンゼン 2 ml を加え, オートクレーブで 2 時間, 165°C で反応せしめたのち冷却し, エーテルで反応液を抽出したのち, 常法により水液を酸性化, エーテル抽出を行ない一旦乾固したものを過剰のベンゼンに溶かし, 滷液を濃縮しメタノールで 2 ml に希釈して試料液とした。

Table 1. Relative Retention Time of Simple Phenols.

Compound	Column	30% D. C. 430
	Temperature	160°C
guaiacol		0.24
benzoic acid		0.35
catechol		0.37
m-methoxy phenol		0.40
hydroquinone, anisaldehyde		0.51
resorcinol		0.72
pyrogallol 1,3-dimethyl ether		0.63
o-vanillin		0.68
p-hydroxy benzaldehyde		0.80
m-hydroxy benzaldehyde		0.88
vanillin		1.00*
veratric aldehyde		1.35
acetovanillon		1.47
protocatechuic aldehyde		1.56
(Azobenzene)		2.74
syringaldehyde		2.84

* retention time : 8.6 minutes

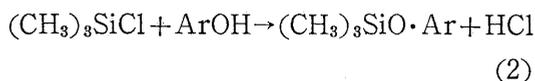
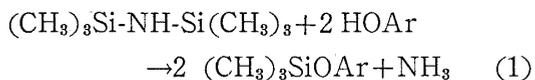
実験結果および考察

D.C.430 における低沸点フェノール類の分離性と適応化合物の限度を知るために, 15 種にわたるフェノール類についての結果をまとめたのが Table 1 ある。保持時間は vanillin を標準とした相対保持時間で表示したもので, azobenzene はニトロベンゼン酸化物の検索に必要なため, 参考に加えたものである。この結果, 30% D.C.430, 160°C では約 30 分で syringaldehyde のピークが現われた。

低沸点フェノール類では必ずしも T. M. S. 処理を必要としないが, カラム温度が高くなるにつれて, テーリング, あるいは分解物によるピークの乱れがめだつようになるので, 適当に T. M. S. で処理をすることが望ましい。Figure 1 に protocatechuic aldehyde でみられた例を示した。

T. M. S. 処理にあたっては前報³⁾ に準じたが, その反応式は (1) — (3) 式と考え

られる⁴⁾。しかし、多くの場合は(1)式の反応で充分であることが多かつた。



一般に、T. M. S. 誘導体はその母核化合物に比べて熱安定な化合物であり、揮発性も増すといわれているが⁶⁾、この実験においてもこのことは肯定できる。

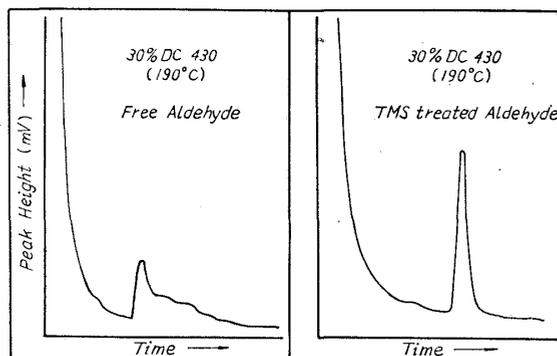


Fig. 1. Chromatograms of Protocatechuic Aldehyde.

Table 2. Relative Retention Time of Trimethylsilyl Derivatives of Plant Phenols.

Compound	Column temperature	30% D. C. 430			5% D. C. 430		
		160°	190°	240°	160°	190°	240°
TMS benzoic acid		0.47	0.13	—	—	—	—
“ catechol		0.65	—	—	0.15	—	—
“ <i>p</i> -hydroxy benzaldehyde		0.91	0.23	—	0.23	—	—
vanillin		1.00*	0.26	0.25	—	—	—
TMS vanillin		1.87	0.41	—	0.29	—	—
“ cinnamic acid		—	—	—	0.38	—	—
“ phloroglucin		—	0.55	0.41	—	—	—
“ protocatechuic aldehyde		2.72	0.58	—	—	—	—
“ <i>p</i> -hydroxy benzoic acid		—	0.58	—	—	—	—
“ syringaldehyde		3.90	0.79	—	0.41	0.22	—
“ vanillyl alcohol		—	—	—	0.59	—	—
“ β -resorcylic acid		—	—	—	0.94	—	—
“ vanillic acid		—	1.00**	0.61	1.00 ^o	0.44	0.03
“ protocatechuic acid		—	1.30	0.71	1.35	0.56	—
“ syringic acid		—	—	—	2.00	0.83	—
“ <i>p</i> -hydroxy cinnamic acid		—	1.98	—	—	0.90	—
“ gallic acid		—	2.18	1.00***	2.70	1.00 ^{oo}	—
(“ sequoyitol)		—	—	—	2.82	—	—
“ ferulic acid		—	—	—	4.60	—	—
(“ inositol)		—	—	—	5.21	1.67	0.10
“ caffeic acid		—	—	—	—	2.00	—
“ pinosylvin monomethylether		—	—	—	—	3.78	0.19
“ pinosylvin		—	—	—	—	—	0.19
“ pinocembrin		—	—	—	—	—	0.36
“ d-catechin		—	—	10.2	—	—	1.00 ^{ooo}

retention time : * 8.6 minutes, ^o 3.4 minutes

** 13.1 “ , ^{oo} 2.5 “

*** 4.4 “ , ^{ooo} 6.3 “

アルキル置換ベンゼンその他の各同族体間においては保持時間の対数と各化合物の沸点との間に、直線関係のあることが知られている⁶⁾⁷⁾。また種々の同族化合物において保持時間の対数と炭素数(—CH₂—)の間にも直線関係が見出されている。Table 2 にみられた結果から考察を加えるとき、次のような規則性を見出すことが出来た。

(1) メトキシル基の増加による影響

一連の同族体、*p*-hydroxybenzaldehyde, vanillin 及び syringaldehyde にあつて *p*-hydroxybenzaldehyde の保持時間に対する他のそれを対数で表したのが Figure 2 であるが、この結果、明らかにメトキシル基の数が増すに従つて、保持時間は直線的に増加している。この関係はまた、*p*-hydroxy benzoic acid, vanillic acid 及び syringic acid の同族系列においても一致した。

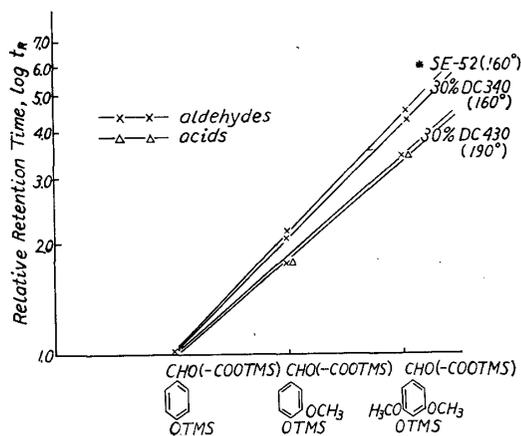


Fig. 2. Increasing Effect of Methoxyl Groups to Relative Retention Time.
* calculated from Sato, A and von Rudloff, E.⁹⁾

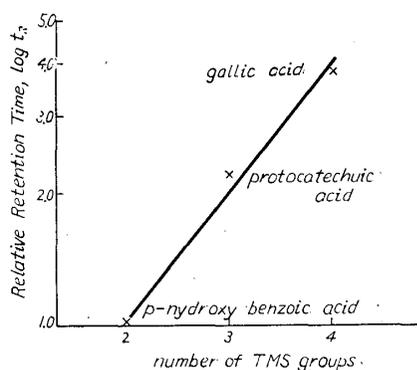


Fig. 3. Increasing Effect of TMS groups (30% DC 430, 190°C.)

を分離することが出来、同時に vanillic acid と syringic acid の定量も可能なことからリグニンの構造研究へも役立つものと思える。

最後に、本実験にあたり、こころよく機器の使用を御許可下さつた京大農芸化学教室、特に三井研究室の方々へ厚く感謝します。また sequoyitol を御恵与下さつた同上、中島研究室に

(2) T. M. S. 基の増加による影響

一連の同族化合物、*p*-hydroxy benzoic acid, protocatechuic acid 及び gallic acid の場合、反応形成により予測された T. M. S. 基の数と保持時間の対数との間には Figure 3 にみられる如く、ほぼ直線関係がみられた。

(3) T. M. S. 基の数と温度による保持時間の関係

カラムの温度をあげると保持時間の小さくなることは、よく知られていることであるが、この実験において 160°C と 190°C における同一化合物の保持時間の比と T. M. S. 基の数との関係を図示したのが Figure 4 である。これより明らかに直線上に並ぶことがわかつた。またこの比を求めることにより、未知化合物に含まれるトリメチルシリルエーテルを生ずる官能基の数を予測することも可能であると考えられる。

最後にサクラ辺材をニトロベンゼン酸化して得た試料液を無処理のまま、T. M. S. 処理をした場合とを比較してクロマトグラムを示したが (Figure 5), 従来、明瞭に分離し得なかつた⁸⁾ *p*-hydroxybenzaldehyde と vanillin

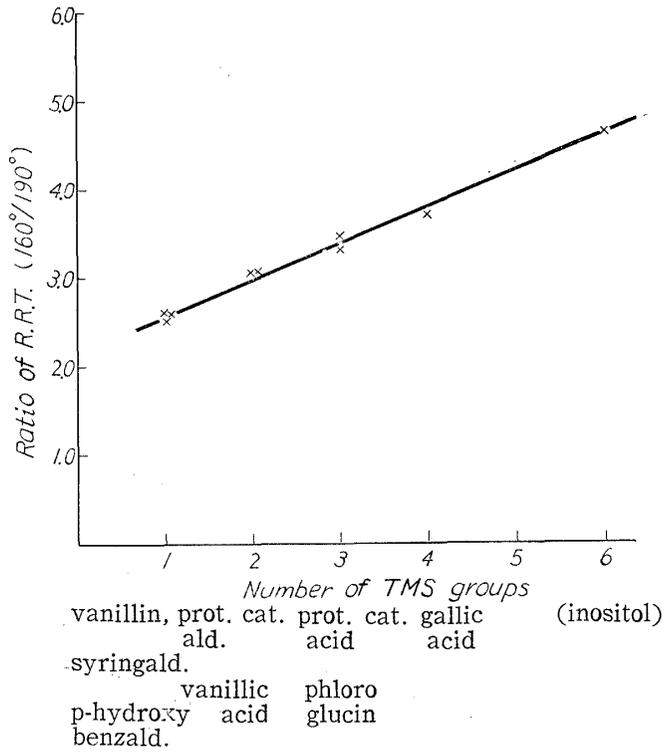


Fig. 4. Interrelationship between Number of TMS groups and Ratio of Relative Retention Time.

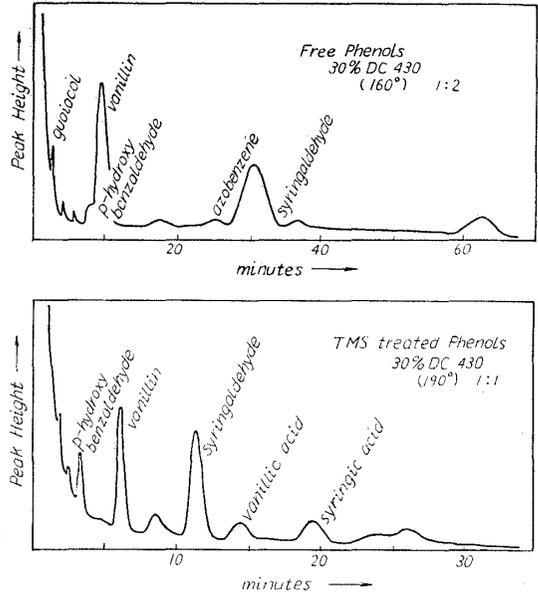


Fig. 5. Chromatograms of Nitrobenzene Oxidation-Product from *Prunus yedoensis* M.

も深謝致します。

要 約

シリコンゴム, D.C.430 のカラムを用いて, 22種の植物フェノール化合物と2種のサイクリトールの trimethylsilyl (T. M. S.) 誘導体, それに15種のフェノール類のガスクロマトグラフ法による分離を検討し, その結果, このカラムの有用性を認め, かつ, d-catechin, sequoyitol, inositol のガスクロマトグラフ的分離に成功した。また T. M. S. 誘導体はその同族体間において, (1) メトキシル基の増加に伴い保持時間の対数値は直線的に増加すること。(2) T. M. S. 基の数と保持時間の対数の間に直線関係のあること。(3) 温度差で異なるある保持時間の比 (160°C/190°C) は T.M.S. 基の数により一定値となり, かつその数値と導入された T. M. S. 基の数との間に直線関係があること, を知った。また, T. M. S. の処理法をサクラ辺材のニトロベンゼン酸化物の検索に応用して, *p*-hydroxy benzaldehyde と vanillin の分離に成功し, 同時に syringic acid と vanillic acid の検索も可能なことを示した。

Summary

Gas-liquid chromatographic separation of fifteen kinds of phenols and trimethylsilyl (T. M. S.) derivatives of twenty-two plant phenols and two of cyclitols were successfully studied by use of columns packed by Chromosorb W or

Celite 545 coated with silicone rubber, D₂C. 430 at 160°, 190° and 240°. Especially, good results were obtained for the separation of d-catechin, sequoyitol and inositol. For members of homologous T. M. S. derivatives were found linear relationships (1) between $\log t_R$, being relative retention time, and the number of methoxy groups, (2) between $\log t_R$ and the number of T. M. S. groups at a given temperature. (3) The ratio of t_R at 160° to t_R at 190° was same for compounds containing the same number of T. M. S. groups and their values increased linearly with the number of T. M. S. groups. As an example of the application of gas-liquid chromatography based on T. M. S. treatment, nitrobenzene oxydation-products of wood meal from *Prunus yedoensis* M. were examined. Vanillin and p-hydroxy benzaldehyde were clearly determined as separate peaks, and syringic acid and vanillic acid were also detected on the chromatograms.

Literatures Cited

- 1) LANGER, S. H., P. PANTAGES, and I. WENDER, Chem. & Ind., 1664 (1958).
- 2) BENTLEY, R., C. C. SWEELEY, M. MAKITA, and W. W. WELLS., Biochem. Biophys. Res. Commun., **11**, 14 (1963).
- 3) SATO, A. and E. VON RUDLOFF, Can. J. Chem., **42**, 635. (1964).
- 4) ISMAIL, R. M., Zeit. Naturwiss., **18b**, 582 (1963).
- 5) HEDGLEY, E. J. and W. G., OVEREND, Chem. & Ind., 378 (1960).
- 6) 舟阪 渡, 小島次雄, ガスクロマトグラフィー第2集, 南江堂, 23~46 (昭・36)
- 7) 三宅 坦, 三戸岡憑之, 同上, 47~74.