



Title	口紙電気泳動に関する研究 (第2報) 種々の物質のpH-泳動度曲線について
Author(s)	下村, 脩
Citation	日本化学雑誌, 76(5), pp.562-566; 1955
Issue Date	1955-05
URL	http://hdl.handle.net/10069/20880
Right	

This document is downloaded at: 2019-01-23T01:21:48Z

(長崎大学薬学部, 長崎市) (昭和 29 年 12 月 24 日受理)

口 紙 電 気 泳 動 に 関 す る 研 究 (第 2 報)

種々の物質の pH-泳動度曲線について

下 村 脩

緒 言

第 1 報¹⁾において, アニリンおよびフェノール系化合物の泳動度はその解離度に比例すると仮定して泳動度を pH の函数*として表わし, 実験値との良好な一致をみたが, もしこのような関係が他の多くの物質についても成立するものとするれば, 分離条件の選定に非常に好都合である。すなわち, ある pH における泳動度を知れば, 他の任意の pH における泳動度を推定することができ,

1) 下村, 本誌 76, 277 (1955).

* カチオンの場合 $l = LK(10^{\text{pH}-14} + K) - 1$

アニオンの場合 $l = LK(10^{-\text{pH}} + K) - 1$, ただし l : 泳動度, L : 十分酸性またはアルカリ性である時の最大泳動度 (一定値), K : 解離定数。

またある pH における 2 物質の泳動度が等しくとも, それらの解離定数の間に若干の差があれば, 適当な pH を選ぶことによって分離可能となるわけである。これらのことは一価の酸および塩基の場合で, 多価の酸および塩基や両性化合物の場合は多少複雑になると考えられる。

本報においては上のような考えのもとに, 種々の弱酸, 弱塩基を一価, 多価および両性に分けてそれぞれ数種類ずつの化合物を選び, それらの pH-泳動度曲線を求め, その結果について検討した。

また pH 指示薬の多くは弱酸であり, かつ pH 変化に対する変色と泳動度の変化を直接見ることができるので, これについても pH-泳動度曲線を求めて検討した。

実験方法

装置および実験操作法は前報と同様であるので省略し、他の二、三の点について記す。

(a) 電解液およびその pH

0.03 mole 硝酸カリウムに 0.03 mole 硝酸または 0.03 mole 水酸化カリウムを種々の比で混じて、種々の pH の電解液を得た。第1表にそれらの混合比およびその pH を示した。pH 値は前報にならない、口紙 (60×10 cm) を電解液で潤し、通電操作時と同条件で 40 分

第1表 電解液およびその pH

番号	HNO ₃ : KNO ₃ : KOH	pH
1	1 : 0 : 0	1.9
2	1 : 2 : 0	2.9
3	1 : 14 : 0	4.8
4	0 : 1 : 0	5.75
5	0 : 34 : 1	7.55
6	0 : 7 : 1	9.5
7	0 : 0 : 1	11.4

第2表 試料および顕色法

基数	可検イオン	試料	顕色法
一	NH ₃ ·OH ⁺ NO ₂ ⁻ 乳酸 クロトン酸 ジメチルアニリン コカイン ピリジン	NH ₂ ·OH·HCl KNO ₂ 乳酸 クロトン酸 ジメチルアニリン 塩酸コカイン ピリジン	1% KMnO ₄ 5% KI+5% HCl 3% AgNO ₃ 1% KMnO ₄ ドラーゲンドルフ試薬 " "
多	亜ヒ酸 ヒ酸 酒石酸 フマル酸 マレイン酸 パラオキシ安息香酸 キニーネ リン酸	As ₂ O ₃ As ₂ O ₃ 酒石酸 フマル酸 マレイン酸 パラオキシ安息香酸 塩酸キニーネ Na ₂ HPO ₄	3% AgNO ₃ " " 1% KMnO ₄ " Fe(NO ₃) ₃ +K ₃ Fe(CN) ₆ * 紫外線下 (酸性で) モリブデン酸アンモニウムおよび SnCl ₂
両性	グリココール グルタミン酸 ヒスチジン エフェドリン	グリココール グルタミン酸ナトリウム 塩酸ヒスチジン 塩酸エフェドリン (DL)	常法によりニンヒドリン " " ドラーゲンドルフ試薬
	pH 指示薬		3% HCl または 3% NaOH

* 前報参照.

間放置し、それを圧縮口過した液について、ガラス電極を用いて測定した値である。

(b) 試料および通電後の顕色法

可検イオン名およびそれを得べき原物質名、および通電後の顕色法を第2表に示した。試料溶液の調製等は前報と同様であるが、試料が水に不溶の時は電解液の1または7に飽和させて用いた。

顕色に過マンガン酸カリウムを用いる場合は、スポットが明瞭であるのはごく短時間であるから、ただちに着印しておかねばならない。また硝酸銀による場合は噴霧後に直射日光または紫外線下にさらす。

実験結果および考察

一塩基性酸と一酸性塩基の pH-泳動度曲線を第1図、多塩基性酸と多酸性塩基および両性化合物の場合をそれぞれ第2図および第3図に示した。

いずれも泳動度としては、0-ニトロアニリンの泳動度によって、電気浸透による電解液の流動の影響を近似的に補正した値を用いた。0-ニトロアニリンはその解離定数 (5.6×10⁻¹⁵) より、本実験のような条件において

pH 2 以上ではほとんど電氣的泳動は行わないと考えられる。その計算法は、各物質の実測泳動度より *o*-ニトロアニリンの泳動度の 1.3 倍を減じた。これは上昇法による普通ペーパークロマトグラフ法の R_f 値が *o*-ニトロアニリンは各 pH の電解液で大体 0.50、種々の弱酸、弱塩基は平均 0.65 であったからである。上法は近似的補正法にすぎないが、本実験の目的に対しては大した支障はないと考えられる。pH 指示薬の場合は、一般にロ紙吸着の影響が大きく R_f 値は小であるので、*o*-ニトロアニリンの泳動度をそのまま各 pH 指示薬の泳動度より減じた。しかし原線に沈着している場合は上の補正を行わず、そのまま 0 とした。また図より各物質の実測泳動度を知り得るように、第 1 図に *o*-ニトロアニリンの泳動度を付記した。図中の泳動度の符号は陽極への方を \ominus で表わしている。以下実験結果に対する若干の知見を記す。

(1) 一塩基性酸および一酸性塩基 (第 1 図)

一塩基性酸および一酸性塩基においては一般に緒言下註の式とかなりよく一致することを認めた。しかしピリジンおよび NH_2OH の場合には、高 pH 域において幾分実測値が大きい。このような傾向は前報におけるアミノフェノール等の場合にも見られるが、その理由はまだ不明である。

図に解離定数より求めた泳動度の急変 pH 値^{*}、すなわちカチオンの時は“14-解離指数”，アニオンの時は“解離指数”の pH 値を曲線上に○印で示したが、これは各曲線の示す泳動度の急変 pH とよく一致している。すなわち泳動度の急変する pH を解離定数より推定できることを示している。なお本報で用いた解離定数その他の定数は文献²⁾中より最も正確であると思われるものを選んだ。

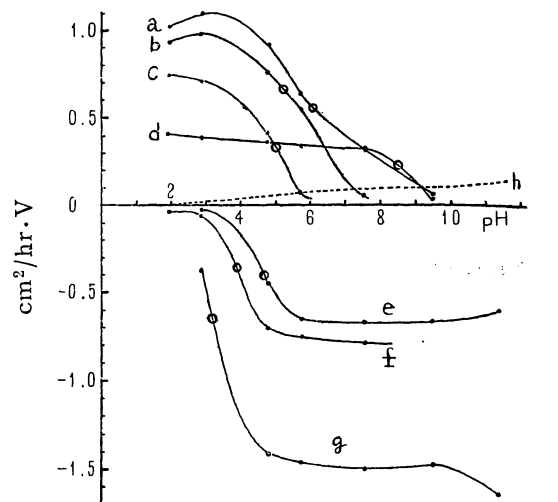
(2) 多塩基性酸および多酸性塩基 (第 2 図)

多塩基性酸の中でマレイン酸や *p*-オキシ安息香酸のごとく一次解離定数 K_1 と二次解離定数 K_2 との開きが大きいものの pH-泳動度曲線は、はっきりした段階を示している。またその泳動度急変 pH は前項の一価化合物の場合と同様にして解離定数より求めた pH 値 (○印) と大体一致しているが、マレイン酸の二次解離の pH は多少ずれている。酒石酸、フマル酸のごとく K_1 、 K_2 の接近したものにおいて段階を示さないのは 2 個の泳動度急変が重なるからであると解される。ヒ酸のカーブに

* カチオンの場合 $K=10^{\text{pH}-14}$ 。

アニオンの場合 $K=10^{-\text{pH}}$ を満足する pH 値。

2) 日本化学会編“化学便覧”；Landolt-Börnstein “Physikalisch-Chemische Tabellen” (1931)；吉村，“pH の理論と測定法”。



a: ヒドロキシルアミン e: クロトン酸
b: ピリジン f: 乳酸
c: ジメチルアニリン g: 亜硝酸
d: コカイン h: *o*-ニトロアニリン

水温 16.5°C

第 1 図 一塩基性酸および一酸性塩基

において K_1 と K_2 に対応する泳動度急変は認められるが、 K_2 はほとんど表われていない。これは H_2AsO_4^- と HAsO_4^{2-} の泳動度の差が小さいからではないかと考えられる。またキニーネの曲線より、キニーネの一次解離イオンの泳動度はごく小さいものとみられる。

以上のごとく多価の時は 1 価の時より複雑で種々特殊な場合があり、解離定数より求めた泳動度急変 pH 値と実験値の泳動度急変 pH との一致は 1 価の場合ほど完全ではないが、分離の目的に対しては十分有用だと考えられる。

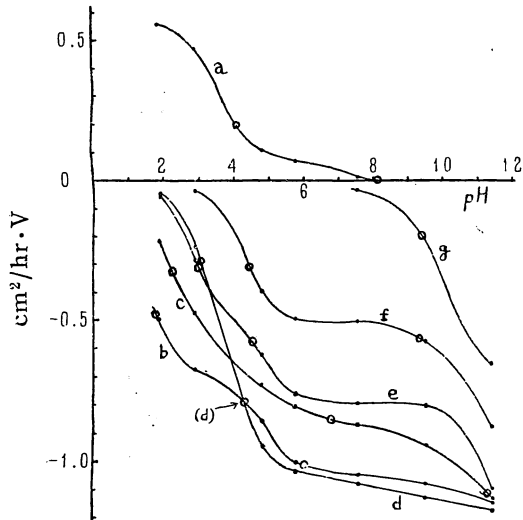
図におけるフマル酸とマレイン酸の曲線は、pH 4 以上ではほとんど等しい泳動度を示しているが、それらの解離定数の相違により pH 2~3 では完全な分離が可能であるという典型的な例を示している。

リン酸については図示しなかったが、リン酸イオンは普通のアニオンと反対にアルカリ性において泳動度の減少を示し、また酒石酸イオンはアルカリ性において逆に原因不明の泳動度増大を示している。これらについてはさらに検討するつもりである。

(3) 両性化合物 (第 3 図)

グリコロール、グルタミン酸およびヒスチジンについて第 3 図に示した。

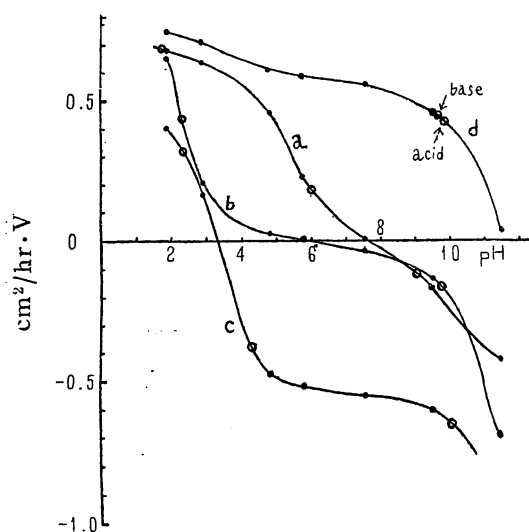
各解離定数より一価化合物の場合と同様にして求めた泳動度急変 pH 値 (曲線上の○印) と、実際の泳動度急変 pH 値との関係は、前項の多価化合物の場合と同様に



a: キーネ e: 酒石酸
 b: マレイン酸 f: p-オキシ安息香酸
 c: ヒ酸 g: 亜ヒ酸
 d: フマル酸
 水温 16.5°C

第2図 多塩基性酸および多酸性塩基

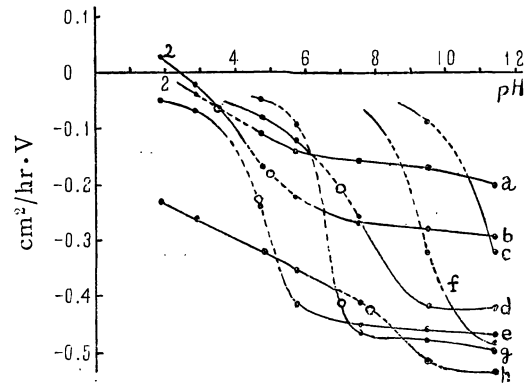
見受けられる。各曲線の等電点は文献値³⁾(グリコール 5.97, グルタミン酸 3.24, ヒスチジン 7.59) と良好な一致を示している。グリコールの場合等電点付近のかなり広い pH 範囲で泳動度が極小であるが、これは2個の泳動度急変 pH がかなり離れているからであると考えられる。ヒスチジンの場合は他に比べ泳動度の急変が



a: ヒスチジン c: グルタミン酸
 b: グリコール d: エフェドリン酸
 水温 16.5°C

第3図 両性化合物

3) 水島, 赤堀, “蛋白質化学” 2, 222 (1954).



a: メチルオレンジ
 b: メチルレッド
 c: チモールフタレイン
 d: ブロムチモールブルー
 e: ブロムクレゾールグリーン
 f: フェノールフタレイン
 g: p-ニトロフェノール
 h: フェノールレッド
 水温 18°C

第4図 pH 指示薬

明瞭でない。エフェドリンの場合、その解離定数に誤がないものとするればエフェドリンのアニオンの泳動度はきわめて小であると考えられる。

(4) pH 指示薬

pH 指示薬の pH-泳動度曲線を第4図に示した。種々の pH で泳動させた口紙上のスポットの色は、大体文献の変色限域と一致することを認めた。pH 指示薬の指示薬定数は大体解離定数と同意義と考えられ、また変色限域は大体指示薬が解離を起す範囲を示すと考えられるので、第4図の各曲線上に指示薬定数より求めた泳動度急変 pH* を○印で、また変色限域を点線で示した。

指示薬定数より求めた泳動度急変 pH は各曲線の急変点と大体一致し、変色限域は泳動度急変の範囲を示すことを図より知り得る。ただニトロフェノールのみは前報におけると同様に相当のずれを示している。メチル紫, リトマス, コンゴレッドについても実験したが、各 pH でほとんど移動を認めなかった。

第1~4図の結果より、pH-泳動度曲線における泳動度の急変 pH は、少数の例外をのぞき、解離定数より求めた pH と大体一致すると考えられる。

また Longsworth⁴⁾ は普通電気泳動において pH と易動度の関係が滴定曲線の傾向と一致することについて

* すなわち指示薬指数の pH.

4) L. G. Longsworth, Ann. New York Acad. Sci. 41, 267 (1941).

報告しており、本報の曲線にも同種の傾向がみられるが、これは口紙の存在をのぞけば他は同様な関係にあるから当然だと考えられる。

最大泳動度 L の等しい 2 種の酸または塩基の分離を行うときには、それらが緒言下註の式によくしたがうものであれば、それぞれの泳動度急変 pH の中間の pH 値において、一定条件下における泳動度の差は最大となる。さらに大きい分離を必要とする時には、泳動時の pH を泳動度が小となる pH 値に選り、時間および電圧勾配を大にして泳動距離を大にすればよいわけであるが、その応用例については別に報告する予定である。

総 括

1. 一塩基性酸および一酸性塩基、多塩基性酸および多酸性塩基、両性化合物および pH 指示薬について各々

数種を選り pH-泳動度曲線を求めた。

2. 一塩基性酸および一酸性塩基の場合はその解離定数より pH-泳動度曲線をかなり良く推定できるが、多価および両性化合物の場合には複雑で、かつ誤差も増大することが多いと考えられる。

3. 一塩基性酸および一酸性塩基の泳動度急変 pH は解離定数より求めた値とよく一致する。多価および両性化合物の場合には多少のずれを示すことがあるが、大体一致すると仮定しても分離の目的に対しては支障しないと考えられる。この結果を用いて解離定数の異なる物質間の分離条件を選りすることができる。

4. pH 指示薬の場合には泳動度急変 pH は指示薬指数および変色領域と大体一致することを知った。

終りに御援助および御指導下さった安永峻五教授に深く感謝する。