



誘導体化試薬と 誘導体化反応の基礎

東京化成工業株式会社
深谷工場 製造部 金子 広之



なぜ誘導体化するの？

分離の改善

- 難揮発性化合物を揮発性に変える。
- 熱安定性を増し熱分解を防止する。
- 光学異性体をジアステレオマーにすることで、光学活性カラムを使わずに分離できる。
- カラム充填剤への吸着を防ぐ。

検出感度の向上

- 検出器への感度を上げる(ECD, MS, NPD)。

化学構造に対する知見

- 官能基の数や特定の成分を見分けられる。



誘導体化による沸点降下

CH_3COOH
(沸点:118°C, 分子量:60.05)

メチルエステル化



$\text{CH}_3\text{COOCH}_3$
(沸点:56°C, 分子量:74.08)



TMS化

$\text{CH}_3\text{COOSi}(\text{CH}_3)_3$
(沸点:108°C, 分子量:132.23)

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
(沸点:78°C, 分子量:46.07)

アセチル化



$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$
(沸点:77°C, 分子量:88.11)

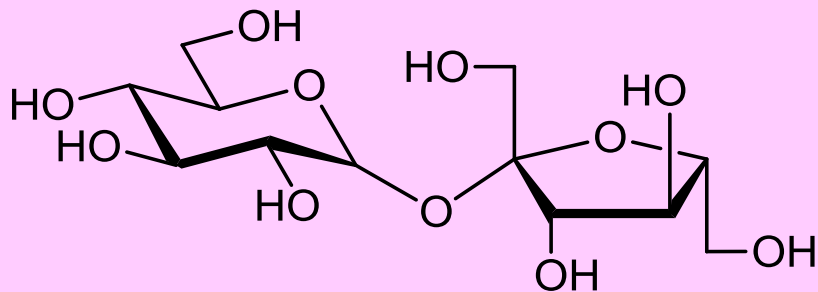


TFA化

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCOCF}_3$
(沸点:62°C, 分子量:142.08)

糖の誘導体化

砂糖

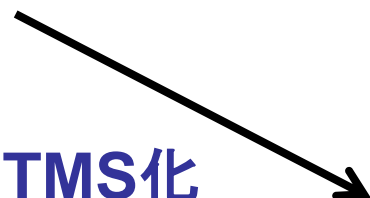


加熱

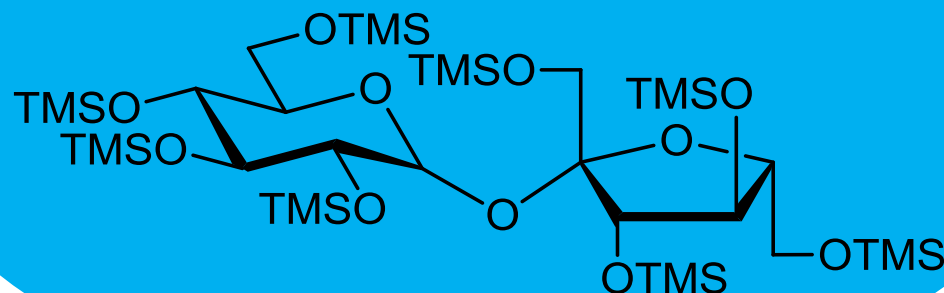
炭化



TMS化



TMS-砂糖

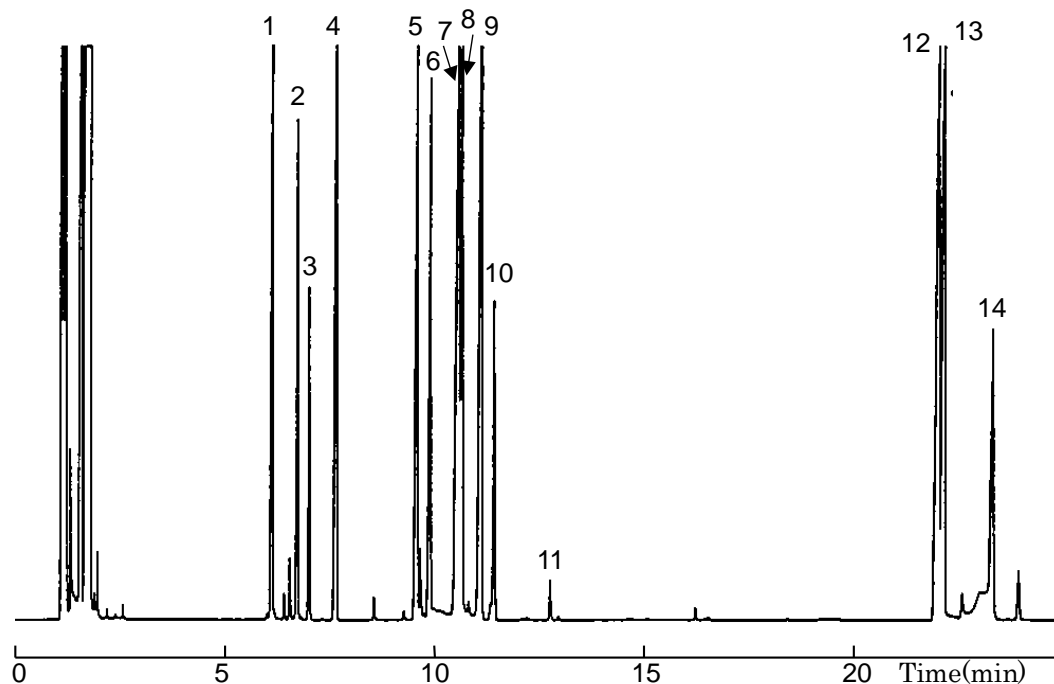


分析例 TMS Sugars

Column : 007-1(Dimethylpolysiloxane)

25m x 0.25mm I.D. x 0.25 μ m

Temperature : 150°C(5°C/min)~220°C(10°C/min)~270°C



Sample :

1. β -Arabinose
2. α -Ribose
3. β -Ribose
4. α -Xylose
5. α -Mannose
6. β -Fructose
7. α -Galactose
8. α -Sorbitose
9. α -Glucose
10. β -Mannose
11. β -Glucose
12. Lactose
13. Sucrose
14. Maltose

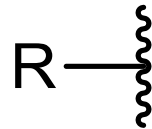


官能基による誘導体化

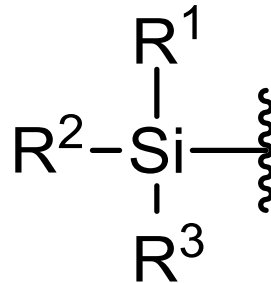
官能基	対象物	誘導体化	試薬
水酸基 (OH)	アルコール ステロイド 糖	シリル化	トリメチルシリル化剤
		エステル化	酸-アルコール N,N-ジメチルホルムアミド ジメチルアセタール ジアゾメタン オンカラムメチル化剤
		アシル化	無水酢酸 トリフルオロ酢酸無水物
カルボキシル基 (COOH)	脂肪酸	シリル化	トリメチルシリル化剤
		エステル化	酸-アルコール N,N-ジメチルホルムアミド ジメチルアセタール ジアゾメタン オンカラムメチル化剤
アミノ基 (NH ₂)	アミン アミノ酸	シリル化	トリメチルシリル化剤
		アシル化	無水酢酸 トリフルオロ酢酸無水物
メルカプト基 (SH)	チオール	シリル化	トリメチルシリル化剤
		アシル化	無水酢酸 トリフルオロ酢酸無水物
カルボニル基 (CO)	ステロイド	オキシム化	ペンタフルオロベンジル ヒドロキシアミン塩酸塩

誘導体化の種類

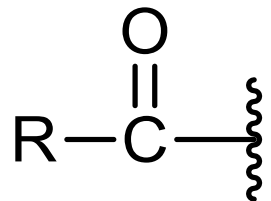
1. エステル化



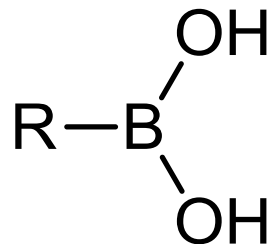
2. シリル化



3. アシル化



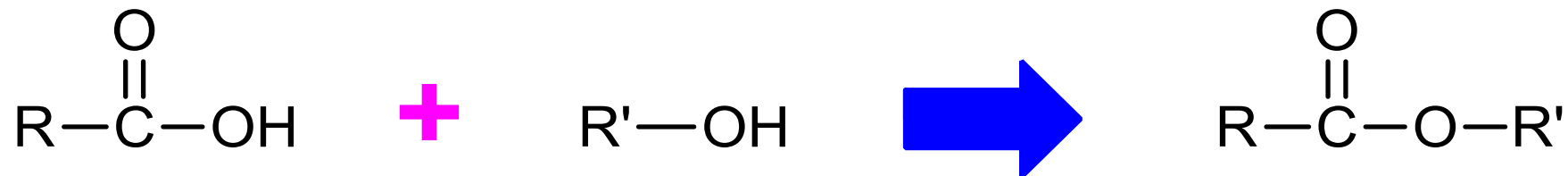
4. その他





エステル化とは？

カルボン酸





エステル化剤

メチルエステル化剤

酸-メタノール

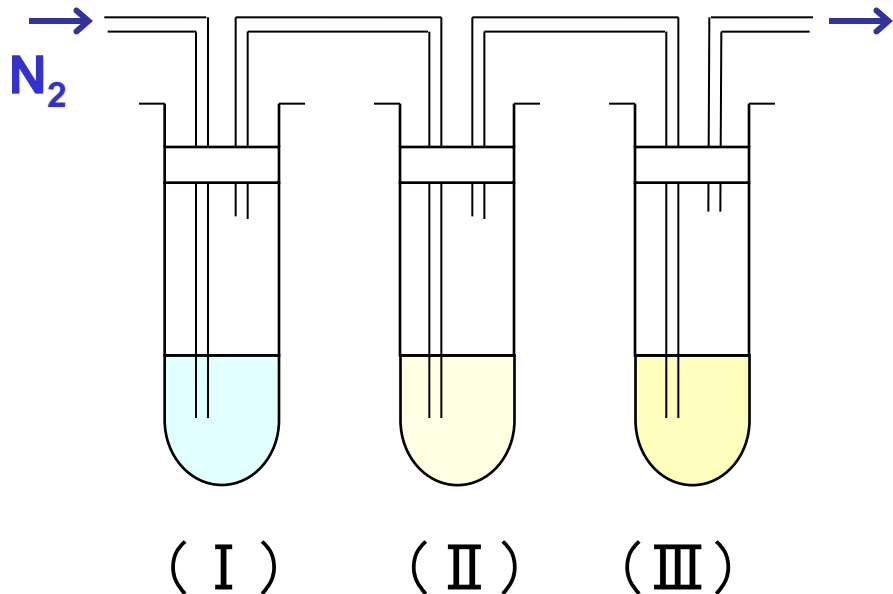
ジアゾメタン

TMS-ジアゾメタン

N,N-ジメチルホルムアミドジメチルアセタール

オンカラムメチル化剤

ジアゾメタン発生装置



【操作方法】

- ① エーテル約10mL入れる。(Ⅰ)
- ② 水酸化カリウム 5～6粒を水 1mLに溶解しカルビトール又エタノール10mLを加える。(Ⅱ)
- ③ 脂肪酸のエーテル溶液を入れ、窒素ガスを少量流しておく。(Ⅲ)
- ④ (Ⅱ)にp-トルエンスルホニル-N-メチル-N-ニトロソアミド加える。
- ⑤ (Ⅲ)が微黄色になったらエステル化完了。

* カルビトール：ジエチレングリコールモノエチルエーテル



誘導体化方法(メチルエステル化)

脂肪酸	2mg
トルエン(25%メタノール含有)	0.5mL

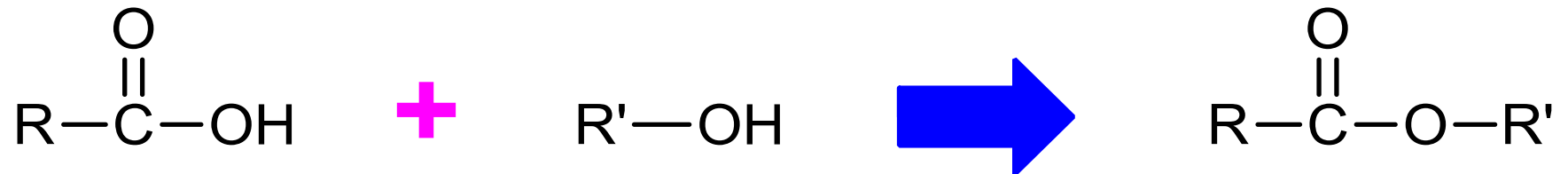
バイアルビン使用

← TMS-ジアゾメタン
(10%ヘキサン溶液) 0.1mL
放置(20°C x 15min)
(窒素ガス発生終了後密栓する)

脂肪酸メチルエステル

オンカラムメチル化剤とは？

カルボン酸

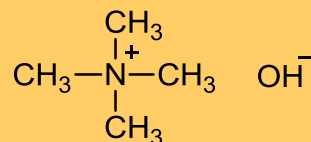


- 脂肪酸などと試薬を混合しGCに注入すると、試料気化室内で反応しメチルエステル化する。
- トリグリセリドとは、エステル交換反応によって構成脂肪酸のメチルエステルを生成する。



オンカラムメチル化剤

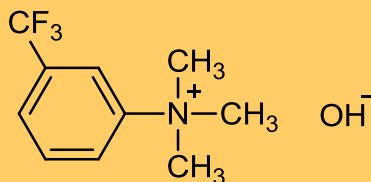
テトラメチルアンモニウムヒドロキシド(TMAH)(メタノール溶液)



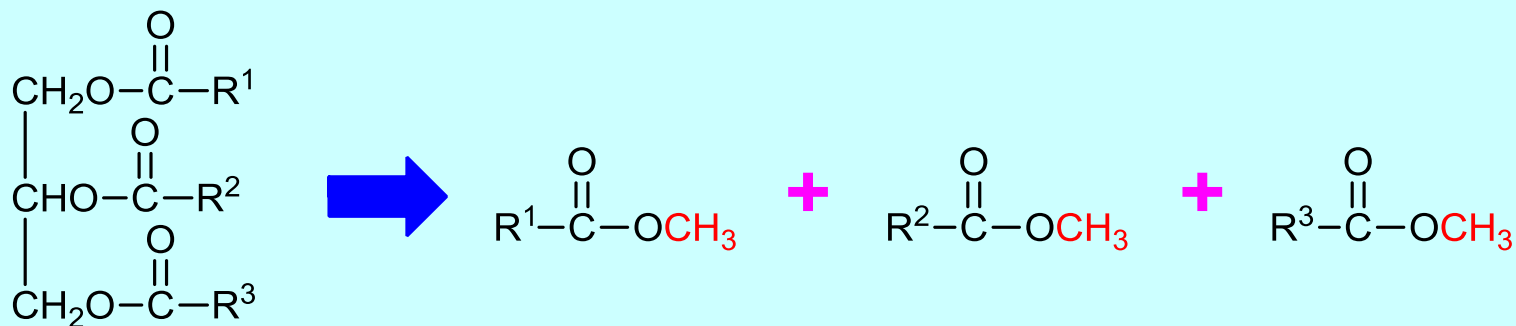
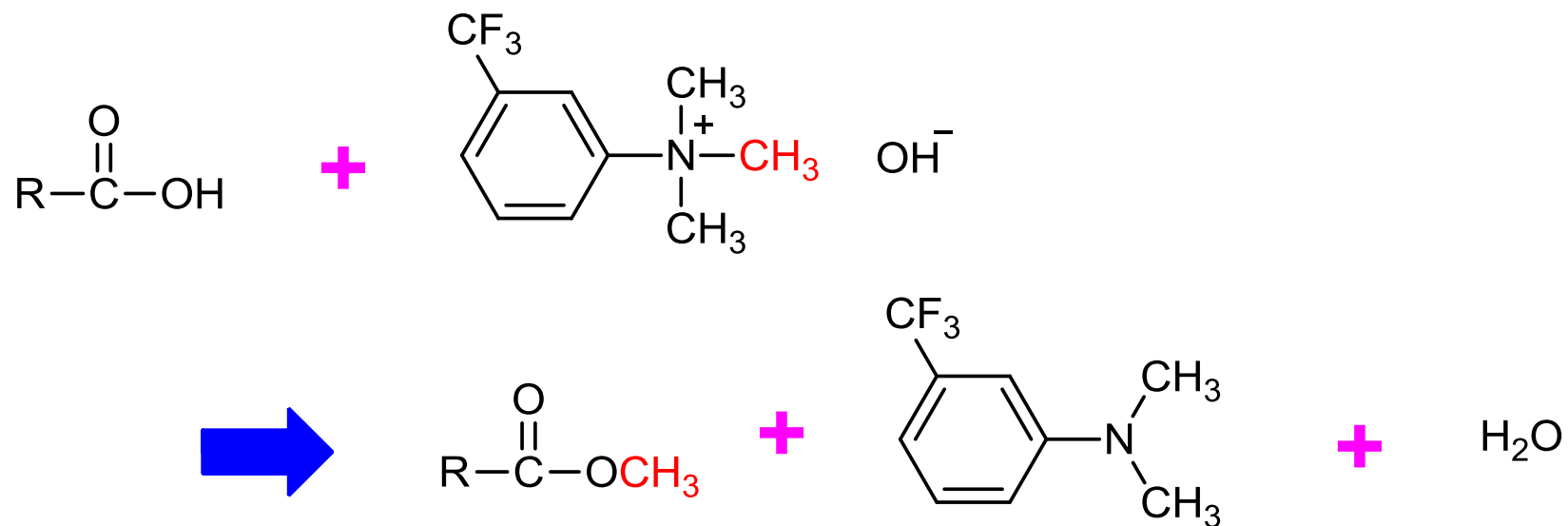
フェニルトリメチルアンモニウムヒドロキシド (PTAH) (メタノール溶液)



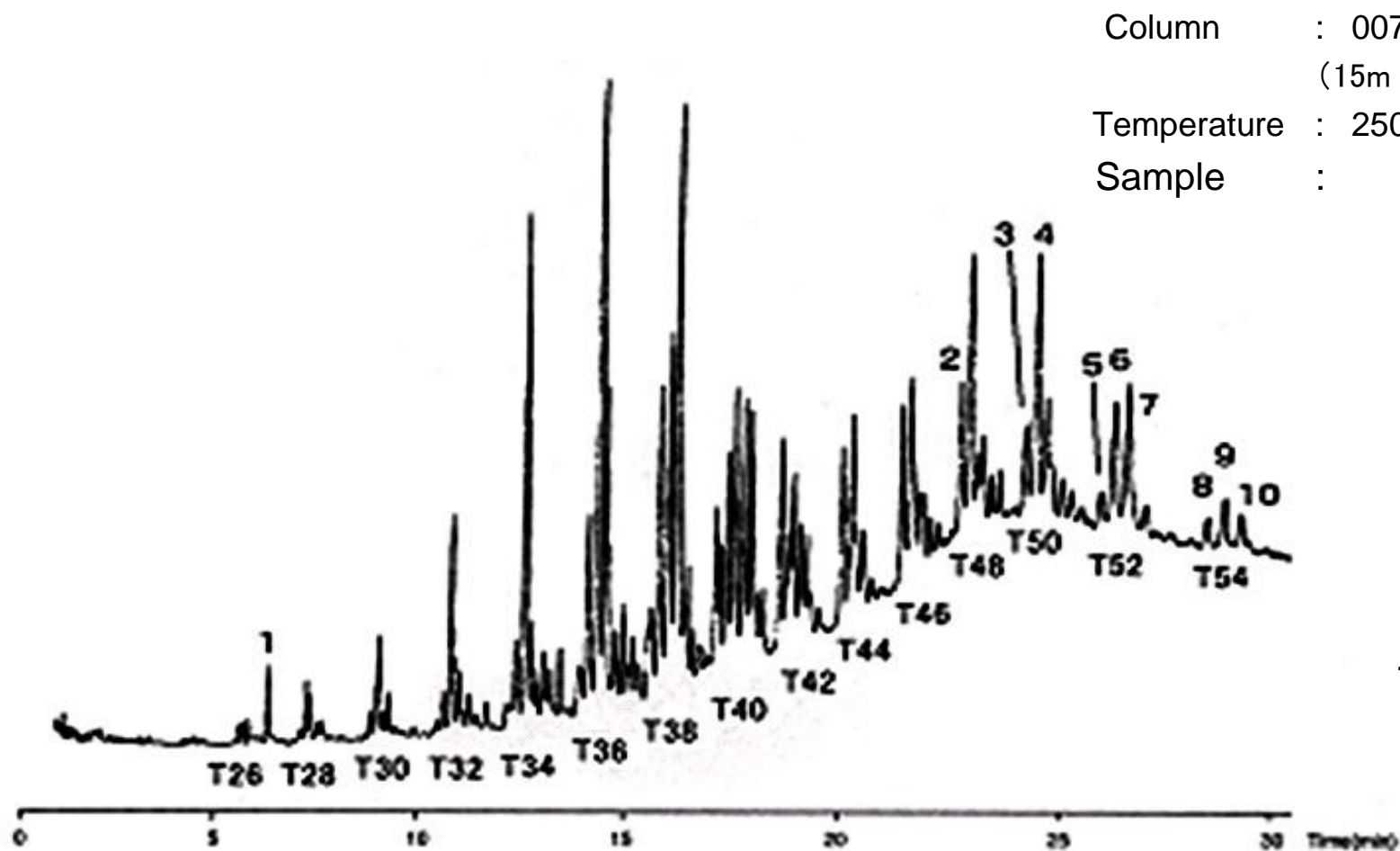
m-トリフルオロメチルフェニルトリメチルアンモニウムヒドロキシド (TFPTAH) (メタノール溶液)



反応例 トリグリセリド



分析例 Butter Triglyceride



Column : 007-65HT
(15m x 0.25mmI.D., 0.1 μ m)

Temperature : 250°C(5°C/min)-365°C

Sample : 1. Cholesterol

2. PPP

3. PPS

4. PPO

5. PSS

6. PSO

7. POO

8. SSO

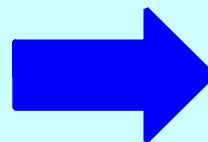
9. SOO

10. OOO



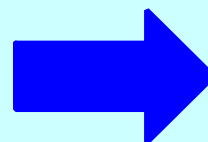
反応例 トリグリセリド

CH_2O —パルミチン酸 (C16:0)
 |
 CHO —パルミチン酸 (C16:0)
 |
 CH_2O —ステアリン酸 (C18:0)



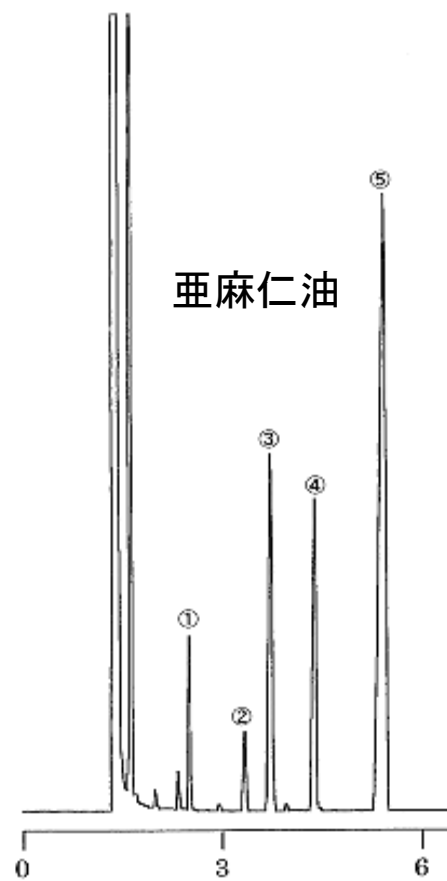
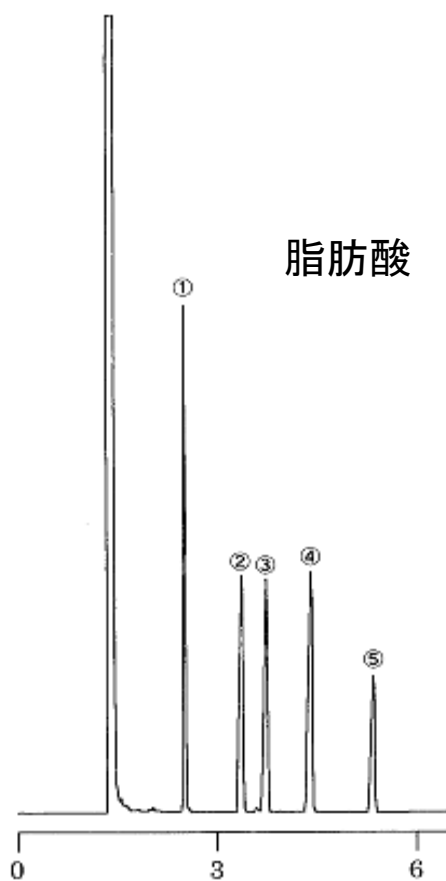
パルミチン酸メチル
 パルミチン酸メチル
 ステアリン酸メチル

CH_2O —パルミチン酸 (C16:0)
 |
 CHO —ステアリン酸 (C18:0)
 |
 CH_2O —オレイン酸 (C18:1)



パルミチン酸メチル
 ステアリン酸メチル
 オレイン酸メチル

脂肪酸・亜麻仁油分析例

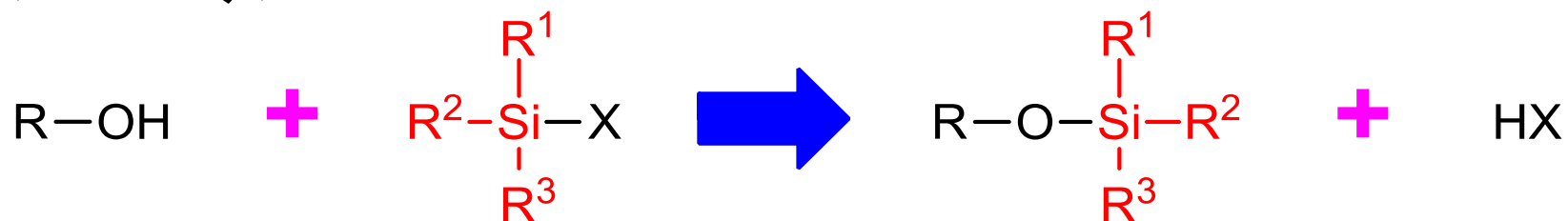


Column : 007-23
 (Cyanopropylphenyldimethylpolysiloxane)
 (30m x 0.25mmI.D., 0.25 μ m)
 Temperature : 180 $^{\circ}$ C

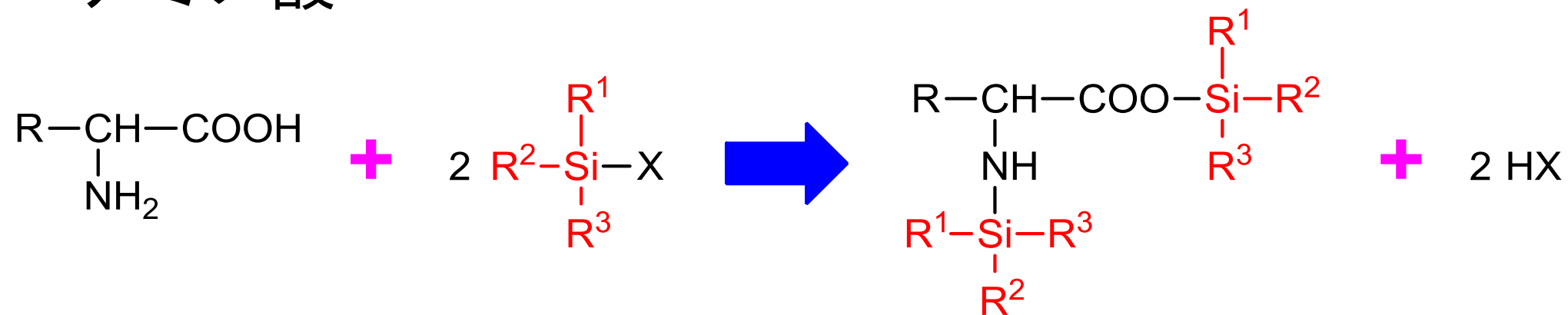
Sample : 1.パルミチン酸(C16:0)メチル
 2.ステアリン酸(C18:0)メチル
 3.オレイン酸(C18:1)メチル
 4.リノール酸(C18:2)メチル
 5.リノレン酸(C18:3)メチル

シリル化とは？

アルコール

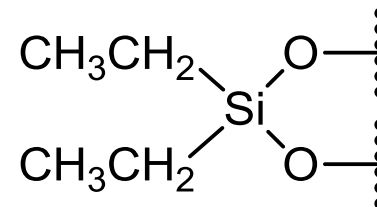
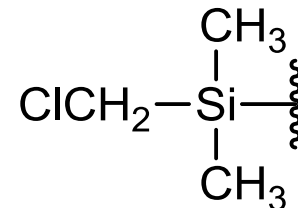
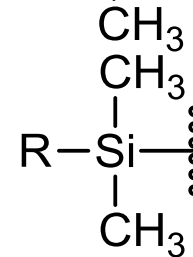
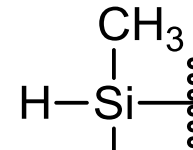
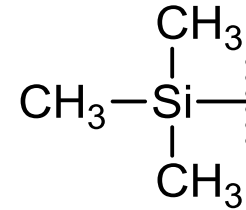


アミノ酸



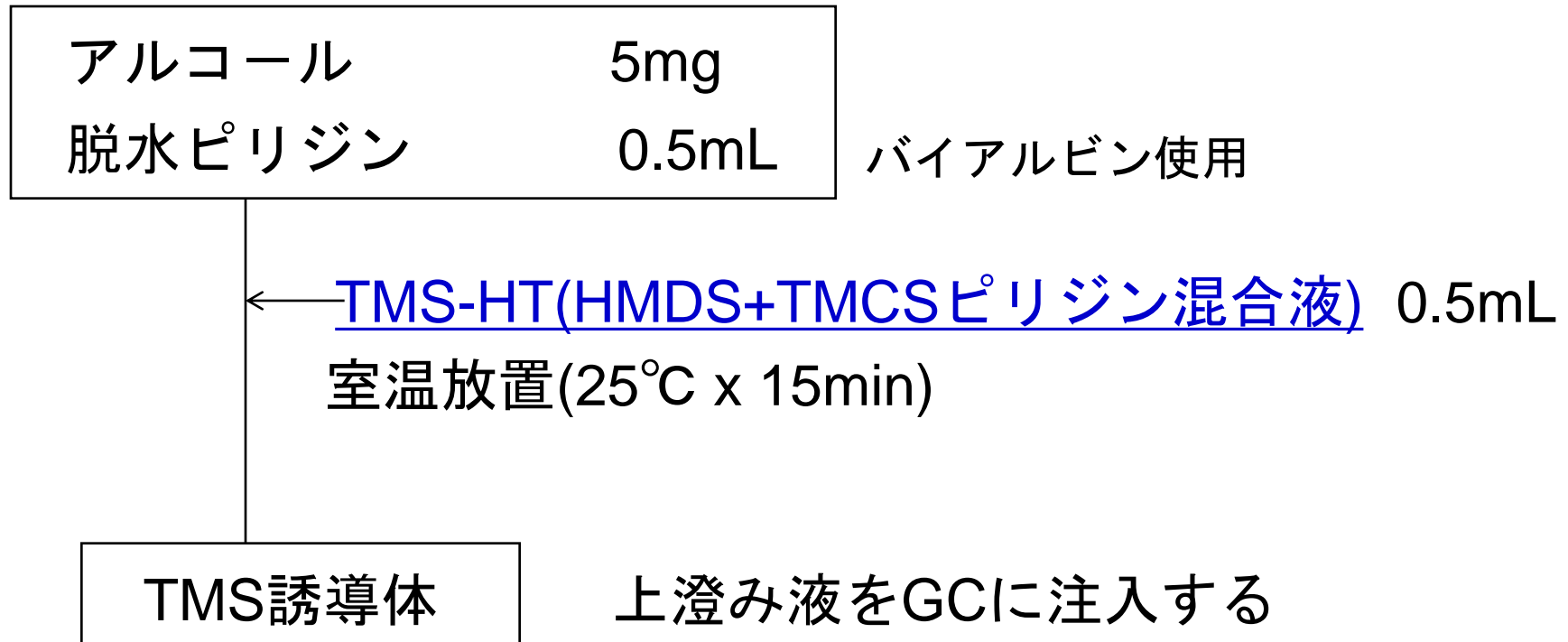
シリル化剤

1. トリメチルシリル化剤
2. ジメチルシリル化剤
3. ジメチルアルキルシリル化剤
4. ハロメチルシリル化剤
5. 環状シリレン化剤

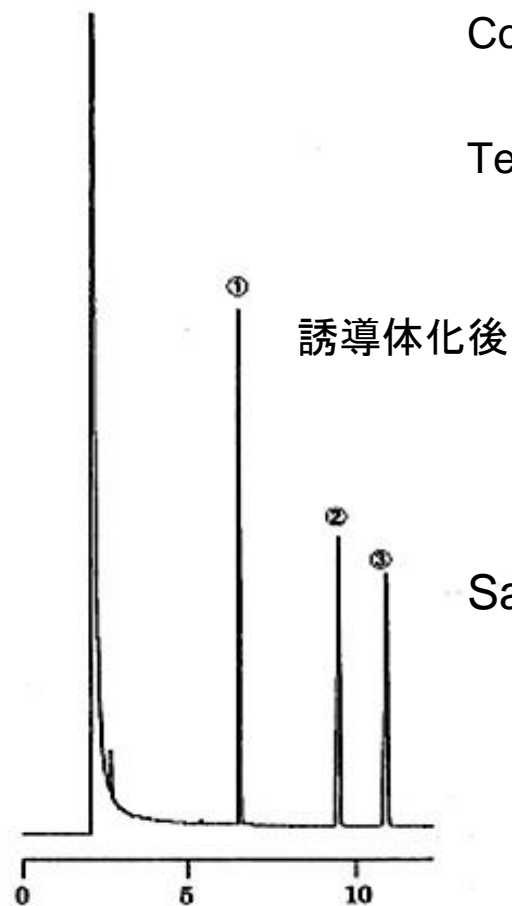
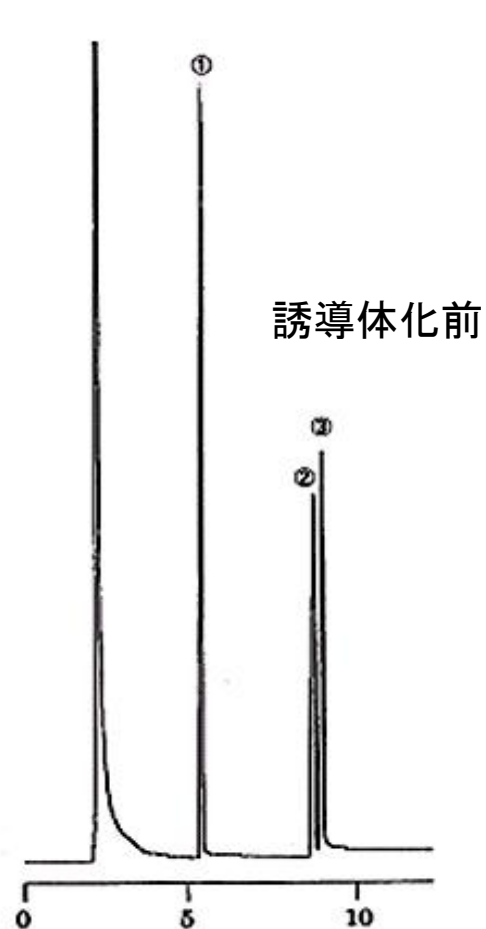




誘導体化方法(TMS化)



フェニルフェノールのTMS化



Column : 007-1(Dimethylpolysiloxane)
(30m x 0.25mmI.D., 0.25 μ m)
Temperature: 180 $^{\circ}$ C

Sample : 1. 2-フェニルフェノール
2. 3-フェニルフェノール
3. 4-フェニルフェノール



シリル化のしやすさ

アルコール > フェノール > カルボン酸 >
アミン > アミド

アルコール 1級 > 2級 > 3級

アミン 1級 > 2級



TMS化剤の強さ

TMSI > BSTFA > BSA > MSTFA > TMSDMA
> TMSDEA > MSTA > TMCS > HMDS

TMSI = N-Trimethylsilylimidazole

BSTFA = N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide

BSA = N,O-Bis(trimethylsilyl)acetamide

MSTFA = N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide

TMSDMA = Trimethylsildimethylamine

TMSDEA = Trimethylsildiethylamine

MSTA = N-Trimethylsilyl-N-methylacetamide

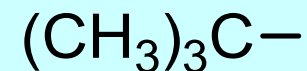
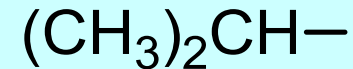
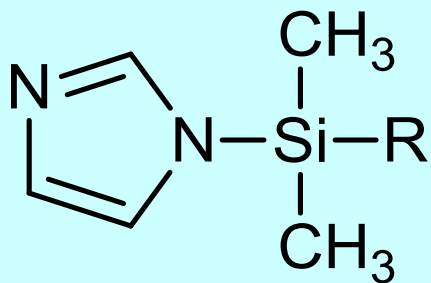
TMCS = Trimethylchlorosilane

HMDS = Hexamethyldisilazane



ジメチルアルキルシリル イミダゾール(DMASI)種類

1. ジメチルエチルシリルイミダゾール(DMESI)
2. ジメチルイソプロピルシリルイミダゾール(DMIPSI)
3. ジメチル-*tert*-ブチルシリルイミダゾール(DMTBSI)

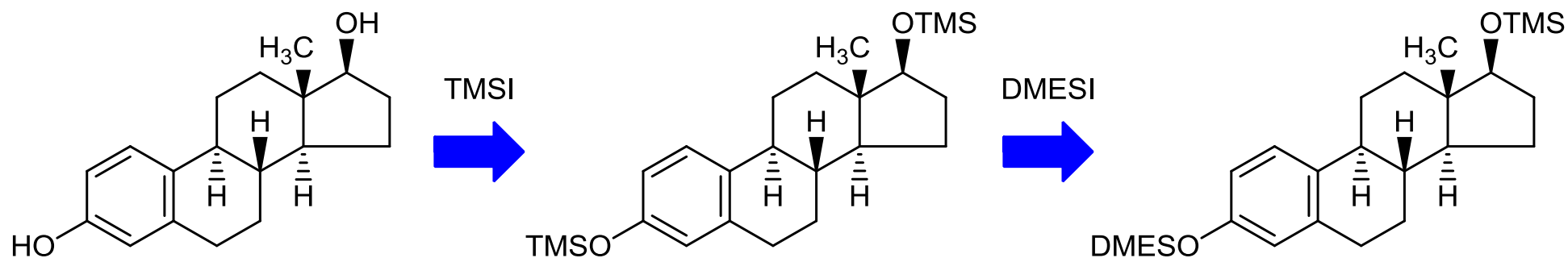




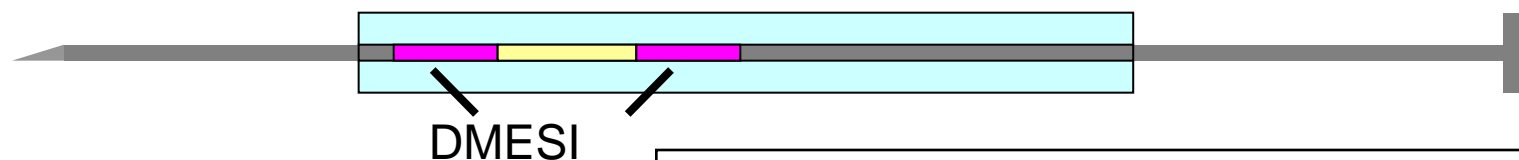
DMASIの特長

1. GCでの分離が良くなる。
2. MSによる分子量の推定が容易になり、SIMでの検出感度が増す。
3. 構造未知な水酸化ステロイドの水酸基数が、GC分析だけでわかる。
4. フェノール性水酸基と、アルコール性水酸基の弁別が容易にわかる。

β-エストラジオールのTMS-DMES



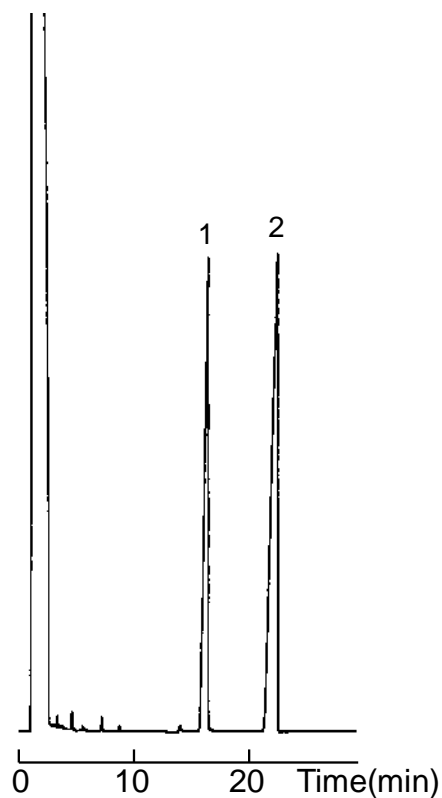
サンドイッチ注入法



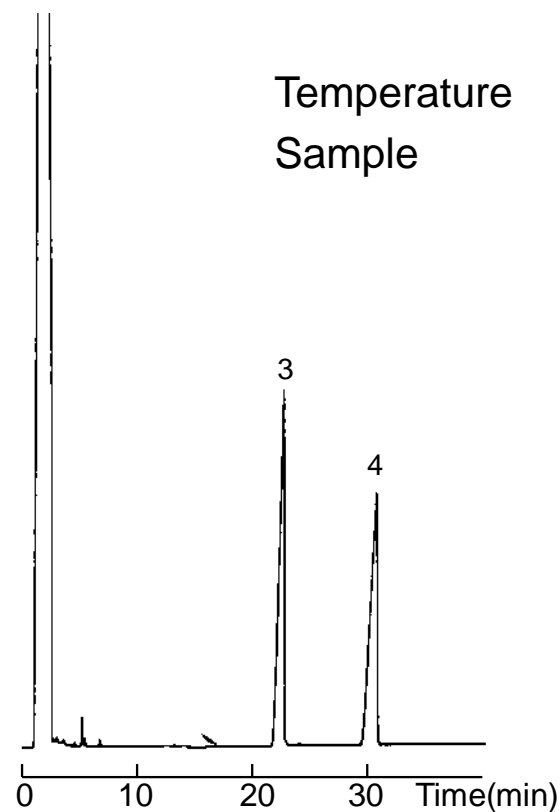
DMESI		0.2 μ L
β -エストラジオール	TMS体	0.1 μ L
DMESI		0.2 μ L

分析例 β -エストラジオール

Column : 007-1(Dimethylpolysiloxane)
25m x 0.25mm I.D. x 0.25 μ m
Temperature : 250 $^{\circ}$ C
Sample : 1. Bis TMS Ether
2. 3-O-DMES-17-O-TMS
3. 3-O-TMS-17-O-DMES
4. Bis DMES Ether



TMS→**DMES**



DMES→**TMS**

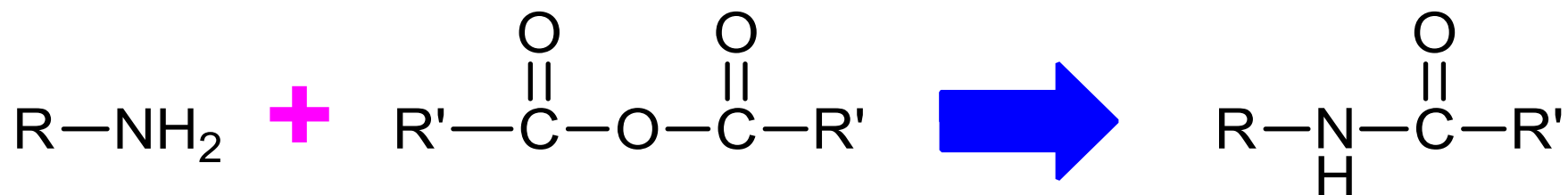


TMS試薬の注意事項

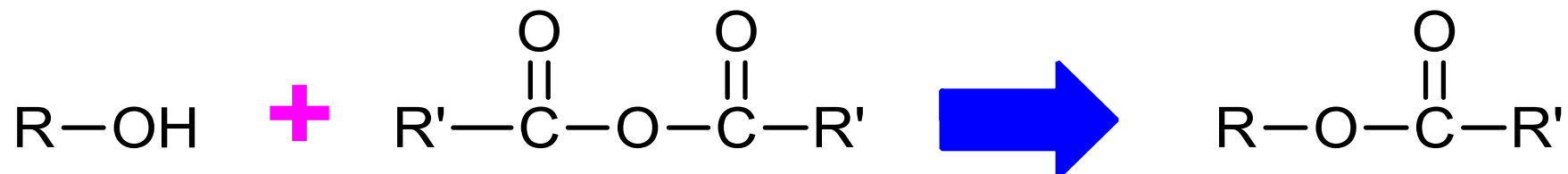
1. 湿気を避けて、密栓し乾燥冷暗所に保管する。
2. 皮膚、目、口粘膜との接触を避け、蒸気を吸わない。
3. 火気厳禁。
4. バイアルビンから試薬を取り出す場合は、乾燥した注射器等でとる。
5. バイアルビンのパッキンにはテフロン張りのゴムを使用しているので、一度注射器を突き刺した場合は、なるべく早く使い切る。

アシル化とは？

アミン

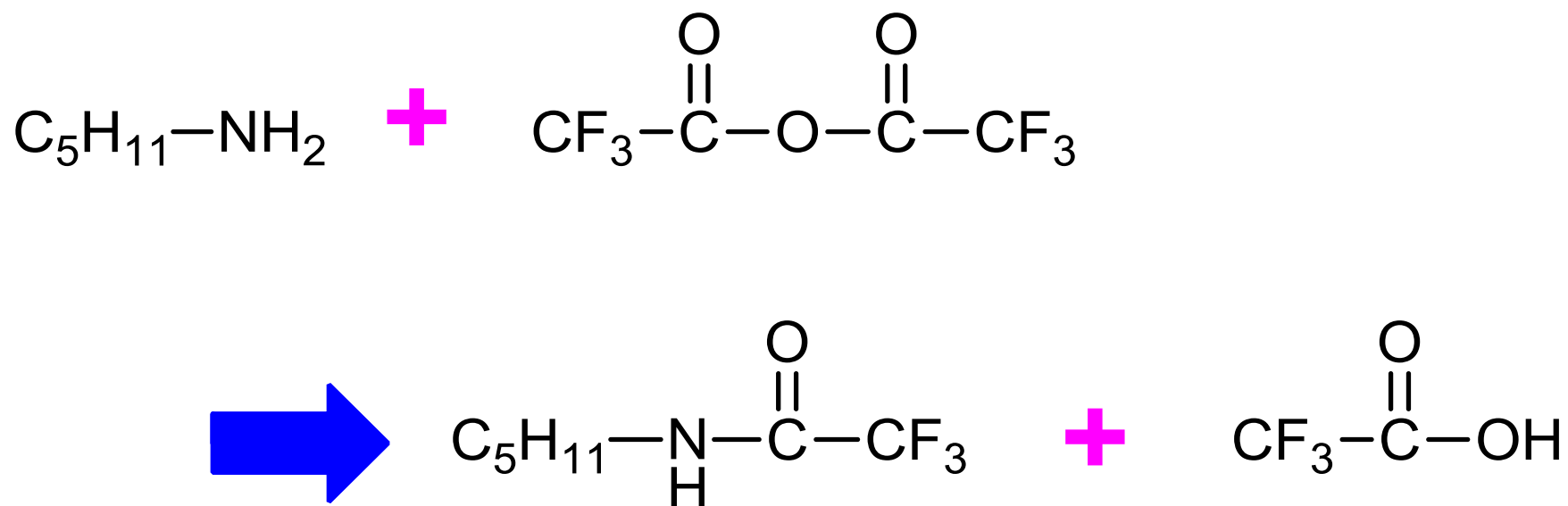


アルコール

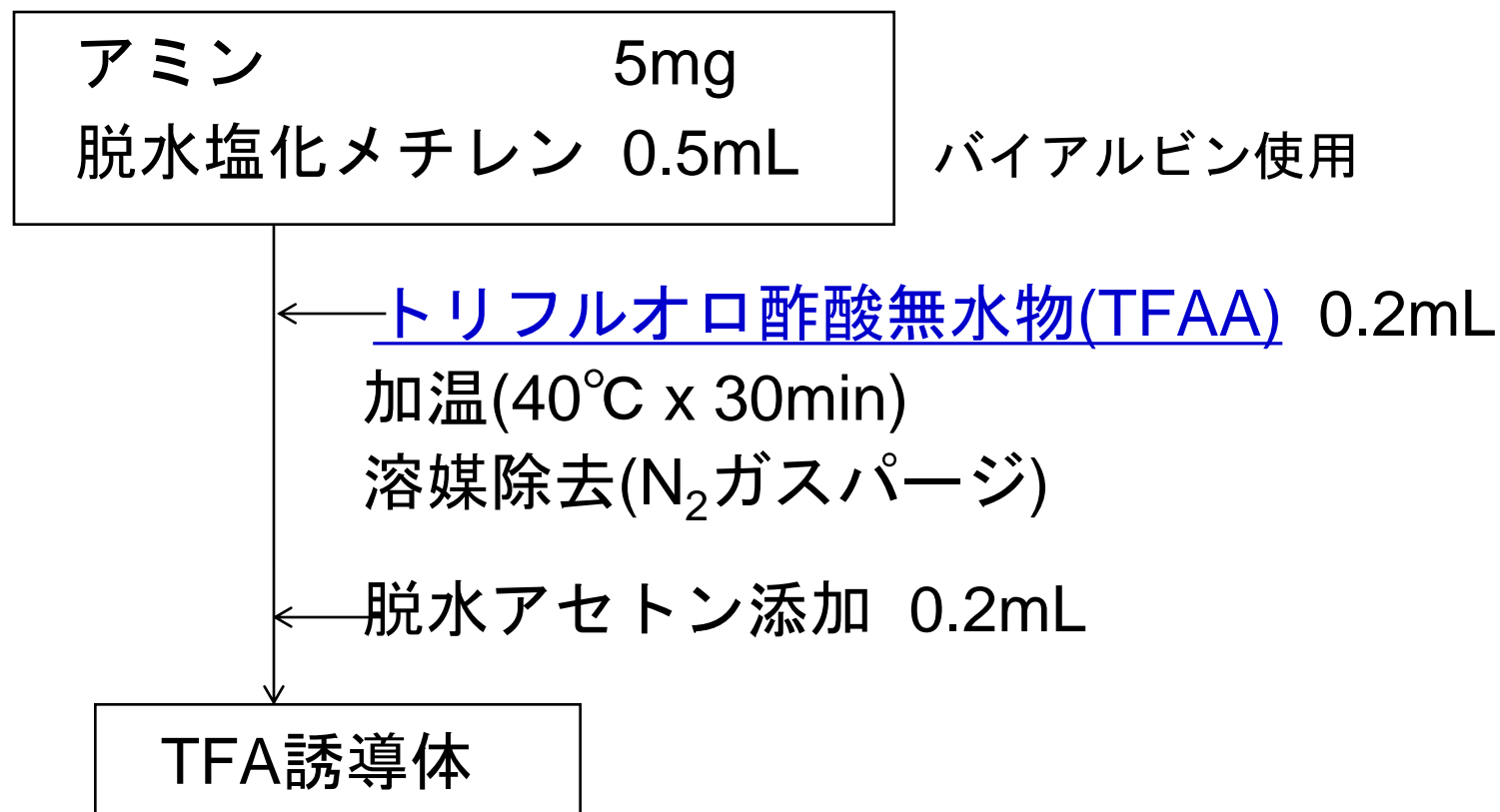




トリフルオロアセチル化反応



誘導体化方法(TFA化)

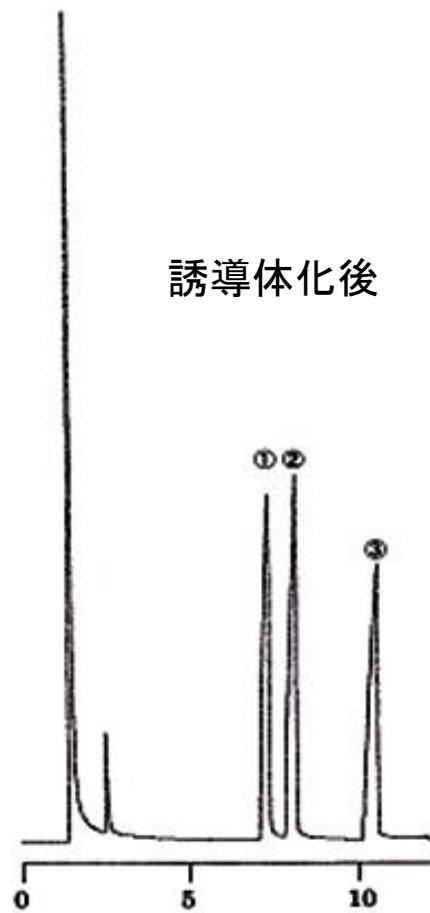
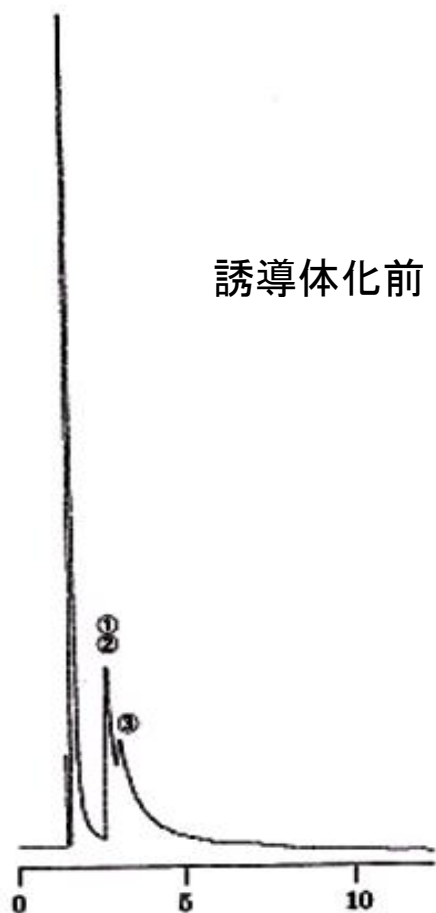


アミルアミンのTFA化

Column : 007-1(Dimethylpolysiloxane)
(30m x 0.25mmI.D., 0.25 μ m)

Temperature : 60°C

Sample : 1. 2-メチルブチルアミン
2. 3-メチルブチルアミン
3. *n*-アミルアミン





光学異性体分離

ジアステレオマー法



直接分離法(光学活性固定相使用)

水素結合型

キラル金属錯体型

シクロデキストリン誘導体型



検出感度の向上

MS用試薬

ジメチルアルキルシリルイミダゾール

標識化合物

d_9 -TMCS, d_{18} -BSA, d_{18} -BSTFA, d_9 -TMSIM

ECD用試薬

含フッ素化合物

[TFAA](#), [PFPA](#), [HFBA](#)

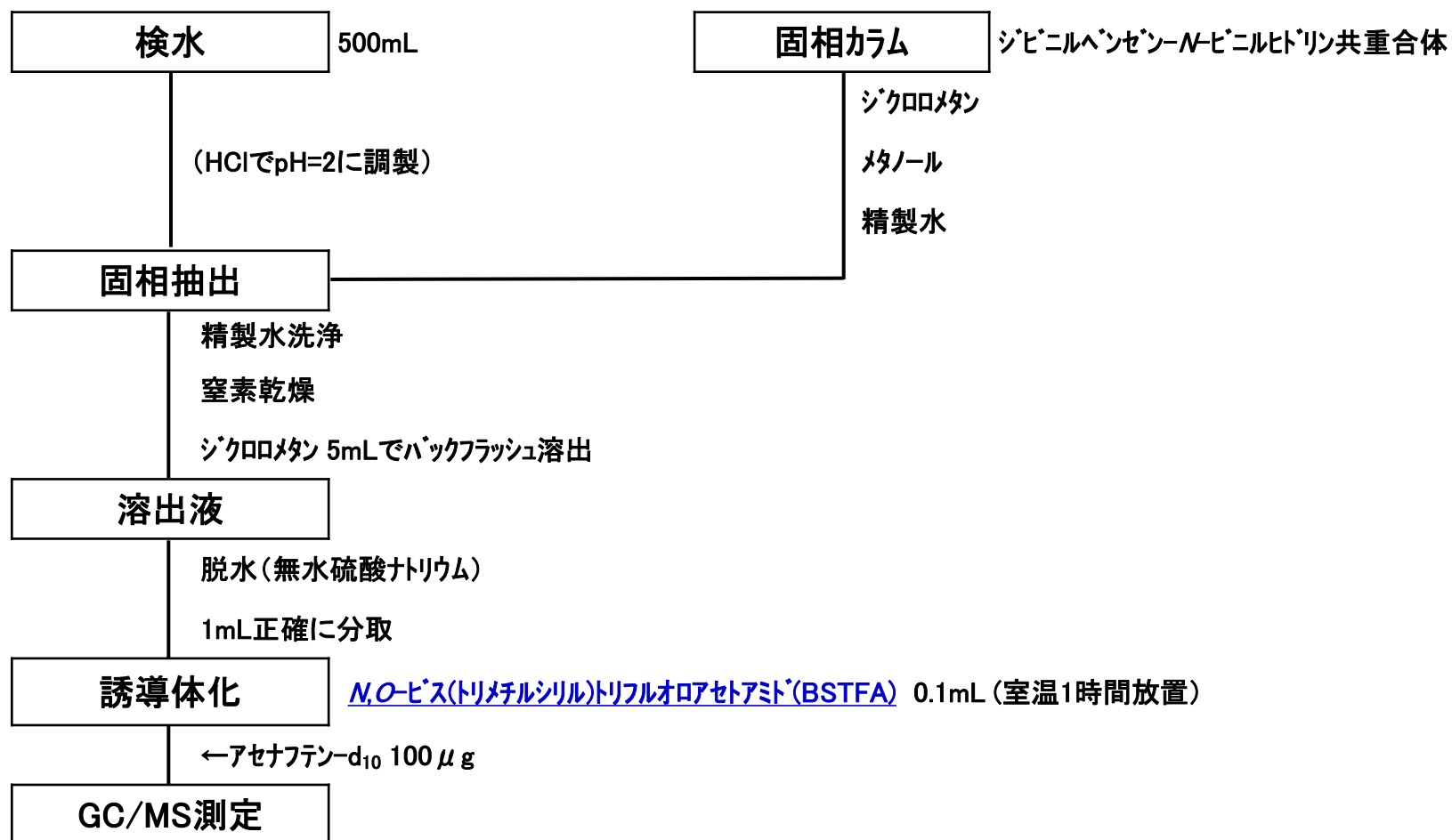


新水道法

(平成16年4月より施行)

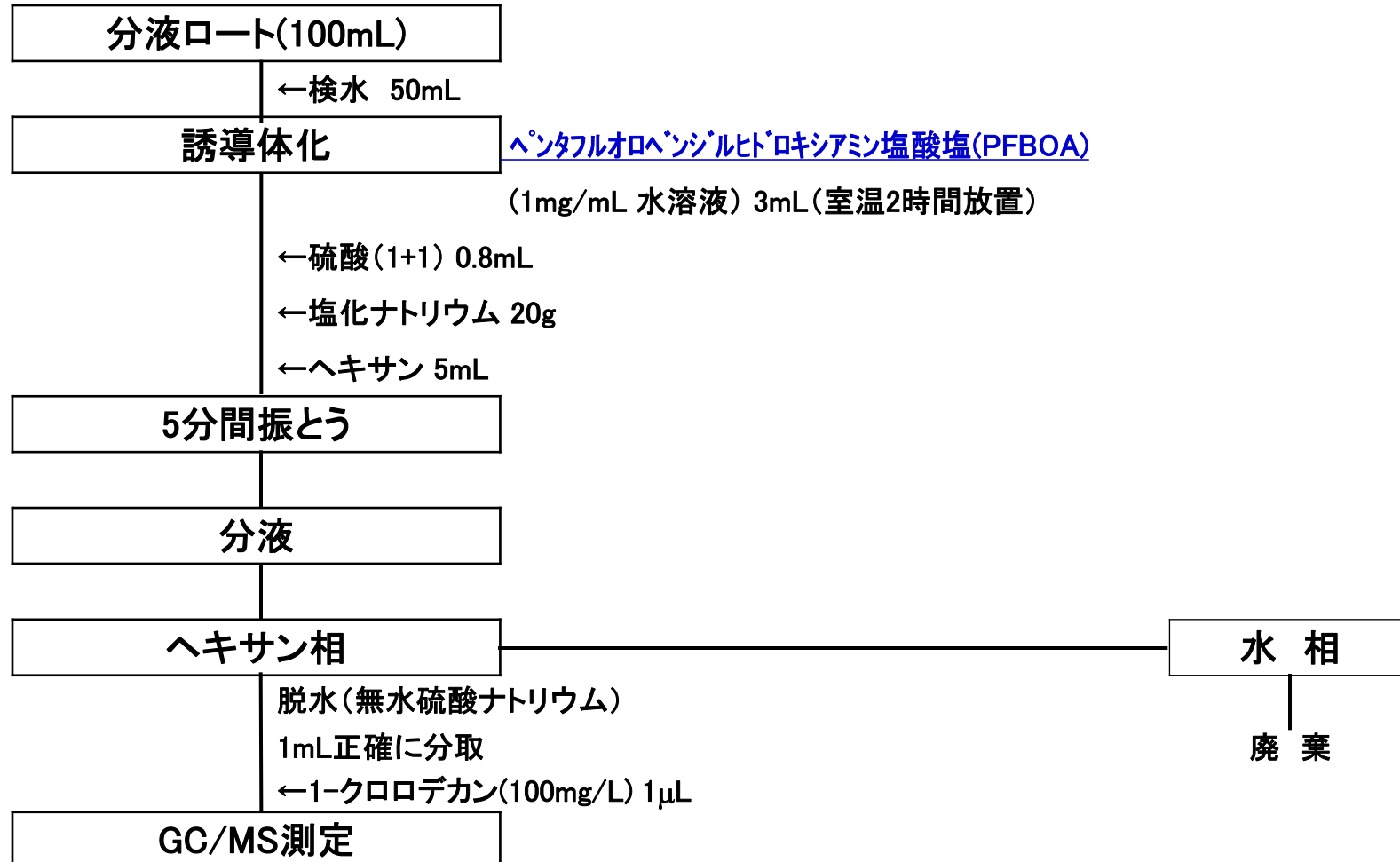
	フェノール類	ホルムアルデヒド	ハロ酢酸類
分析方法	固相抽出- 誘導体化-GC/MS	誘導体化- 溶媒抽出-GC/MS	溶媒抽出- 誘導体化-GC/MS
種類	フェノール 2-クロロフェノール 4-クロロフェノール 2,4-ジクロロフェノール 2,6-ジクロロフェノール 2,4,6-トリクロロフェノール	ホルムアルデヒド	クロロ酢酸 ジクロロ酢酸 トリクロロ酢酸
基準値	0.005mg/L (フェノールに換算して)	0.08mg/L	クロロ酢酸 0.02mg/L ジクロロ酢酸 0.04mg/L トリクロロ酢酸 0.20mg/L
使用試薬	<u>N,O-ビス(トリメチルシリル)トリフルオロ アセトアミド(BSTFA)</u>	<u>ペンタフルオロベンジルヒドロキシ アミン塩酸塩(PFBOA)</u>	<u>ジアゾメタン (CH₂N₂)</u>

フェノール類の分析法

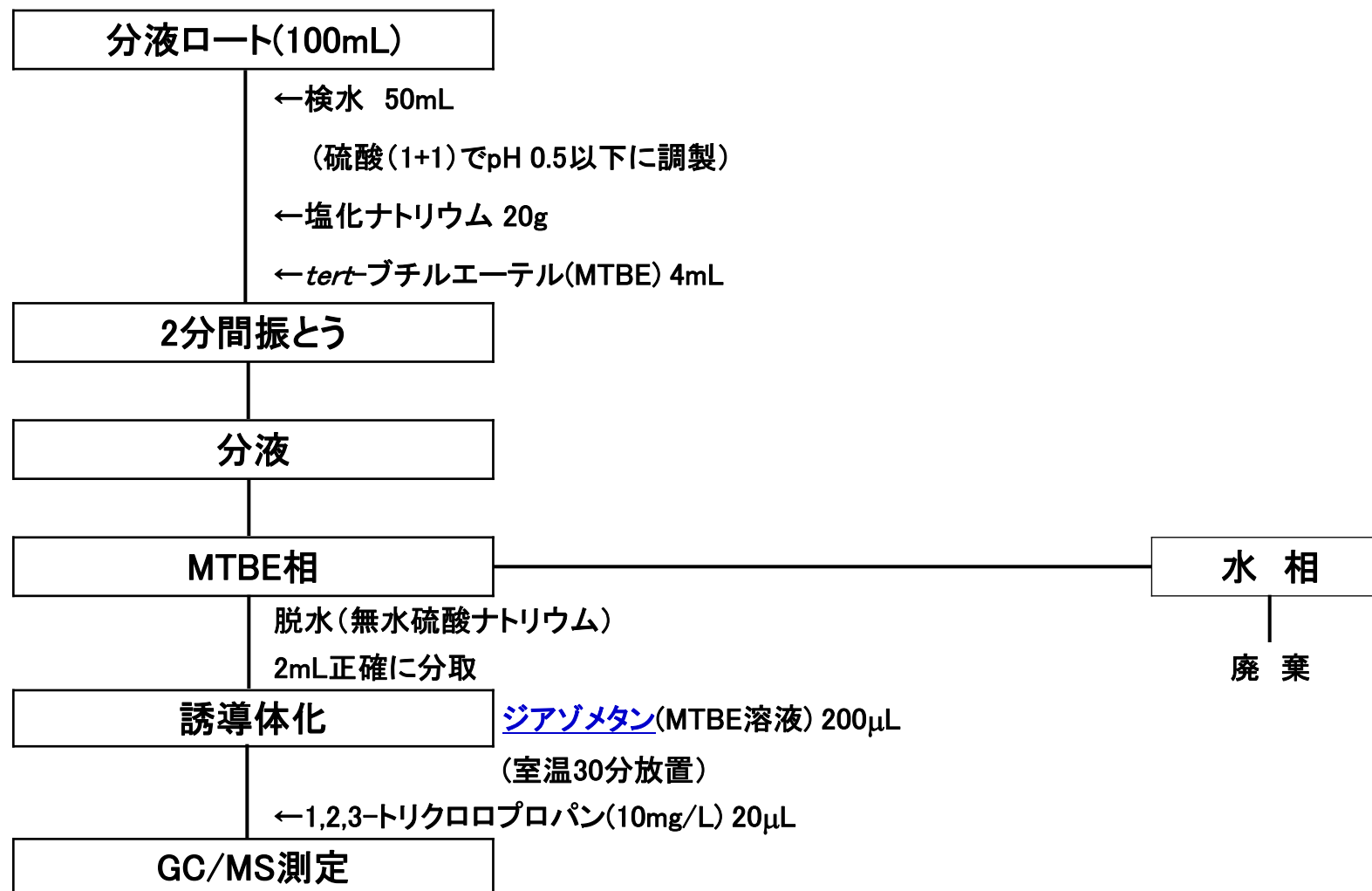




ホルムアルデヒドの分析法



ハロ酢酸の分析法





官能基による誘導体化

官能基	対象物	誘導体化	品名	特長	記載ページ*
水酸基	アルコール	TMS化	A5601 B0511 BSA	非常によく使用される	4 12
	アルコール ステロイド	TMS化	A5603 B0830 BSTFA	BSAより強力	5 13
	アルコール, 糖	TMS化	A5604 T0274 TMS-HT	非常によく使用される	5 10
	ステロイド	TMS化	A5605 T0585 SIM	シリル化剤の中で最も強力	5 16
	糖水溶液	TMS化	T0623 TMS-PZ	水溶液に有効	17
	アルコール	アシル化	T0433 TFAA	無水酢酸よりECD感度高い	9
カルボキシル基	脂肪酸	TMS化	A5603 B0830 BSTFA	BSAより強力	5 13
	脂肪酸	TMS化	A5605 T0585 SIM	シリル化剤の中で最も強力	5 16
	脂肪酸	エステル化	X0041 HCl-Methanol	非常によく使用される	25
	脂肪酸	エステル化	T0323 Diazomethane	非常によく使用される	35
	脂肪酸	エステル化	T1146 TMS-Diazomethane	爆発性や毒性無し	34
アミノ基	アミン, アミノ酸	TMS化	A5601 B0511 BSA	非常によく使用される	4 12
	アミン, アミノ酸	アシル化	T0433 TFAA	無水酢酸よりECD感度高い	9
	アミン, アミノ酸	シリル化	B1150 MTBSTFA	GC-MS感度高い	20
メルカプト基		シリル化	B1150 MTBSTFA	GC-MS感度高い	20

* 弊社発行「[GC前処理試薬](#)」中の掲載ページです。



TCI試薬前処理分類

試薬	使用割合	特 徴
TMS-BA	60%	25% BSA(アセトニトリル溶液) もっとも多用されている TMS-HTより反応性弱い カルボン酸・ジカルボン酸には良い(沸点の高いもの)
TMS-HT	27%	HMDS+TMCS(ピリジン溶液) TMS-BAより反応性強くカルボン酸との反応物を加水分解する場合がある アルコール性水酸基・フェノール性水酸基
TMS-PZ	3%	糖類(特に含水)に良い
BSTFA	2%	BSAに比べて、反応性強く副生成物の揮発性が高い アミノ酸は難しい
ジアゾメタン	7%	直鎖カルボン酸のメチルエステル化に良い(沸点の低いもの) 前処理剤がGCに現れない
TFAA	1%	無水酢酸に比べて、副生成物の揮発性が高い キラル分離に特に有効