

報 文

GPCによる有機化合物の流出容量と分子サイズ

関 川 義 明, 藤 田 桂 一*

ポアサイズ 25 Å 及び 100 Å の充填ゲルを用いた GPC カラムを使用し、クロロホルムを流出溶媒として、各種有機化合物の流出容量を求め、異種同族体及び直鎖炭化水素と側鎖を有する炭化水素の間の流出容量の関係について検討した。その結果、同族化合物については、いずれも流出容量と分子量の間に直線関係が得られた。異種同族体間の流出容量については、それぞれの同族化合物の流出容量と分子量の関係直線を考えた場合、官能基を持つ脂肪族炭化水素、飽和炭化水素、炭化水素基を持つ芳香族化合物、ポリフェニル、多核芳香環化合物の順に、流出容量が大きくなる方向に並ぶことがわかった。また側鎖化合物の流出容量はその分子容に従った。脂肪酸は同じような分子量を持つ他の化合物に比較して著しく大きな流出容量を示す。これは、脂肪酸の単量体と水素結合した二量体の相互変化が、カラム内で行なわれつつ流出することによるものと考えた。

1 緒 言

GPC による有機化合物の分離は、操作の容易なことと、分離された未知成分の分子サイズを知ることができるという利点から、広範囲に亘る有機化合物の分離分析に活用されるようになってきた。未知試料の分離分析において、分離された構成成分の分子サイズを知ることが、その化合物の化学構造を知るために有用な手がかりとなる。

この分子サイズは流出容量と密接な関連性を持ち、その化合物の分子量や分子構造によってきまってくる。

GPC による未知試料の分析及び有機化合物の分子量と流出容量の関係の一部は本誌 16 号で報告した。¹⁾ また、J. G. Hendrickson, J. G. Moore²⁾ らも多くの有機化合物について流出容量を求めている。筆者らは脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素をはじめ、各種の官能基を持つ脂肪族化合物など数種の同族体を選び、異種同族体間の流出容量と分子量あるいは分子容との関係について基礎的な検討を行なった。これらの結果は、有機化合物の分離分析を行なううえに非常に有用であると思われるので報

告する。

2 装置及び実験

GPC 用液体クロマトグラフは日本分析工業社製 07 型を使用し、カラムは分取サイズのものをを用いた。測定条件は Table1 に示した。試料に供した有機化合物は総て試薬を使用した。

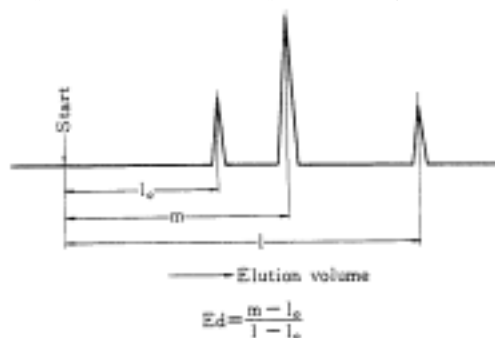
Table1 Experimental condition

Column	JAIGEL		
	2	4	2H
Gel	Crosslinking polystyrene		
Size (mm)	20/600 (4)	20/400 (4)	20/600 (2)
Pore size (Å)	100	25	100
E. V. of ethanol (ml)	503	453	252
E. V. of polystyrene (ml)	220	173	108
Range of M. W.	100—5,000	100—1,000	100—5,000
N. T. P.	800TP/F	800TP/F	4,500TP/F

Solvent : Chloroform 3.1ml/min.
Sample volume : 3.0ml
Sample conc. : 2—5% (W/V)

* 大蔵省関税中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬 531

流出容量は化合物間の比較を容易にするため、相対的な値として次のような E_d 値を採用した。



I_0 : カラム充填剤のゲル孔に入り得ない分子の流出容量 (ml)

I : エチルアルコールの流出容量 (ml), 流出溶剤としてクロロホルムを使用する場合は、安定剤としてエチルアルコールがクロロホルム中に添加されているので、それがチャート上にピークとして記録される。

m : 試料の流出容量 (ml)

3 結果と考察

3・1 有機化合物の E_d 値と分子量

同族体ではいずれの場合も、 E_d 値と分子量の対数値の間に Fig.1 に示すような直線関係が得られた。各同族体ごとの有機化合物の E_d 値は Table2~7 に示した。ベンゼン環を有する化合物の E_d 値直線 (分子量と E_d 値の関係直線) は脂肪族炭化水素よりも E_d 値の大なる側にあり、分子中における芳香環の占める比率の大なるほど E_d 値直線は E_d 値の大なる方向に動いている。ナフタレン、アンスラセン、トリフェニレンのような多核芳香族化合物の間の E_d 値差は極めて小さく、アンスラセンとフェナンスレンではほとんど同じ値を示す。また、これらの同族体の E_d 値直線は、ポリフェニル同族体のものより E_d 値の大なる側にある。

脂肪族アルコール、エステル、ポリエーテルなど、官能基を有する化合物の E_d 値直線は芳香族化合物とは反対に脂肪族炭化水素よりも E_d 値の小なる側に位置する。ポリエチレングリコール同族体の E_d 値直線は脂肪酸に次いで E_d 値の小さい側に存在している。この化合物の分子容を考えた場合、同程度の分子量を持つ炭化水素よりも小さいはずであり、したがって E_d 値は大きくなるものと考えられるが、実際は逆に小さな E_d 値を示している。この現象については、次に述べる脂肪酸の水素結合と同様に、分子間の相互作用による影響が E_d 値の減少となって現われているものと考えられる。

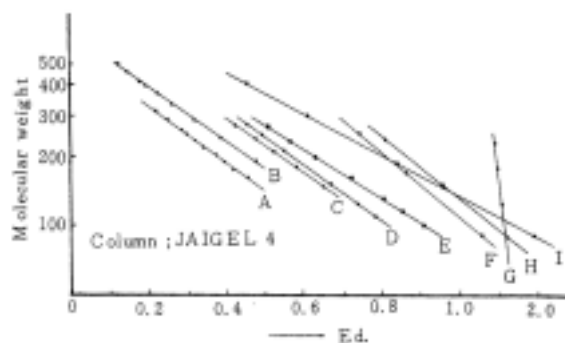


Fig.1 Relationship between E_d value and molecular weight of various organic homologues
A : Fatty acid (table6)
B : Polyethyleneglycol (table4)
C : Fatty ester (table5)
D : Fatty alcohol (table3)
E : Saturated aliphatic hydrocarbones (table7)
F : Polyphenyl (table7)
G : Polycyclic hydrocarbon (table7)
H : α - Methylbenzyl phenol (table7)

Table2 E_d value of aliphatic hydrocarbons

Standards	Molecular weight	Elution volume (ml)	E_d value
n-Octane	114	427	0.901
n-Nonane	128	413	0.851
n-Decane	142	398	0.801
n-Dodecane	170	375	0.716
n-Tetradecane	198	353	0.621
n-Hexadecane	226	333	0.552
n-Octadecane	254	318	0.500

Column : GAIGEL 4

Table3 Ed value of aliphatic alcohols

Standards	Molecular weight	Elution volume (m $\bar{l}$)	Ed value
1-Hepetanol	116	394	0.784
1-Octanol	130	380	0.734
1-Decanol	158	359	0.660
1-Tetradecanol	214	324	0.537
1-Hexadecanol	242	311	0.486
1-Heptadecanol	256	302	0.455
1-Octadecanol	270	299	0.444
1-Eicosanol	298	286	0.398

Column : JAIGEL 4

Table4 Ed value of polyethyleneglycol

n	Molecular weight	Elution volume (m $\bar{l}$)	Ed value
4	194	306	0.475
5	238	281	0.384
6	282	262	0.318
7	326	246	0.261
8	370	238	0.230
9	414	228	0.177
10	459	215	0.150
11	503	209	0.129

Column : JAIGEL 4

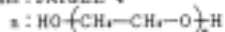


Table5 Ed value of fatty acid esters

Standards	Molecular weight	Elution volume (m $\bar{l}$)	Ed value
Methyl n-caprylate	158	355	0.648
Ethyl n-caprylate	172	343	0.597
n-Amyl n-caproate	186	335	0.577
n-Amyl n-caprylate	214	318	0.514
n-Buthyl n-caprate	228	311	0.484
n-Amyl n-caprate	242	305	0.468
Ethyl myristate	256	297	0.435
Methyl palmitate	270	292	0.411
Ethyl palmitate	284	283	0.390
Ethyl stearate	312	274	0.358
iso-Amyl n-caproate	186	332	0.564
iso-Amyl n-caprylate	214	317	0.511
iso-Amyl laurylate	270	288	0.408

Column : JAIGEL 4

Table6 Ed value of fatty acids

Standards	Molecular weight	Elution volume (m $\bar{l}$)	Ed value
Nonanoic acid	158	301	0.456
Decanoic acid	172	290	0.416
Undecanoic acid	186	283	0.391
Dodecanoic acid	200	277	0.370
Tridecanoic acid	214	268	0.336
Tetradecanoic acid	228	262	0.315
Pentadecanoic acid	242	257	0.298
Hexadecanoic acid	256	253	0.286
Heptadecanoic acid	270	241	0.242
Octadecanoic acid	284	243	0.251
Eicosanoic acid	312	235	0.222

Column : JAIGEL 4

Table7 Ed value of aromatic compounds

Standards	Molecular weight	Elution volume (m $\bar{l}$)	Ed value
Triphenyl methane	244	381	0.740
Diphenyl methane	168	414	0.858
Toluene	92	467	1.046
Tri- α -methyl benzyl phenol	406	297	0.441
Di- α -methyl benzyl phenol	302	342	0.601
Mono- α -methyl benzyl phenol	198	408	0.836
Phenol	94	509	1.196
Triphenyl	230	397	0.797
Diphenyl	154	440	0.950
Benzene	78	492	1.135
Triphenylene	228	475	1.075
Anthracene	178	478	1.085
Phenanthrene	178	478	1.085
Naphthalene	128	482	1.100
Benzene	78	492	1.135

Column : JAIGEL 4

Fig.2はポアサイズ 100 Åのカラムを使用して、分子量と流出容量の関係を求めたものである。Table8はその測定値を示す。トリ・ α ・メチルベンジルフェノール及びトリ・ステアリンのような三官能化合物も、他のジ、

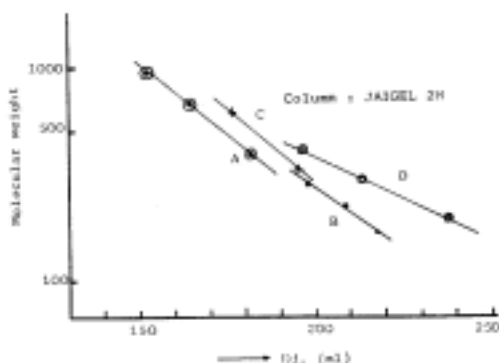


Fig.2 Relationship between elution volume and molecular weight of organic compounds

Table.8 Elution volume of some organic compounds

Grp No.	Standards	Molecular weight	Elution volume(ml)
A	Tristearin	882	154
	Distearin	685	164
	Monostearin	359	181
B	Ethyl palmitate	284	193
	n-Amyl laurate	270	196
	s-Amyl caprylate	214	207
	Methyl n-caprylate	158	218
C	Abietic acid	302	195
	Polymerized resin	(464)*	175
D	Tri-o-methyl benzyl phenol	408	196
	Di-o-methyl benzyl phenol	302	213
	Mono-o-methyl benzyl phenol	198	239

Column : JAIGEL 2H

(*) : Molecular weight of main component

モノ化合物との間に直線関係が得られる。またアビエチン酸及びアビエチン酸の二量体を主成分とする重合ロジンのような脂環式化合物は、同じ分子量を持つ直鎖化合物に比較すると、Ed 値は若干大きく分子サイズが少し小さいことを示している。

3・2 脂肪酸の Ed 値

鎖状脂肪酸の Ed 値は、他の同程度の分子量を持つ鎖状化合物に比較し著しく低い値を示す。これは、脂肪酸の GPC カラム中における分子サイズが、単一分子であるときよりも相当大きいことを示している。この理由としては、当然水素結合の影響が考えられ、その場合には脂肪酸濃度による Ed 値の変化がみられるはずである。

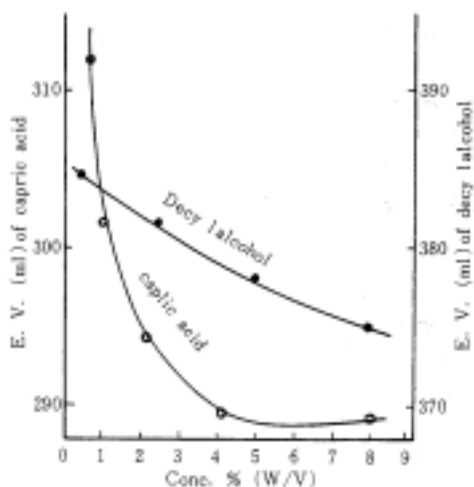


Fig.3 Relationship between elution volume and concentration of decyl alcohol and Capric acid

カプリル酸の濃度と流出容量 (ml) の関係を求めると Fig.3 のようになる。酸の濃度が大きくなるほど Ed 値は小さくなり 5% 付近で一定となる。この流出容量の値を使って、脂肪酸炭化水素の ED 値直線から分量を求めると、カプリル酸の 2 倍に近い値となる。この事実から、カプリル酸をクロロホルム溶液として、5% 以上の濃度で、カラムに注入した場合には、先に示した Table 1 の条件のもとでは、ほとんどのカプリル酸が、カラム中で二量体として挙動することが考えられる。

5% 以下の濃度のカプリル酸のクロロホルム溶液を GPC カラムに注入した場合、単量体の状態で挙動するカプリル酸も相当存在するはずである。しかし、検出されるカプリル酸のピークは、少しブロードにはなるが、どの場合にも 1 本であり、二量体と単量体の二本のピークを認めない。この理由については次のように解釈される。即ち、Fig.4 に図示されているように、脂肪酸分子は、クロロホルム溶液としてカラムを通過する過程において、付近の他の脂肪酸分子と二量体を形成したり、また別れて単量体に戻ったり、可逆的な変化を繰り返しながら、カラム充填剤の中を通過してゆくものと考えられる。濃度が高い場合には、二量体としてカラムを通過する期間が、単量として通過する期間よりも総合的に長くなり、流出容量が少さくなる。また、カラムに注入された脂肪酸の各分子は、カラムを通過する過程において、結果的には二量体である期間と単量体である期間とが平均化され、少し分散してブロードにはなるが、ある流出容量を持つ

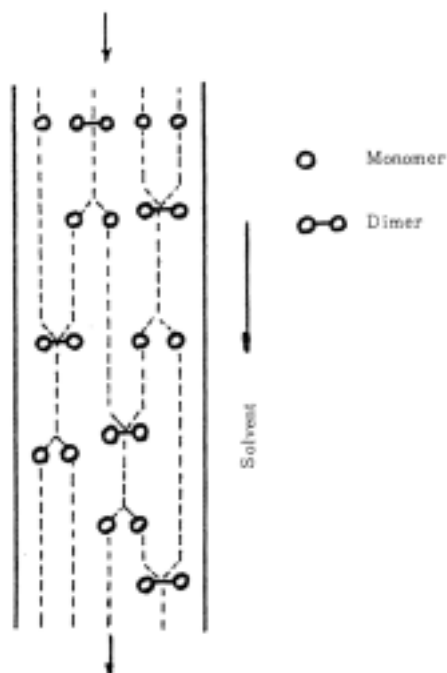


Fig.4 Elution model of fatty acid in the GPC column

た1本のピークとして検出されるものと考えられる。

脂肪族アルコールについても、デシルアルコールを試料として濃度と流出容量の関係を求めてみた。Fig.3にその結果を示している。濃度による流出容量の変化は、カプリル酸ほどに急激ではないが同じような傾向が認められる。これもやはり脂肪酸と同様に、OH基の水素結合に基づくものと考えられる。

3・3 直鎖炭化水素と側鎖を有する炭化水素のEd値の比較

メチル側鎖を持つC₈飽和炭化水素について、メチル側鎖の位置とEd値との関係を求めた (Table 8)。異性体間では一般的にメチル側鎖の多くなるほど、即ち、分子が丸くなるほどEd値は大きくなる。しかしメチル側鎖が鎖の端の方につくとEd値は小さくなり、同一分子量の直鎖炭化水素よりも低いEd値を与える場合もある。この現象はTable9に示したように分子量の代りに分子容の値をとると、Ed値との間の相関性が良く理解される。

C₄, C₅の1価アルコールについても、その異性体のEd値を測定し、分子容との相関性を求めた。その結果はTable10に示されるように、炭化水素の場合と同様、二

Table.9 Ed value of isomers on octane

Standards	Molecular weight	Elution volume	Ed value	Molecular volume
n-Octane	114	427	0.904	162.3
2-Methylheptane		425	0.897	163.6
3-Methylheptane		429	0.914	161.5
4-Methylheptane		429	0.914	159.2
3-Ethylhexane		435	0.932	—
3,4-Dimethylhexane		436	0.936	—
2,2,3-Trimethylpentane		435	0.939	—
2,2,4-Trimethylpentane		426	0.901	164.8
2,3,4-Trimethylpentane		435	0.936	157.7
2,2,3,3-Tetramethylbutane		435	0.939	157.2

Column : JAIGEL 4

Table.10 Elution volume and molecular volume of alcohols

	Butanol		Pentanol	
	E. V. (ml)	M. V. (cc)	E. V. (ml)	M. V. (cc)
n—	435	91.3	419	107.8
sec—	428	91.6	—	—
tert—	418	95.0	411	108.6

E. V. : Elution volume
M. V. : Molecular volume

つの値の相関関係がみられる。

Fig.5は末端にメチル側鎖をもつ脂肪酸エステルと、側鎖を持たない直鎖エステルとのEd値の比較であるが、同じ分子量のものを考えた場合、末端にメチル側鎖を持ったエステルは直鎖のエステルより少し小さいEd値が得られる。

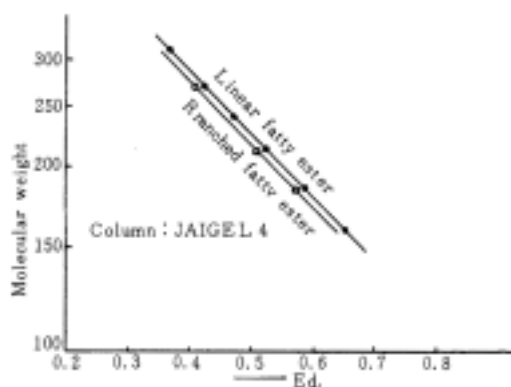


Fig.5 Relationship between Ed value and molecular weight of Linear and branched fatty esters

以上、各種の有機化合物の流出容量について述べたが、多種類の有機化合物の流出容量を測定し、その相関関係を知っておくことは、同族体の分子量の推定、GPCで分離された未知成分の分子サイズの推定のために極めて有益な資料となる。また脂肪酸のように分子間の水素結

合の大きいものについては、その流出容量が濃度によって変化するので、流出容量から分子量あるいは化学構造の推定をする場合には、カラムに注入する試料溶液の脂肪酸濃度が、その流出容量に変化を与えることに注意しなければならない。

文 献

- 1) 藤田桂一, 早野弘道, 武藤五生; 本誌, No. 16, 9, (1976)
- 2) J. G. Hendrickson, J. G. Moore; *J. Polymer Sci. A-1*, **4**, 167 (1966).
- 3) J. M. Hammond, J. F. Hooper and J. E. Stutchbury; *J. Polymer Sci. symposium* No. **49**, 117 (1975).
- 4) M. Popl, J. Coupek and S. Pokorny; *J. of Chromatog.*, **104**, 135 (1975).
- 5) W. W. Schulz; *J. Chromatog.*, **55**, 73 (1971).
- 6) W. Heitz, B. Bömer und H. Ullner; *Die Makromolekulare Chemie*, **121**, 102 (1969).
- 7) J. C. Moore and J. C. Moore and J. G. Hendrikson; *J. of Polymer Sci. Part C*, No. 8, 233 (1965).
- 8) W. B. Smith and A. Kollmansberger; *J. of Phys. chem.*, **69**, No. 12, 4157 (1965).
- 9) J. C. Moore; *J. of poly. Sci., Part A*, **2**, 835 (1964).

Elution Behavior of Some Organic Compounds in Gel Permeation Chromatograph

Yoshiaki SEKIKAWA* and Keiichi FUJITA

* Central Customs Laboratory, Ministry of Finance
531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken,
271 Japan

The elution volume of many organic compounds were measured by GPC with gels having pore size of 25 Å and 100 Å respectively and rules concerning the elution volume among these compounds and homologues were investigated. The fatty acid is, to a considerable extent, dimerized to double mole-cules in the eluent(CHCl_3), but this dimer reverts to monomer again in the elution process. This reversible conversion of the fatty acid is repeated in the GPC column. Therefore the fatty acid show smaller elution volume than other aliphatic compounds having similar molecular weight.

Many elution volume data of organic compounds are useful in order to separate of mixture or analysis for unknowns.

—Received Sep. 30, 1976—