

Carboxymethyl Chitin의 합성 및 알칼리 토금속 이온의 흡착분리에 관한 연구

최규석·장병권·김종희·김용무*

한양대학교 공과대학 공업화학과
**관동대학교 이공대학 환경공학과
(1991년 6월 21일 접수)

A Study on the Synthesis of Carboxymethyl Chitin and Separation of Alkali-Earth Metal Ions by Adsorption

Kyu-Suk Choi, Byung-Kwon Chang, Chong-Hee Kim and Yong-Moon Kim*

Department of Industrial Chemistry, College of Eng., Hanyang University,
Seoul 133-791 Korea

*Department of Environmental Eng., College of Science and Eng., Kwandong University,
Kan grung 210-701 Korea
(Received Jun 21, 1991)

요 약

계집질로부터 단리한 천연고분자인 chitin 을 이용하여 특정금속이온에 대하여 높은 선택성을 갖는 carboxymethyl chitin 을 합성하였다. 실험에 사용된 chitin 은 개량한 Hackman 법으로 순수한 상태로 제조하고 이를 여러농도의 수산화나트륨 용액으로 alkali chitin 을 제조한 후, chitin 단위구조의 C-6 위치(CH₂OH)를 isopropyl alcohol 중에서 monochloroacetic acid 로 처리하여 카복시기를 갖는 유도체를 합성하였다. Kjeldahl 법에 의한 질소함량의 분석 및 원소분석에 의해 최적반응조건과 치환율을 구하였고, 이들 수지의 구조는 적외선흡수스펙트럼으로 확인하였다. 낮은 치환도를 가지며 물에 불용인 carboxymethyl chitin 은 알칼리 토금속이온들 중 Ca²⁺ 이온에 대하여 가장 높은 선택적 흡착능을 나타내었으며, 이러한 성질은 KNO₃나 NaNO₃와 같은 중성염이 존재할 때에도 마찬가지였다. Carboxymethyl chitin 에 결합된 Mg²⁺ 이온은 Ca²⁺ 이온이 있는 곳에서 방출되며, 이러한 Ca²⁺ 이온에 대한 선택적 흡착능을 조사하기 위하여 Ca²⁺ 및 Mg²⁺ 이온 혼합계를 이용하였다. 합성된 흡착담체는 Ca²⁺, Mg²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺ 등의 금속이온들과의 흡착특성을 검토하였고, 나아가 Na⁺, K⁺ 등 공통양이온 존재하에서 특정금속이온의 선택적 흡착능을 atomic absorption spectrometer 로 정량, 확인하였다.

Abstract : Carboxymethyl chitin(CM-chitin) was prepared by the reaction of alkali chitin with monochloroacetic acid in isopropyl alcohol. According to the pH variation, the adsorptivity of this chelating polymer to the alkali-earth metal ions such as Ca²⁺, Mg²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺ ions was determined by batch method. The adsorption tendency of this chelating polymer to most metal ions was increased with the increase of pH. The highest

degree of adsorption was observed toward Ca^{2+} ion among the alkali-earth metal ions.

The selective adsorption property toward Ca^{2+} ion was examined in the mixed solution of Ca^{2+} and Mg^{2+} ions, and it was observed that CM-chitin showed excellent selectivity to Ca^{2+} ion than Mg^{2+} ion. Mg^{2+} ion bound to CM-chitin was released from CM-chitin molecule in the presence of Ca^{2+} ion owing to low equilibrium constant. In the adsorption experiment of Ca^{2+} and Mg^{2+} ions to the CM-chitin under coexistence of Na^+ and K^+ ions, it was observed that adsorptivity of only Ca^{2+} ion was not affected by these monovalent cations.

1. 서 론

킬레이트 고분자는 금속이온들을 함유하고 있는 용액에서 특정금속이온을 선택적으로 포집하는 기능성 고분자로서 주목을 끌고 있다. 킬레이트 배위자를 가진 많은 천연 고분자들이 합성되고 있고, 그 종류는 다양하며 그 중 셀룰로오스계와 단백질계 등이 대표적인 것으로, 성능도 합성 고분자보다 우수하다는 연구가 많이 발표되고 있다.

게, 새우 등 갑각류의 외골격과 균류나 조류와 같은 하등식물의 세포벽에 다량 함유되어 있는 chitin은 생체계에서 산출량이 연간 수십억톤에 달하는 것으로 추산되고 있으나, 그 대부분이 폐기되고 그 중 극히 일부가 공업적으로 이용되고 있지만 많은 나라에서 이 계통의 자원에 관심을 갖기 시작하여 현재는 전 세계적으로 연구의 대상이 되고 있는 실정이다.

천연 킬레이트 고분자인 chitin과 이의 탈아세틸화 화합물인 chitosan은 유용금속이온의 포집제나 폐수에 용존하는 중금속이온들의 흡착제로 사용될 수 있고, 이들이 무독성, 무공해성, 생분해성 등의 특성을 지니고 있어 필름, 섬유, 서방성 의약이나 농약의 담체, 효소 고정화 담체, 인공피부에 대해 응용되고 또한 활발한 연구가 진행되고 있다[1~3].

Chitin의 탈아세틸화 유도체인 chitosan은 유리 1차 아미노기를 가지고 있기 때문에 중금속이온에 대해서 우수한 흡착능을 지닌다고 Mima[4] 등에 의해 발표된 바 있으며, Muzzarelli[5] 등은 pH 5.8 이상의 중성 영역에서의 금속이온 흡착능을 이용한 chelation chromatography 담체로서의 기능을 검토하였고, Hirano[6] 등은 Uranyl-chitosan complex에 대해, Maruca[7] 등은 Cr^{3+} 의 흡착에 미치는 수지 입자의 크기, 용액의 농도와 pH 변화, 교반의 영향 등에 대해서, Tokura[8] 등은 calcium-carboxymethyl chitin complex에 의한 아미노산의 분리에 대하여 발표한 바 있다.

또한, carboxymethyl chitin은 수용성 chitin 유도체 제조면에서 뿐만 아니라[9], Imoto[10] 등에 의해서 lysozyme의 분리를 위한 흡착제로도 사용되었고, Manecke[11], Kosaka[12] 등은 carboxymethyl 화 킬레이트 수지에 관해 발표한 바 있다. 본 연구는 알칼리 토금속이온들 중 Ca^{2+} 이온에 대하여 높은 선택적 흡착능을 갖는 킬레이트 고분자를 개발하여 이를 분리, 회수할 목적으로 계겉질로부터 단리한 chitin으로부터 carboxymethyl chitin을 합성하여 알칼리 토금속이온들에 대한 흡착능을 검토한 것으로서 Ca^{2+} 및 Mg^{2+} 이온 혼합계를 사용하여 Ca^{2+} 이온의 선택적 흡착능을 조사하였고, Na^+ 나 K^+ 이온과 같은 일가의 공동양이온 공존하에서의 흡착특성도 검토하였다.

2. 실험

2. 1. 시 약

Chitin은 계겉질로부터 단리하여 사용하였고, 수산화나트륨, 질산, 에탄올, 아세톤, 에테르는 Duksan Pharm. Co.의 시약 1급을, 금속의 질산염들은 Shinyo Pure Chem. Co.의 1급 시약을 그대로 사용하였다.

2. 2. Chitin의 단리

Chitin의 분리정제는 Hackman법을 개량한 다음과 같은 방법을 사용하였다. 즉, 수거한 계겉질을 실온에서 2N HCl 수용액에서 12시간 침적시켜 탄산칼슘을 용출시키고, 분쇄한 다음 이것을 다시 2N HCl 수용액 중에서 24시간 실온처리하고 충분히 씻어 15°C 이하에서 4% NaOH 수용액으로 24시간 처리하여 단백질을 분해시켰다. 이와같은 처리를 각 3회 반복한 후, 3% H_2O_2 -1N HCl 수용액으로 6시간 처리하여 색소를 산화처리하고 마지막으로 알칼리 처리하였다. 다음 증류수, 에탄올, 에테르 순으로 씻고 건조하여 순백색의 chitin chip을 얻었고, 이를 분쇄하여 80~140 mesh의 chitin을 시료로 사용하였다.

2. 3. Alkali-chitin 의 제조

Chitin 분말시료 10 g 을 0.2 % sodium dodecyl sulfate 를 함유한 30 % NaOH 용액 40 ml 에 5 °C 이하로 유지하면서 1 시간 동안 교반한 후 냉장고에 24 시간 동안 방치하였다.

2. 4. Carboxymethyl chitin 의 합성

Alkali chitin 을 monochloroacetic acid 와 반응시켜 carboxymethyl chitin 을 합성하였다. 얻린 alkali chitin 을 isopropyl alcohol 100 ml 에 분산시키고, 상온에서 일정한 속도로 교반하면서 중성이 될 때까지 monochloroacetic acid 를 천천히 첨가하여 카르복시기를 도입시켰다. 반응 후에 생성물을 여과하고 에틸알코올과 증류수로 충분히 씻은 다음 아세톤으로 씻고 70 °C에서 진공건조하여 carboxymethyl chitin 을 얻었다.

2. 5. Deacetylation degree 의 측정

Alkali chitin 을 제조하는 동안의 탈아세틸화도를 측정하기 위하여 250 ml 적정용기에 carboxymethyl chitin 1 g 을 0.3 N NaOH 20 ml 에 분산시킨 후 자석 교반기로 교반하면서 0.1 N HCl 표준용액으로 적정하여 구하였다.

2. 6. 분배계수의 측정

합성한 킬레이트 수지에 대한 흡착상태를 알아 보기 위하여 분배계수를 batch 법으로 측정하였다. 즉, 수지 0.3 g 씩을 50 ml 플라스크에 넣은 다음 금속이온 용액 25 ml 씩을 가하여 상온에서 흡착평형이 이루어지도록 가끔 흔들며 주면서 하루동안 방치하여 여과한 여액을 분석하여 흡착되고 남은 용액의 농도를 계산하고 수지에 흡착된 양을 계산하여 다음 식으로 분배계수(Kd) 값을 구하였다.

$$Kd = \frac{V}{R} \times \frac{Gr}{Gs}$$

여기서 Kd : Distribution of coefficient

V : volume of solution (ml)

R : weight of resin (g)

Gr : weight of adsorbed solute on the resin (g)

Gs : weight of solute in solution (g)

2. 7. 금속이온의 흡착실험

앞에서 제조한 킬레이트 고분자의 금속이온 흡착 실험은 batch 법을 이용하였다. 즉, Ca²⁺, Mg²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺ 이온등의 100 ppm 용액들에 질산을 가하여 pH 를 조절한 후 이들 용액 25 ml 에 킬레이트 고분자를 0.2 g 씩 가하고 때때로 흔들어 주면서 24 시간 동안 실온에서 방치시켜 금속이온들을 흡착시킨 후, 고분자를 여과하고 여액 중에 잔존하는 금속이온의 농도를 분석하여 흡착된 금속이온의 양을 결정하였다.

2. 8. 분 석

합성된 킬레이트 고분자의 구조는 FT-IR(Nicolet, Model 5-DX)을 이용한 적외선흡수스펙트럼으로 확인하였으며, C, H, N 원소의 함량은 원소분석기(YANACO MT-2, JAPAN)를 사용하여 측정하였고, 질소 함량의 분석은 Kjeldahl 법도 병행하였다. 흡착실험이 끝난 여액 중의 금속이온 농도는 원자흡광광도계(Perkin Elmer Model 5,000)로 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3. 1. 킬레이트 고분자의 합성

절족동물의 외골격 중 chitin 의 함량은 20-25 % 정도이며 수산계 폐기물인 게껍질로부터 2. 2 의 방법으로 순백색의 chitin chip 을 얻었고, 이것을 Tokura [13] 등과 같은 방법으로 chitin 단위 구조의 C-6 위치를 isopropyl alcohol 중에서 monochloroacetic acid 로 처리하여 카르복시기를 갖는 carboxymethyl chitin (이하 CM-chitin 으로 약함)을 합성하였다(Fig. 1).

합성한 시료의 구조는 적외선흡수스펙트럼을 이용하여 검토하였고, Fig. 2 에 나타내었다. Fig. 2 를 보면 CM-chitin 의 경우 1730 cm⁻¹ 부근에서 C=O 기의 신축진동에 기인하는 흡수가 관측되었고, 1070 cm⁻¹ 부근에서 일차 히드록시기에 귀속되는 흡수가 약간 감소되는 것으로 보아 carboxymethylation 이 진행되었음을 알 수 있었다.

Carboxymethylation 은 C-3 위치와 C-6 위치의 히드록시기에서 모두 일어날 것으로 생각되지만, C-6 위치의 히드록시기가 반응성이 훨씬 크기 때문에 주로 이 위치에서 일어날 것이라고 생각된다[14].

반복 단위인 glucosamine unit 와 수산화나트륨과의 물비에 따른 치환율과 치환율에 따른 용해성을 Table

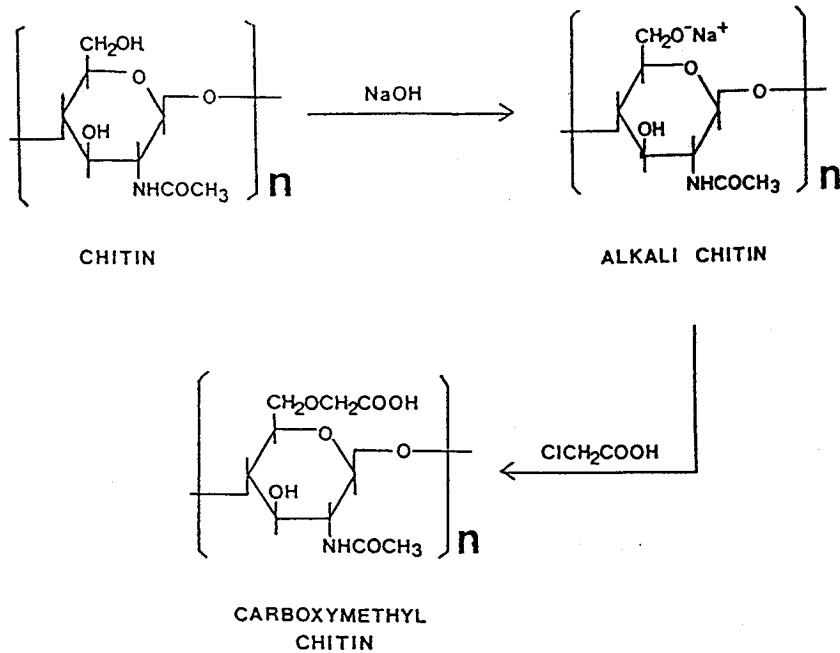


Fig. 1. Scheme

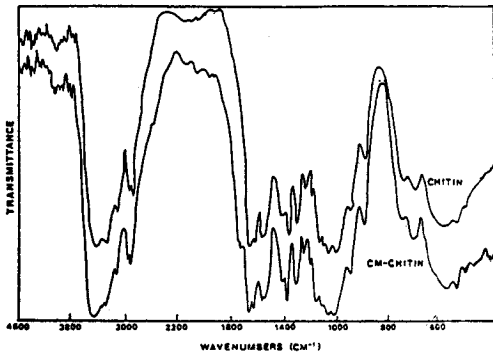


Fig. 2. IR spectra of chitin and carboxymethyl chitin.

1에 나타내었다. 알칼리 농도가 증가함에 따라 치환율은 증가되고, 치환율이 0.6 이상일 때는 물에 용해됨을 알 수 있다. 치환율이 높은 수지는 배위자수의 증가로 인하여 흡착능이 증가될 것으로 기대되나, 물에 용해되어 흡착실험에는 부적당하므로 본 연구에서는 glucosamine unit 당 10.46 몰비의 수산화나트륨을 반응시켜 제조한 수지를 사용하였다. 이

Table 1. Solubility Characteristics of CM-Chitin

[NaOH]/[Gluc]	D. S. ^{a)}	N % ^{b)}	Solubility
5.08	0.21	6.24	ins
8.29	0.26	6.16	ins
10.46	0.31	6.11	ins
11.92	0.52	5.77	sw
19.88	0.63	5.63	sol

a) Degree of substitution calculated on the assumption that 1/2 H₂O was included per N-acetylglucosamine.

b) Determined by Kjeldahl method.

ins ; insoluble, sw ; swelling, sol ; soluble

와같이 제조한 CM-chitin의 원소분석 결과를 Table 2에 나타내었으며, 이것으로부터 이 수지의 치환율은 0.31임을 알 수 있었다.

또한, Alkali chitin 제조시의 탈아세틸화도는 Fig. 3에서와 같이 중화적정법에 의하여 5% 미만임을 알 수 있었다.

Table 2. Elemental Analysis of Chitin and CM-chitin

	D.S. ^{a)}	C %	H %	N %	N % ^{b)}
Chitin	—	45.02	6.31	6.57	6.56
CM-Chitin	0.31	44.34	6.27	6.11	6.11

a) Degree of Substitution Calculated on the assumption that 1/2 H₂O was included per N-acetylglucosamine unit.

b) Determined by Kjeldahl method.

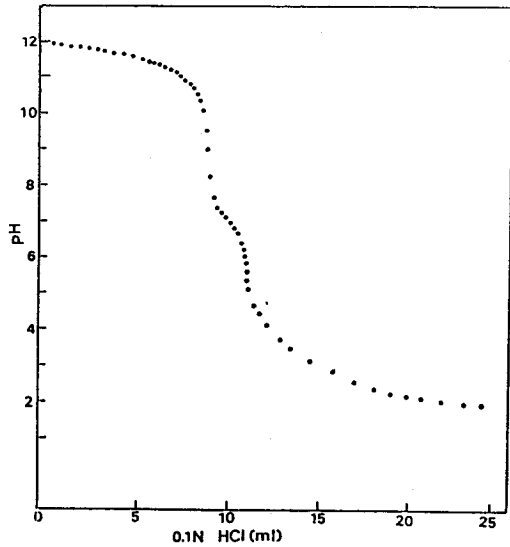


Fig. 3. Titration curve of CM-Chitin with 0.1N HCl.

3. 2. 금속이온의 흡착

Chitin의 C-6 위치의 히드록시기 대신에 카르복시기가 치환도입된 킬레이트 고분자에 대한 알칼리 토 금속이온들의 흡착특성을 금속이온 용액의 pH 변화에 따라 검토하였다.

먼저 Ca²⁺와 Mg²⁺에 대한 흡착거동은 pH가 증가함에 따라 증가하다가 pH 4 이상의 영역에서는 거의 일정하였다(Fig. 4, Fig. 5). Fig. 6은 CM-chitin에 대한 알칼리 토금속들의 pH 변화에 따른 흡착특성을 하나의 Fig.로 나타낸 것으로, 이 킬레이트 고분자의 경우 Mg²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺ 등의 이온들이 80% 전후의 최대 흡착능을 보인 반면, Ca²⁺ 이온의 경우 93% 정도로서 이들보다 우수함을 알 수 있었다.

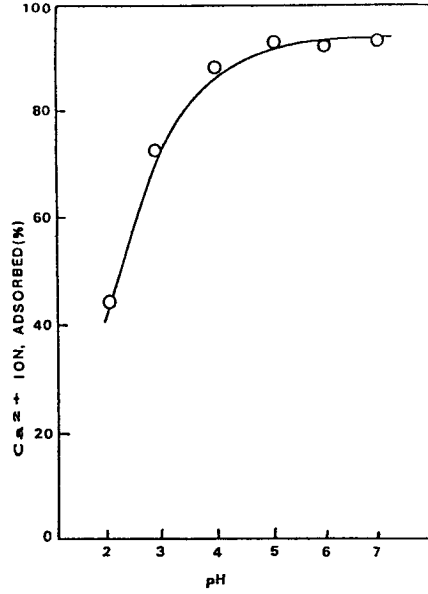


Fig. 4. The effect of pH on Ca²⁺ ion uptake to CM-chitin. Concentration of Ca²⁺ in the adsorption solution was 100 ppm and contact time, 24 hr.

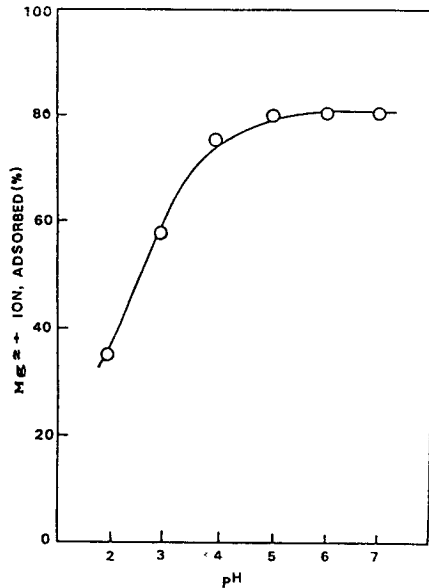


Fig. 5. The effect of pH on Mg²⁺ ion uptake to CM-chitin. Concentration of Ca²⁺ in the adsorption solution was 100 ppm and contact time, 24 hr.

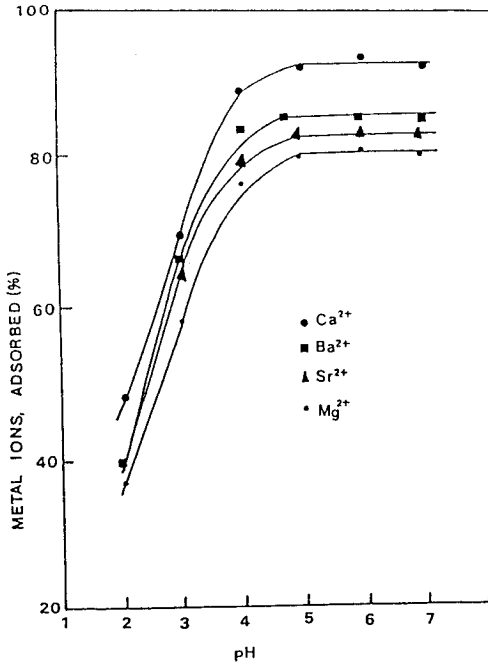


Fig. 6. The effect of pH on alkali earth metal ion uptake to CM-chitin. Concentration of metal ions was 100 ppm and contact time, 24 hr.

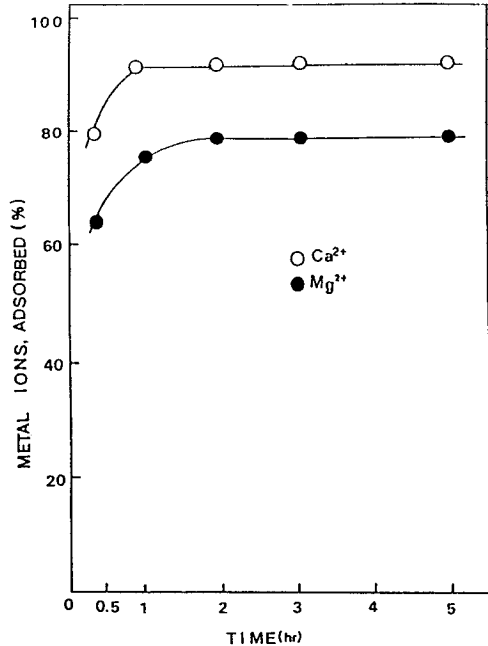


Fig. 7. Adsorption rate of calcium and magnesium ions adsorption by CM-chitin. Concentration of Ca²⁺ and Mg²⁺ in the solution was 100 ppm, pH 5.

Table 3. Distribution Coefficient(Kd)

Resin	Metal ion	Resin (g)	Solution (ml)	pH	Gr (g)	Gs (g)	Kd
CMCHITIN	Ca ²⁺	0.15	25	5.12	92	8	1917
	Mg ²⁺	0.15	25	5.12	79	21	627

Ca²⁺ 이온의 시간에 따른 흡착능을 조사해본 결과, 시간의 증가와 더불어 흡착은 증가하였고, 흡착은 1 시간 이내에 극히 짧은 시간에 완료됨을 알 수 있었다. 한편, Mg²⁺ 이온은 2 시간 정도에서 흡착평형에 도달하였다.

일반적으로 수지의 분배계수(Kd)를 비교하여 볼 때, Kd 값이 큰 이온이 좋은 흡착능을 나타낸다고 알려져왔다. Table 3에서 CM-chitin의 Ca²⁺에 대한 Kd 값은 1917이며, Mg²⁺ 이온에 대한 Kd 값은 627로서 Ca²⁺ 이온의 경우가 Mg²⁺ 이온보다 흡착능이 뛰어난 점을 토대로, Ca²⁺와 Mg²⁺ 혼합이온 용액에서 CM-chitin에 대한 각 이온의 흡착량을 조사해 보았다.

여기서 카르복시기 나트륨염인 것을 Na-type 이라 하였다(Fig. 8, Fig. 9). 이 경우 Mg²⁺ 이온의 흡착능은 비교적 작았으며 Ca²⁺ 이온의 흡착능은 Mg²⁺ 이온과 비교했을 때 상당히 크다는 것을 알았다. Ca²⁺과 Mg²⁺의 혼합이온용액에서 Ca²⁺이온의 흡착능은 Ca²⁺ 단독이온용액에서의 흡착능과 비교했을 때 약간 감소하나, Mg²⁺ 이온의 경우에는 Mg²⁺ 단독이온용액에서의 흡착능 보다 급격히 저하됨을 알 수 있다. 이것은 Table 3의 Kd 값의 차이에 기인하는 것으로, 결국 Ca²⁺ 이온과 Mg²⁺ 이온 사이에 흡착능 차이가 있다는 것은 Ca²⁺ 이온과 Mg²⁺ 이온의 선택적 흡착 분리가 가능함을 시사해 주고 있다.

Fig. 10는 CM-chitin에 Mg²⁺ 이온을 흡착시킨 Mg²⁺-CM-chitin complex 0.15 g을 100 ppm의 Ca²⁺ 이온용액에 넣었을 때, 탈착되는 Mg²⁺ 이온양과 흡착된 Ca²⁺ 이온양을 시간변화에 따라 나타낸 것으로, 시간이 지남에 따라 CM-Chitin에 흡착되어 있던 Mg²⁺ 이온이 Ca²⁺ 이온이 있는 곳에서 방출되며, 이는 CM-

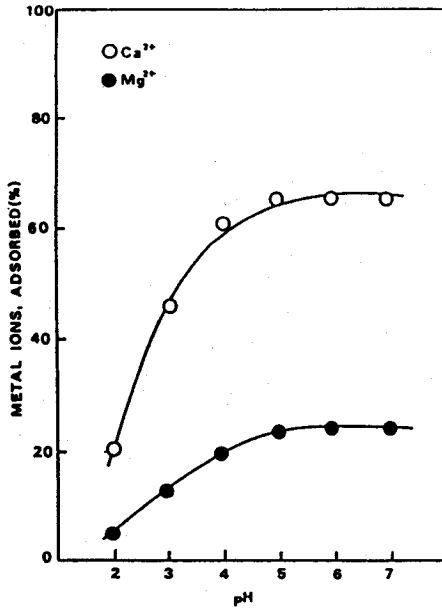


Fig. 8. The effect of pH on Ca²⁺ and Mg²⁺ ion uptake in Ca²⁺ - Mg²⁺ mixed solution by CM-chitin.

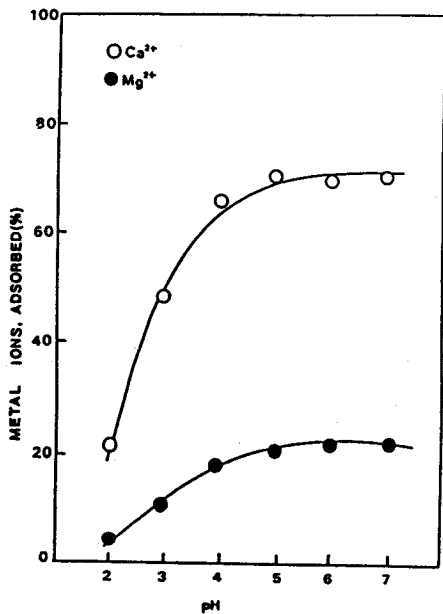


Fig. 9. The effect of pH on Ca²⁺ and Mg²⁺ ion uptake in Ca²⁺ - Mg²⁺ mixed solution by CM-chitin (Na-type).

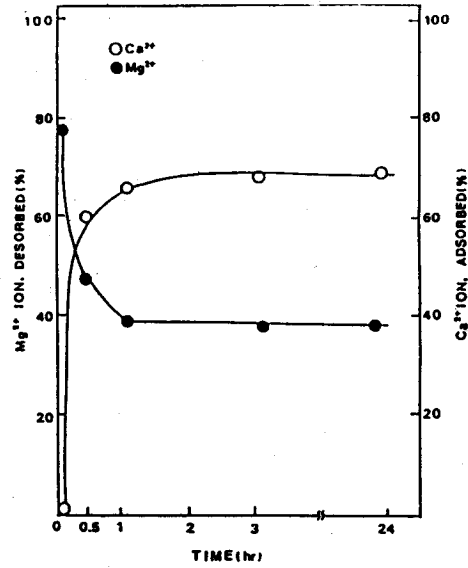


Fig. 10. Rates of Mg²⁺ desorption and Ca²⁺ adsorption by CM-chitin-Mg²⁺ complex in the Ca²⁺ solution. Concentration of Ca²⁺ solution was 100 ppm, pH 5.

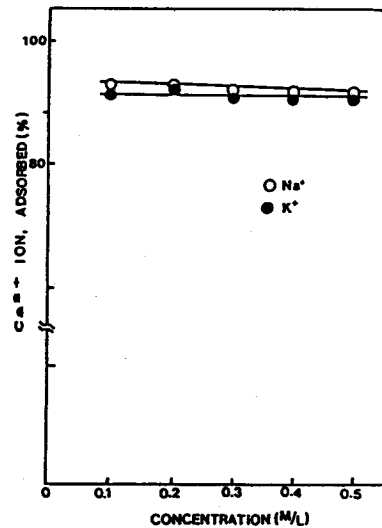


Fig. 12. Effect of concentrations of NaNO₃, KNO₃ on the Mg²⁺ adsorption by CM-chitin. Concentration of Mg²⁺ in the adsorption solution was 100 ppm and contact time, 24 hr.

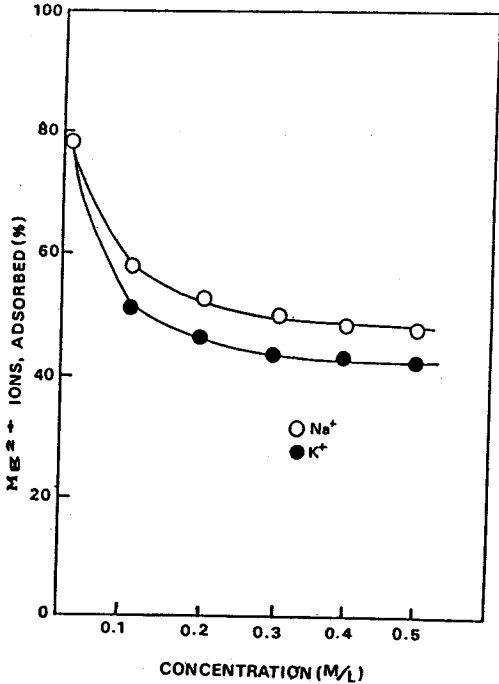


Fig. 11. Effect of concentrations of NaNO_3 , KNO_3 on the Ca^{2+} adsorption by CM-chitin. Concentration of Ca^{2+} in the adsorption solution was 100 ppm and contact time, 24 hr.

chitin에 대한 Mg^{2+} 이온의 안정도 상수가 Ca^{2+} 이온보다 낮기 때문인 것으로 추정된다.

다른 이온농도가 높은 용액으로부터의 금속이온 흡착에 관한 기초 자료를 얻기위해, 100ppm의 Ca^{2+} , Mg^{2+} 이온용액에 NaNO_3 , KNO_3 를 여러 농도로 공존시켜 특정금속이온에의 영향을 검토하여 보았다 (Fig. 11, Fig. 12). Ca^{2+} 이온의 경우 공존양이온의 영향을 받지 않는 반면, Mg^{2+} 이온의 흡착은 공존양이온의 영향을 받음을 알 수 있었다.

4. 결 론

수산계 폐기물인 게껍질로부터 chitin을 단리한 후 chitin 단위 구조의 C-6 위치의 히드록시기에 카르복실기를 도입하여 carboxymethyl chitin을 제조한 후, 이에 대한 Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} 등 알칼리 토금속 이온들의 흡착특성을 pH 변화에 따라 batch 법으로

비교 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Chitin계 고분자의 일반적인 흡착특성처럼 pH가 증가함에 따라 흡착능이 증가하는 경향을 보였다.
2. 알칼리 토금속이온들 중 Ca^{2+} 이온에 대하여 특히 우수한 흡착능을 보였다.
3. Ca^{2+} 이온의 흡착은 1시간 이내의 극히 짧은 시간에 평형에 도달하였다.
4. Ca^{2+} 와 Mg^{2+} 혼합이온용액에서의 흡착능을 검토해 본 결과 Ca^{2+} 이온의 흡착능이 Mg^{2+} 이온에 비하여 월등히 높아, Ca^{2+} 이온에 대한 선택적 분리가 가능함을 알 수 있었다.
5. CM-chitin에 Mg^{2+} 이온을 흡착시킨 Mg^{2+} -CM-chitin complex를 Ca^{2+} 이온용액에 넣었을 때, 수지에 흡착되어 있던 Mg^{2+} 이온이 방출되었으며 이는 낮은 안정도상수에 기인하는 것이라 생각된다.
6. Na^+ , K^+ 등의 공통양이온 존재시 Mg^{2+} 이온의 경우 이들의 영향을 받았고, Ca^{2+} 이온의 경우 공통양이온의 존재에 관계없이 높은 흡착능을 보였다.

본 연구는 89년도 교육부 신소재 분야 연구지원(Ministry of Education Research Fund for Advanced Materials)에 의해 이루어졌습니다. 이에 감사드리는 바입니다.

참 고 문 헌

1. K. Kurita, 化學の領域, **35**(12), 927(1981).
2. R. A. A. Muzzarelli, "Natural Chelating Polymer", Pergamon, New York(1973).
3. R. A. A. Muzzarelli, "Chitin", Pergamon, New York(1977).
4. S. Mima, M. Miya, R. Iwamoto, and S. Yosikawa, J. Appl. Polym. Sci., **28**, 1909(1983).
5. R. A. A. Muzzarelli and O. Tubertini, Talanta, **16**, 1571(1969).
6. S. Hirano, Y. Kondo, and Y. Nakzawa, Carbohydrate Research, **100**, 431(1982).
7. R. Maruka, B. J. Suder, and J. P. Wightman, J. Appl. Polym. Sci., **27**, 4827(1982).

8. Y. Uraki and S. Tokura, *J. Macromol. Sci. Chem.*, **A25**, 1427(1988).
9. S. Tokura, N. Nishi, A. Tsutsumi, and O. Somorin, *Polym. J.*, **15**, 485, (1983).
10. T. Imoto, K. Hayashi, and M. Funatsu, *J. Biochem.*, **64**, 387(1968).
11. G. Manecke, Hoheller, *Macromol. Chem.*, **15**, 51 (1962).
12. Y. Kosaka, and A. Shimizu, *Toso Kenkyu Hokoku*, **2**, 206(1958).
13. S. Tokura, S. Nishimura, and N. Nishi, *Polym. J.*, **15**, 597(1983).
14. T. Miyazaki and Y. Matsushima, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **41**, 2754(1968).