The reagents were found to form color compounds with nickel(II), copper(II), cobalt(II) and silver(I), but they gave only weak colors with mercury(II), lead(II), zinc(II), iron(II) and cadmium(II).

The reagents formed the 1:1 and the 1:2 chelates (nickel:reagent) with nickel and the formation constants of the chelate with 3,4,5 and 3,4,6-TMT in 50 v/v% aqueous dioxane were found to be 8.82 ± 0.01 and 9.27 ± 0.02 for the 1:1 chelate and 8.55 ± 0.06 and 9.01 ± 0.09 for the 1:2 chelate, respectively.

Formation constants for the 1:1 nickel chelates were about 1.5 units lower than the values expected from the pK_{a_2} vs. $\log K_1$ relation of the 1:1 metal chelates as shown in Fig. 5. The results seem to indicate that TAC analogues substituted in the three position on the phenyl rings give less stable chelates than does other derivatives because of the steric hindrance to the chelate formation caused by the methyl group at three position on the phenyl rings.

The distribution coefficients of these reagents between aqueous and benzene at 30°C were determined spectro-

photometrically. Distribution coefficients of the reagents, $\log K_{DR}$, were 5.30 ± 0.03 for 3,4,5-TMT and 5.38 ± 0.04 for 3,4,6-TMT.

The extraction of nickel chelates into benzene was investigated by keeping the ionic strength 0.1 M with sodium perchlorate at 30°C. The absorption spectra of the chelates at various concentrations of hydrogen ion and of nickel ion in the aqueous phase were measured. It was found that only one species of the chelate was formed. The following results were obtained through the analysis of the relationships between the distribution ratio of nickel chelate and the hydrogen ion concentration of the aqueous phase or the reagent concentration in benzene; two reagent molecules are involved in chelation and two protons are released on chelation which indicates the formation of the 1:2 neutral chelate.

Logarithmic extraction constants of nickel chelates of 3,4,5-TMT and 3,4,6-TMT are found to be -8.15 ± 0.16 and -7.96 ± 0.09 , respectively.

(Received Dec. 1, 1972)

ポリスチレン系強塩基性陰イオン交換樹脂カラムにおける 飽和脂肪酸の挙動*

江 頭 暁**

(1972 年 12 月 9 日受理)

ポリスチレン系第4アンモニウム型強陰イオン交換樹脂(塩化物形)を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行なう場合の、低、中級飽和脂肪酸の挙動について研究した。その結果、ギ酸を除いては一般に炭素数の多いものほどおそく溶出し、また側鎖のあるものは同じ炭素数の直鎖のものより早く溶出することがわかった。このことから、ごく低級の酸を除いては主として hydrophobic effect が支配的であるものと考えられ、また交換樹脂が電荷を有するにもかかわらず、水に比べるとかなり低い極性の溶媒として挙動することがわかった。

なお、高級の酸では吸着帯の拡散が著しくなり、直鎖のものでは、架橋度 8% の樹脂の場合、炭素数 5, 2% の樹脂では炭素数 8 あたりが実用上の限界であることがわかった。

1 緒 言

有機化合物の構造と、そのクロマトグラフィーに際しての挙動との関係がどうなっているかということは、研究者にとって最も関心のある問題の一つであり、従来も

この種の研究報告は決して少なくない。しかし、液体クロマトグラフィー、特にイオン交換クロマトグラフィーの場合は、脂肪族カルボン酸のような簡単な化合物の検出が困難なためもあって、現在までのところ、系統的な研究はあまり見あたらないようである。著者はさきに指示薬の発色を利用した弱酸類の検出法を考案し、定性的にはほぼ実用の域に達したので¹⁾、これを用いて低級脂肪酸を中心とした有機酸のポリスチレン系強塩基性陰

* 有機酸のイオン交換クロマトグラフィー (第5報)。
前報は江頭 暁：本誌，17，958 (1968)

** 愛媛大学教養部：愛媛県松山市文京町 3-1

イオン交換樹脂 (Dowex 1X8, または X2) のカラムにおける挙動を調べた。

2 実 験

2.2 装 置

既報¹⁾の方法により、発色させた溶出液を日立 034 形自動液体クロマトグラフにより、590 nm で測定、自動記録させた。

2.2 クロマトグラフカラム

ポリスチレン系第4アンモニウム形強塩基性陰イオン交換樹脂 Dowex 1X8, Cl 形 (200~400 mesh), または Dowex 1X2, Cl 形 (200~400 mesh) を内径 1.1 cm (断面積 1 cm²) の外とう管付きクロマトグラフ管に湿式法で 10 cm の高さに充てんした。ただし、X8 の樹脂の場合は充てんに際し、蒸留水を用いたが、X2 の樹脂の場合は 0.2M 食塩水を用いて膨潤を防ぐ必要があった。樹脂の精製は既報²⁾に従った。

2.3 pH 調節カラム (緩衝剤除去カラム)

溶離液 (a) の場合は既報¹⁾のとおり、カルボン酸形弱酸性陽イオン交換樹脂 Amberlite XE-64 の Na 形を用いた。溶離液 (b) の場合は、その後、下半分に Amberlite XE-64 を pH 6.0 に調節したもの、上半分を同樹脂の H 形を重ねて充てんするとよい結果が得られたので利用した。なお、その他の点については既報¹⁾に従った。

2.4 溶離液

(a) 0.2M Cl⁻ (pH 2.0) : 2M 塩化ナトリウム溶液 95 ml に 0.1N 塩酸 100 ml を加え、水を加えて 1 l にした。これに少量の 0.2N 塩酸を添加し、pH メーターで正確に pH 2.0 に調節した。

(b) 0.2M Cl⁻ (pH 12) : 2M 塩化ナトリウム溶液 100 ml に 0.1N 水酸化ナトリウム溶液 100 ml を加え、水を加えて 1 l にした。

2.5 試 料

ナトリウム塩あるいはカリウム塩の形で市販されているものは、これをそのまま 0.01M の水溶液として用いた。

塩の形のものが入手できないものは、いったん必要量の半量程度の水に溶かしておき、フェノールフタレイン指示薬を添加し、液がわずかに赤色を呈するまで 0.1N 水酸化ナトリウム溶液を加えてから所要の液量に定容にした。ただし、炭素数 6 以上の酸の場合は水に対する溶解度が小さいので、定容にすべき液量の 1/10 量程度のイソプロピルアルコールに溶かしておき、これに水酸化ナトリウム溶液を添加して上と同様に中和後、水で希釈して定容にした。

2.6 操 作

本実験ではクロマトグラフカラムの下に pH 調節カラ

ムが接続されているため、クロマトグラフカラムの保持容積を求めるためには、溶出曲線のピークの位置までの溶出液量から pH 調節カラムの保持容積を差し引く必要がある。したがって、下記のような操作により実験を行った。

クロマトグラフカラムには、常法のように、上記試料溶液 0.5~2.0 ml を添加し、液面が樹脂層上端面に一致するまで液を流下させたのち、1 ml 内外の水で管壁を洗い、これも流下させる。それから、カラム下端のcock を閉じ、樹脂層上に 2~3 ml の溶離液を満たしてから、カラム上部のせんをして溶離供給管を接続する。

次に pH 調節カラムを取りはずし、樹脂層上に少量 (0.1~0.2 ml) の試料溶液を添加し、ただちにふたたびこれを取り付ける。この場合は、試料溶液が樹脂層になるべくしみ込まないように手早く操作し、また水洗や溶離液の添加も行なわない。

これらの準備が終わったのち、クロマトグラフカラム下端のcockを開き、溶離液および発色試薬のポンプ、および記録計の紙送り装置を起動させる。

2.7 保持容積の測定

上記のように操作すると、一般に Fig. 1 のようなクロマトグラムが得られる。溶出液量 7~10 ml のところにあるピークは pH 調節カラムによる保持容積を表わしているから、このピークと第 2 のピークとの間隔を溶出液量の単位で測ることにより、クロマトグラフカラムの保持容積を得た。

Fig. 1 Determination of retention volume

- (a) Retention volume on the pH control column;
(b) Retention volume on the chromatographic column

3 結 果

上記の実験の結果得られた保持容積の値を Table I,

II に示す。また、これより計算した χ_0 , χ_1 の値 ($[Cl^-] = 1$ の場合の保持容積に相当²⁾) を Table III に示す。

Table I~III に示すように、ギ酸を除いては、一般に炭素数の多いものほど溶出がおそくなる。また、同じ炭素数の場合、側鎖のあるものは直鎖のものに比べて早く溶出することがわかった。

交換樹脂の架橋度の影響をみるため、架橋度 8% の樹脂 (Dowex 1X8) と、架橋度 2% の樹脂 (Dowex 1X2)

Table I Retention volume of fatty acids on the Dowex 1X8 column (1.1×10cm)

Acids	Retention volume (ml)	
	0.2M Cl ⁻ , pH 2.0	0.2M Cl ⁻ , pH 12
Formic	14.3	23.3
Acetic	11.4	16.2
Propionic	18.8	19.9
<i>n</i> -Butyric	34.8	26.4
Isobutyric	34.0	24.0
<i>n</i> -Valeric	75.5	48.0
Isovaleric	57.8	35.4
2-Methylbutyric	59	32.1
2,2-Dimethylpropionic	55	36.4
Hexanoic	229	116
Heptanoic		249

Table II Retention volume of fatty acids on the Dowex 1X2 column (1.1×10cm)

Acids	Retention volume (ml)	
	0.2M Cl ⁻ , pH 2.0	0.2M Cl ⁻ , pH 12
Formic	12.5	21.4
Acetic	12.3	18.9
Propionic	13.3	21.1
<i>n</i> -Butyric	16.5	23.6
<i>n</i> -Valeric	22.5	30.1
Hexanoic	34.5	42.8
Heptanoic	64.6	70.0
Octanoic	126	126

Table III χ values of fatty acids

Acids	Dowex 1X8		Dowex 1X2	
	χ_0	χ_1	χ_0	χ_1
Formic	1.32	0.40	0.94	0.37
Acetic	0.83	0.26	0.92	0.32
Propionic	1.37	0.34	1.02	0.36
<i>n</i> -Butyric	3.2	0.47	1.34	0.41
Isobutyric	3.1	0.42		
<i>n</i> -Valeric	7.2	0.90	1.94	0.54
Isovaleric	5.5	0.65		
2-Methylbutyric	5.6	0.58		
2,2-Dimethylpropionic	5.2	0.67		
Hexanoic	22.6	2.3	3.2	0.80
Heptanoic			6.2	1.34
Octanoic			12.3	2.5

を用いたが、後者は低級の酸に対しては選択性が低いが、炭素数の多い酸の場合には前者に比べて溶出が著しく容易であった。前者が炭素数 5 (0.2M Cl⁻, pH 2.0 の場合) あるいは炭素数 6 (0.2M Cl⁻, pH 12 の場合) が実用上の限界であったのに対して、後者を用いた場合には炭素数 8 (pH 2.0 および 12 の両系とも) まです良好なクロマトグラムが得られた。

また注目すべき点は、非解離状態の酸がイオンの場合と変わらないくらいに強い吸着性を示すことである。非解離状態の酸の吸着性は、塩素イオン濃度 0.2M の場合の同じ酸の解離したイオンのそれとほぼ同等であることがわかった。

4 考 察

4.1 化学構造と保持容積の関係

無機イオンのイオン交換樹脂に対する挙動については、一般に水和イオン半径が重要な意味を持つといわれている。しかし、有機化合物の分子またはイオンは、その構造の中に、親水性部分と疎水性部分があるため、事情が少し複雑になってくる。また芳香族化合物などでは、吸着される分子またはイオンと交換樹脂との間に特殊な電子的相互作用が考えられ、さらに問題はこみいてくるようである。

脂肪酸同族体の場合は、その分子またはイオンは一つの共通な親水性部分と、いろいろ大きさや形の異なった疎水性部分とからなりたっている。親水性部分はカルボキシル基またはそのイオンであり、この部分は水素結合によって水分子と結合しており、さらにイオン状態のもの場合はイオン-双極子結合的な力がこれに加わっていると考えられる。この部分は共通のものであるゆえ、その水和イオン半径あるいは水和分子半径は酸の種類によらず等しいと考えてよいことになる。したがって、これら脂肪酸のイオン交換樹脂に対する吸着性の違いは、もっぱら疎水性部分の構造の違いによるものと考えねばならない。

この疎水性部分は、脂肪酸の場合、本来ファン・デル・ワールス力以外の結合能力はまったくないと考えてよいであろう。しかし、上記の実験では移動相として水溶液を用いているので、水分子相互間の水素結合による凝集力の反作用としての hydrophobic effect を考えねばならない。hydrophobic effect の大きさは分子の疎水性部分が大きくなるほど大きくなるはずであるが、単に炭素数だけで決まるものではなくて、側鎖の付き方といったことも関係してくるものと考えられる。なお、活性メチル基あるいは活性メチレン基のようなものは、む

しろ親水性部分として考える必要があるかもしれない。

上の実験結果では、だいたい疎水性部分の大きい酸ほどおそく溶出している。このような傾向はすでにアミノ酸などでもよく知られた事実であるが、これは交換樹脂が電荷を持っているにもかかわらず、水に比べると、なお極性の小さい媒質であることを示している。これはまた、非解離状態の脂肪酸が交換樹脂によく吸着することからもうかがわれる。

ギ酸だけは少し例外的な挙動を示すが、これはその特殊な構造のために水和イオン半径が小さいことが考えられる。同様なことが、ジカルボン酸の場合に、シュウ酸についても認められる。

側鎖のあるカルボン酸は一般に同炭素数の直鎖のものより早く溶出するが、側鎖の位置との関係はきわめて微妙である。 α 位のメチル基は水和イオン半径に影響する可能性も考えられる。

イオン交換樹脂は分子ふるいとしても作用するはずであるが、今のところ、それとはっきり確認できるような事例には遭遇していない。すなわち、長鎖の酸で保持容積が頭打ちになるような傾向は、今までの実験の範囲では認められない。ゲルパーミエーションクロマトグラフィーにおいて、架橋度8%の場合、浸透限界は分子量にして約1000といわれているから、ここで扱った酸の範囲ではその影響はまだあまり顕著に現われてこないものと考えられる。水和イオン半径の違いによる選択吸着の現象は、一種の分子ふるい効果と考えられるが、これと疎水性分子のそれとをどのように関連づけるべきかということは今後の問題であろう。

4.2 イオン交換樹脂の架橋度の影響

イオン交換樹脂として架橋度8%のものをを用いた場合と架橋度2%のものをを用いた場合の違いについては前に述べたが、これは次のような理由から、主として樹脂の膨潤度の違いによるもののようである。Table IV に示したように、これらの樹脂は乾燥重量あたりの交換容量には大きな違いはない。しかし、使用状態における含水量には大きな違いが認められ、これらを用いて同じ容積のカラムを作った場合、Dowex 1X2 のほうは Dowex 1X8 のおよそ半分の交換容量しか持たないようになる。

しかし、実験結果に現われた両者の違いはこれだけで説明できるものではない。特に、pH 2.0 における実験結果は、当然交換容量とはあまり関係がないはずで、これは、むしろ樹脂相の固定相溶媒（分配クロマトグラフィーと考えて）としての性質の相違によるものと考えねばならない。すなわち、架橋度2%の樹脂は8%の樹

Table IV Fundamental characteristics of resins

	Dowex 1X8 (200~400 mesh) chloride form	Dowex 1X2 (200~400 mesh) chloride form
article size (wet, μm)	50~110	70~150
Water content (% of wet wt.)	45	75
Bed volume per dry weight (ml/g)	2.3	6.0
Density (wet, g/cm ³)	1.08	1.06
Interstitial volume (ml/ml)	0.31	0.38
Exchange capacity (meq/g(dry))	3.4	4.0
Exchange capacity per bed volume (meq/ml)	1.5	0.7

脂に比べて、その含水量が格段に大きいため、それだけ親水的であるわけで、したがってそれだけ移動相である水に性質が近いことになり、これが分配係数あるいは λ 値の低下となって現われるものと考えられる。pH 12の系では、もちろん、イオン交換吸着が重要な意味を持っており、交換容量が小さいことはただちに λ 値の小さいことにつながるわけであるが、やはりこれに加えて hydrophobic effect の低下の影響は無視できないように思われる。

Dowex 1X8 を用いた場合、中級以上の脂肪酸の溶出はきわめて困難であるが、Dowex 1X2 を用いた場合は炭素数8の酸でもじゅうぶんきれいな溶出曲線を与える。現在のところ、pH 調節カラムによる異常吸着があるため、これ以上の中、高級脂肪酸のクロマトグラフィーには成功していないが、検出方法に適當なものがあればさらに炭素数の多いものを扱うことも可能と思われる。ただ低級の酸の場合、選択性の低下のため、じゅうぶんな分離が得られないことがあるので、適當な使い分けが必要であろう。

4.3 保持容積の再現性

Table V に示したように、市販の交換樹脂はそのロットによって若干性能が異なっており、またカラムを見かけの容積を基準にして充てんする関係で、充てん量に多少の誤差がはいってくるので、各成分の保持容積にばらつきを生ずる。Table V の最下行に標準偏差の値を示したが、酸の塩基度および吸着機構の違いによって、影響の受け方が異なっているのが見られる。樹脂の充てんのぐあいによる誤差は、見かけの容積の代わりに湿潤重量あるいは乾燥重量などのより正確な基準を用いれば改善することが可能であるが、適當な基準物質を一定条件下で溶出して保持容積を測定し、樹脂自身の性能の違い

Table V Reproducibility of retention volume

Lot number of resin (arbitrary)	Exchange capacity of resin {meq/g(dry)}	Water content (% of wet wt.)	Exchange capacity of column (meq)	Retention volume (ml)			
				Acetic acid		Succinic acid	
				pH 2.0	pH 12	pH 2.0	pH 12
1	3.34	47.7	13.9	12.6	16.5	24.0	42.7
2	3.46	45.1	14.2	12.4	16.1	23.3	41.6
3	3.49	45.1	13.5	11.5	14.6	20.7	37.6
4	3.41	45.0	14.9	12.3	15.9	24.2	41.1
5	3.53	33.8	16.7	11.9	13.7	24.9	33.6
Average	3.45	43.3	14.6	12.1	15.4	23.4	39.3
Standard deviation	0.074	5.5	1.3	0.4	1.2	1.6	3.7
Standard deviation (%)	2.1	12.7	8.9	3.3	7.6	6.9	9.5

Column: Dowex 1X8, (200~400 mesh), chloride form, 1.1 cm × 10 cm (bed volume, 10 ml)

をも含めて補正するのが実用的ではないかと考える。なお、このようなわけで、前述の保持容積や λ の値も、この程度の誤差を含むものと考えられる。

終わりに、本研究に際し実験に協力された後 高雄、長谷川 昭、夜船勝彦の諸氏に感謝の意を表します。

(1965 年 4 月, 日本化学会第 18 年会において一部講演)

文 献

- 1) 江頭 暁：本誌，**15**, 1356 (1966)。
- 2) 江頭 暁，中須賀 仁，武山泰政：同上，**14**, 636 (1965)。

The behavior of saturated fatty acids on the column of polystyrene type strong anion-exchange resin. (Ion-exchange chromatography of organic acids. V.) Satoru EGASHIRA (Faculty of General Education, Ehime University, 3-1, Bunkyo-cho, Matsuyama-shi, Ehime)

The chromatographic behavior of lower and middle fatty acids on the column of polystylenic quaternary ammonium type strong anion-exchange resin was studied. In general, acids of greater carbon number were eluted later except formic acid. Acids which have side chains were eluted earlier than normal chain acids having the same carbon number. These phenomena suggest that hydrophobic effect would be the dominant factor on the selectivity of the adsorption of the resins to saturated fatty acids in either form of dis-

ociated ions or undissociated molecules, except to the very lower members. Hydrophilic parts of the ions or the molecules of the fatty acid homologs were common in structure respectively. Therefore, their selective adsorption on the resins should be due to the difference in the structure of their hydrophobic parts. These also indicated that the ion-exchange resins still behave as a less polar stationary solvent than the water of the mobile phase, in spite of the strong ionic character of their exchange groups.

The anomalous behavior of formic acid would be due to its special structure. It would be presumed that the radius of hydrated ion or molecule of formic acid is smaller than that of acetic acid.

The adsorptive activity of Dowex 1X2 resin to higher members of fatty acids was weaker than Dowex 1X8, so that the acids of carbon number 6~8 were more easily eluted from the column of Dowex 1X2, but they were eluted very slowly and the peaks of the elution curves were diffused extremely on the Dowex 1X8 column. On the other hand, selectivity of Dowex 1X2 for the lower members of acids was rather poor, then it may be desirable that the resins should be chosen for the experimental objects. The acids of carbon number above 9 would also be able to be eluted from the Dowex 1X2 column, but it has not been succeeded yet because of an adsorption of the acids on the pH control column.

The reproducibility of the retention volume was 3~10% as the standard deviation. It depended to a considerable extent on the property of the resins which is different in different lots.

(Received Dec. 9, 1972)