

報 文

イオンの水相 | 有機相界面移動に及ぼす水相中の高濃度シヨ糖、
尿素の影響泉本 賢治¹, 糟野 潤¹, 吉田 裕美¹, 木原 壯林^{®1}Effect of highly concentrated sucrose and urea in aqueous solution
on the ion transfer at the aqueous|organic solution interfaceKenji IZUMOTO¹, Megumi KASUNO¹, Yumi YOSHIDA¹ and Sorin KIHARA¹¹ Department of Chemistry, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606-8585

(Received 23 May 2003, Accepted 13 June 2003)

Voltammograms for transfers of various ions from an aqueous solution, *W*, to 1,2-dichloroethane, *DCE*, in the presence of highly concentrated sucrose (up to 2.4 mol dm⁻³) or urea (up to 9.8 mol dm⁻³) in *W* were successfully recorded by employing a micro *W*|*DCE* interface. It was found based on the analysis of voltammograms observed that the highly concentrated sucrose or urea gave considerable influences on the diffusion of alkylsulfonate, alkali metal, alkaline earth metal or halide ions and the long-distance interaction between an ion and water. This result could be attributed to the effect of sucrose or urea on the viscosity and the relative dielectric constant of *W*. On the other hand, the Stokes radius of an ion in *W*, the formation energy of a cavity to dissolve a neutral molecule in *W* and the short-distance interaction between an ion and water molecules were not significantly influenced by sucrose or urea added in *W*, which does not support the view that sucrose or urea works as a structure-forming or -breaking agent, respectively. It was also found that the effect of urea on the denaturation of a protein in *W* was similar to that on the formation energy of a cavity in *W*.

Keywords : voltammetry for ion transfer; micro aqueous|organic interface; highly concentrated sucrose or urea; water structure; hydration of an ion.

1 緒 言

シヨ糖は常温で約 2.6 M (= mol dm⁻³) まで水に溶解し、そのときの粘性率 (η) は純水の約 100 倍と極めて大きく、Jones-Dole 式の *B* 係数は正の値 ($B = 0.8786$) を示す¹⁾。一方、尿素は約 12 M 溶解する²⁾が、10 M の尿素を含む水溶液であっても η は純水の約 2 倍程度である。Jones-Dole 式の *B* 係数も正ではある ($B = 0.035$) が、シヨ糖の場合ほど大きくない¹⁾。また、高濃度尿素の添加は疎水性分子の溶解度を増大させ³⁾、水素結合を切断してタンパク質を変性させる⁴⁾。上記のような水溶液の物性から、シヨ糖は水構造の形成剤、尿素は水構造の破壊剤とされている¹⁾²⁾。

しかし、比誘電率 (ϵ) の視点からは逆となる。2.6 M シヨ糖水溶液の ϵ は 54.3⁵⁾、8 M 尿素水溶液の ϵ は 96.58⁶⁾で、 ϵ からは、シヨ糖は水構造破壊剤、尿素は水構造形成剤と考えられる。以上を総合すると、高濃度のシヨ糖や尿素の添加された水の溶液化学的物性については議論の余地があるといえる。

いま、シヨ糖や尿素の添加によって水構造が大きく変化するなら、水溶液中に溶存するイオンや分子の水和の様式も変化するの、このことは分離化学、分析化学に活用できると考えられる。

本研究では、種々の濃度のシヨ糖あるいは尿素を含む水相 (*W*) から組成一定の有機相 (*O*) へのイオン移動を微小界面での液液界面イオン移動ボルタンメトリー (VITIES)⁷⁾⁸⁾ によって調べ、各種イオンの水和に及ぼす高

¹ 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科: 606-8585 京都市左京区松ヶ崎御所海道町

濃度のショ糖や尿素の効果を明らかにした。VITIES は、単イオンの $W|O$ 界面移動について、移動自由エネルギー (ΔG_{tr}) を $W|O$ 界面電位差とし、移動量を界面を横切る電流として測定する手法で、極めて信頼性の高い ΔG_{tr} 評価法の 1 つである^{9)~11)}。したがって、通常の面積の界面での VITIES あるいは類似の方法は、既に 1.7 M までのショ糖を含む W と O の界面でのイオン移動反応の研究に適用されている^{12)~14)}。しかし、ショ糖水溶液の η は 2 M 付近から急激に増加するなど (Fig. 3(a) 参照)、水の構造は 2 M 以上のショ糖を加えたときに大きく変化すると予想されるから、1.7 M までの研究は、高濃度溶液のものとは言い難い。通常の VITIES で高濃度ショ糖水溶液についての研究がない理由は、ショ糖濃度を高くすると溶液の η が極端に大きくなり、イオンの拡散速度が減少して溶液抵抗が増加し、それによって生じるオーム降下が電気化学測定を妨げたため、及び測定対象イオンの拡散が遅く、移動電流が極めて小さくなったためと考えられる。本研究で採用した微小界面での VITIES では、界面を流れる電流が極めて小さいのでオーム降下を避けることができ、微小界面では球面拡散が生じるため電流密度が大きいので⁷⁾⁸⁾、2 M 以上のショ糖を含む W と O の界面でもイオン移動ボルタモグラムを測定し、これを解析することができた。本研究では、イオンの水和に及ぼす 9.8 M までの尿素の影響についても微小界面 VITIES で調べた。

2 実 験

2.1 微小液液界面イオン移動ボルタモグラム測定法

Fig. 1 に微小液液界面イオン移動ボルタモグラム測定用セルを模式的に示した。セルは、ガラス製の 2 室が半径 (r) 15 μm の微小孔をもつ厚さ 16 μm のポリエステル薄膜によって隔てられた構造になっている。2 室にそれぞれ 5 ml の W と 5 ml の O を加えると、微小孔の W 側に $W|O$ 界面が形成される。本研究では O として 1,2-dichloroethane (DCE) を採用した。

微小 $W|DCE$ 界面イオン移動ボルタモグラムは、式 (1) のようなセル構成で測定した。 W 中には目的イオン (i)、支持電解質である MgSO_4 及びショ糖あるいは尿素が加えられている。 DCE 中には、支持電解質である bis(triphenylphosphoranylidene)ammonium tetrakis[3,5-bis-(trifluoromethyl)phenyl]borate ($\text{BTTPA}^+\text{TFPB}^-$) 及び必要な場合には、イオノホアが加えてある。

TPhAsE	10^{-3} M	10^{-3} M i ,	SSE	
	$\text{BTTPA}^+\text{TFPB}^-$	0.01 M MgSO_4 ,		
		0~2.4 M sucrose		(1)
		or 0~9.8 M urea		
(DCE)	(DCE)	(W)	(W)	

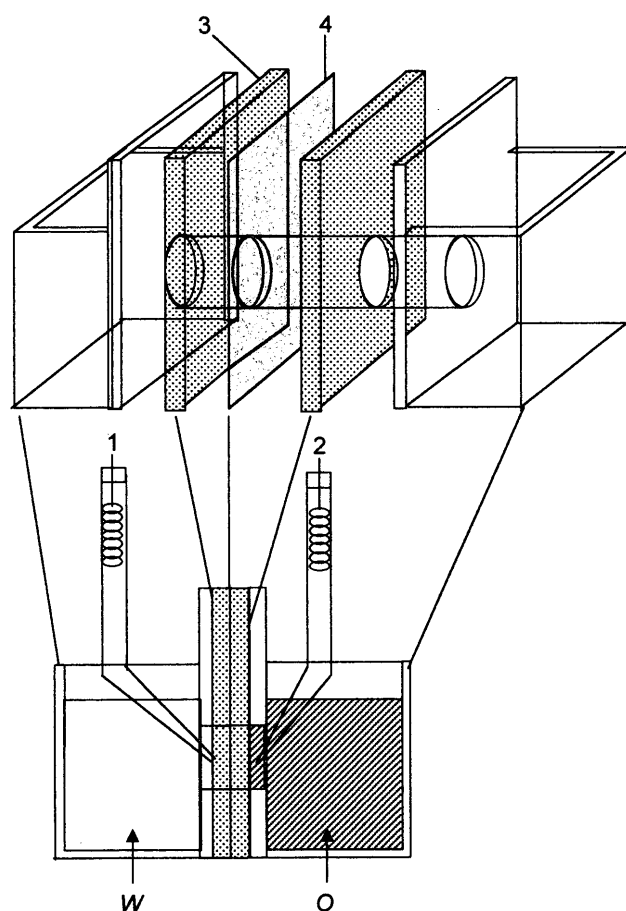


Fig. 1 Electrolytic cell made of glass for voltammetric measurement of ion transfer at the micro aqueous (W)|organic (O) solution interface

1: silver|silver chloride electrode used as a reference/counter electrode in W ; 2: tetraphenylarsonium ion selective electrode worked as a reference/counter electrode in O ; 3: silicon plate used to fix polyester film; 4: polyester film of 16 μm in thick with a micro-hole of 30 μm in diameter

測定では、界面の近傍に設置された 2 本の参照電極兼対極 (W 中の RE_W , DCE 中の RE_O) によって印加した $W|DCE$ 界面電位差を走査し、界面を移動するイオン量を電流として記録した。ここで、 RE_W は塩化銀で被覆した銀線を 1 M LiCl 水溶液に浸した銀|塩化銀電極 (SSE), RE_O はそれぞれ 0.05 M tetraphenylarsonium イオンを含む W 及び DCE で構成された tetraphenylarsonium イオン選択性電極¹⁵⁾ (TPhAsE) であり、以後、電位は TPhAsE を基準として測定した。ここで、各参照電極と溶液の間には液間電位差が生じ、特に RE_W と W の間のそれは W 中のショ糖や尿素の濃度に依存すると考えられるが、本研究ではこのことを無視した。なお、 W 中の支持電解質として通常は 0.01 M MgSO_4 を用いたが、 DCE に加えた bis-(diphenylphosphinyl)ethane (BDPPE) によって促進された Ca^{2+} の W から DCE の移動の観察に当たっては、 MgSO_4

の代わりに 10^{-3} M 塩化アルギニンを用いた。これは、 Mg^{2+} の移動も BDPPE によって促進されるからである。

2.2 粘性率の測定

本研究が遂行された温度 (25°C) 及び濃度範囲でのショ糖あるいは尿素水溶液の η を系統的に報告した文献を見いだせなかったので、 η をオストワルド型粘度計を用いて測定した。このとき、 η は水のそれ¹⁶⁾を基準とした相対値として求めた。

ボルタモグラム測定及び粘性率測定は $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で行った。

2.3 試薬

支持電解質アニオンである TFPB^- の Na^+ 塩は、Grignard 反応によって合成し¹⁷⁾、DCE 中での Na^+ TFPB^- と不純物の溶解度の差を利用して精製した⁸⁾。TPhAs⁺ の硫酸塩 $[(\text{TPhAs}^+)_2\text{SO}_4^{2-}]$ は、W 中の $\text{TPhAs}^+\text{Cl}^-$ を Ag_2SO_4 で滴定することによって得た¹⁸⁾。TPhAs⁺ の tetraphenylborate 塩 ($\text{TPhAs}^+\text{TPhB}^-$) と $\text{BTPPA}^+\text{TFPB}^-$ は既報に従って合成した⁸⁾¹⁹⁾。W 中の支持電解質として用いた塩化アルギニンは、アルギニン水溶液に HCl を pH が 7 になるまで加えて調製した。BDPPE は bis(diphenylphosphino)ethane を過酸化水素で酸化して調製し、トルエンより 3 回再結晶して精製した。Dibenzo-18-crown-6 (DB18C6: Tokyo Kasei, No. FCQ02) 中の不純物は、DB18C6 を DCE 中に溶解後、蒸留水と振り混ぜる操作を 3 回繰り返して除去した。DCE は文献に従って精製し²⁰⁾、電気化学測定に用いる前に蒸留水と 3 回振り混ぜて水を飽和させた。DCE の電気伝導度は $10^{-8} \text{ S cm}^{-1}$ 以下であった。用いた牛血清アルブミンは 1 級試薬 (Wako, No.011-07493)、その他の試薬については、市販の特級品を用いた。

3 結果及び考察

3.1 W から DCE へのイオン移動ボルタモグラム

Fig. 2 は 10^{-3} M $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{SO}_3^-$ 及び 0.01 M MgSO_4 (支持電解質) を含む W と 10^{-3} M $\text{BTPPA}^+\text{TFPB}^-$ (支持電解質) を含む DCE の界面で測定した微小界面イオン移動ボルタモグラムである (以後、単にボルタモグラムと呼ぶ)。0.125 V に半波電位 ($E_{1/2}$) を持つ負電流波が観察された。これは $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{SO}_3^-$ の W から DCE への移動に起因する。この移動波は、0 V より負電位領域で一定の電流 (定常電流: I_{ss} と呼ぶ) を与えるが、 I_{ss} は $5 \times 10^{-5} \sim 2 \times 10^{-3}$ M の範囲で $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{SO}_3^-$ 濃度に比例した。ここで、通常の面積の界面でのイオン移動波はピーク状になるが、微小界面では定常電流となるのは、微小界面での物質移動が線形拡散でなく球面拡散によって律速されるから

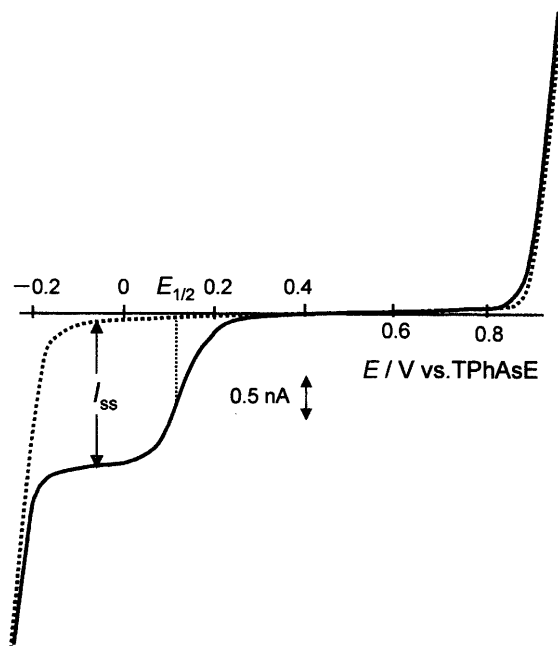


Fig. 2 An example of ion transfer voltammogram at the micro W/O interface

W contained $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3} \text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{SO}_3^-$ and $0.01 \text{ mol dm}^{-3} \text{MgSO}_4$ as a supporting electrolyte; O was 1,2-dichloroethane, DCE, and contained $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ bis(triphenylphosphoranylidene)ammonium tetrakis[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]borate, $\text{BTPPA}^+\text{TFPB}^-$, as a supporting electrolyte; Scan-rate of the potential difference; 0.005 V s^{-1}

である⁷⁾⁸⁾。 I_{ss} は、 z , F , D_w , r , C をそれぞれイオンの電荷、ファラデー定数、W 中での目的イオンの拡散係数、微小 W/O 界面の半径、目的イオンの濃度として、次式で表される⁷⁾⁸⁾。

$$I_{ss} = 4zFD_w r C \quad (2)$$

界面電位差 (E) と界面イオン移動電流 (I) の関係及び $E_{1/2}$ は、それぞれ式 (3), (4) で表される⁷⁾⁸⁾。

$$E = E^0 + (RT/zF) \ln(D_w/D_o) \{ (4d/\pi r) + 1 \} + (RT/zF) \ln[I/(I_{ss} - I)] \quad (3)$$

$$E_{1/2} = E^0 + (RT/zF) \ln(D_w/D_o) + (RT/zF) \ln[(4d/\pi r) + 1] \quad (4)$$

ここで、 d , T , D_o , E^0 はそれぞれポリエステル薄膜の厚さ、絶対温度、O 中のイオンの拡散係数及び標準ガルバニ電位差である。 E^0 を O に対する W の電位差とすると、イオンの W から O への移動に対応する標準イオン移動自由エネルギー (ΔG_{tr}^0) と式 (5) の関係にある。

$$E^0 + \text{const.} = \Delta G_{tr}^0 / zF \quad (5)$$

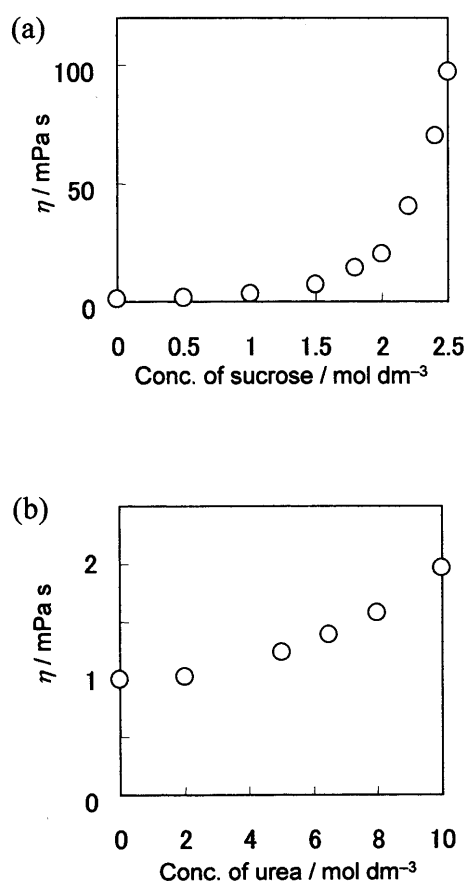


Fig. 3 Relation between viscosity, η , of W and the concentration of (a) sucrose or (b) urea in W

const. は参照電極電位などを含む定数である。

上述の式は、O の組成を一定にして W 中のシヨ糖や尿素の濃度を変化させてボルタモグラムを測定し、 I_{ss} から評価した D_w によって $E_{1/2}$ を補正すれば、シヨ糖や尿素の及ぼす E^0 及び ΔG_r^0 への影響を評価できることを示す。

3.2 W 中でのイオンのストークス半径に及ぼす高濃度のシヨ糖あるいは尿素の影響

Fig. 3 は、シヨ糖あるいは尿素を含む水溶液について、 η とシヨ糖あるいは尿素の濃度の関係を示したものである。

Fig. 4 には、 Na^+ 、 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$ 、 Br^- 、 I^- 、 ClO_4^- の W から DCE への移動を示すボルタモグラムの I_{ss} とシヨ糖あるいは尿素を含む W の η との関係が示してある。ここで、 I_{ss} は 10^{-3} M の移動イオンを W に加えて測定した。また Na^+ の測定では、DCE に 0.01 M DB18C6 を加えて測定した。 I_{ss} の測定精度は $\pm 3\%$ 以内 (5 回測定) であった。

拡散係数 D と η との関係は、 k 及び r_s をボルツマン定数及びイオンのストークス半径として、次の Einstein-Stokes 式によって表される。

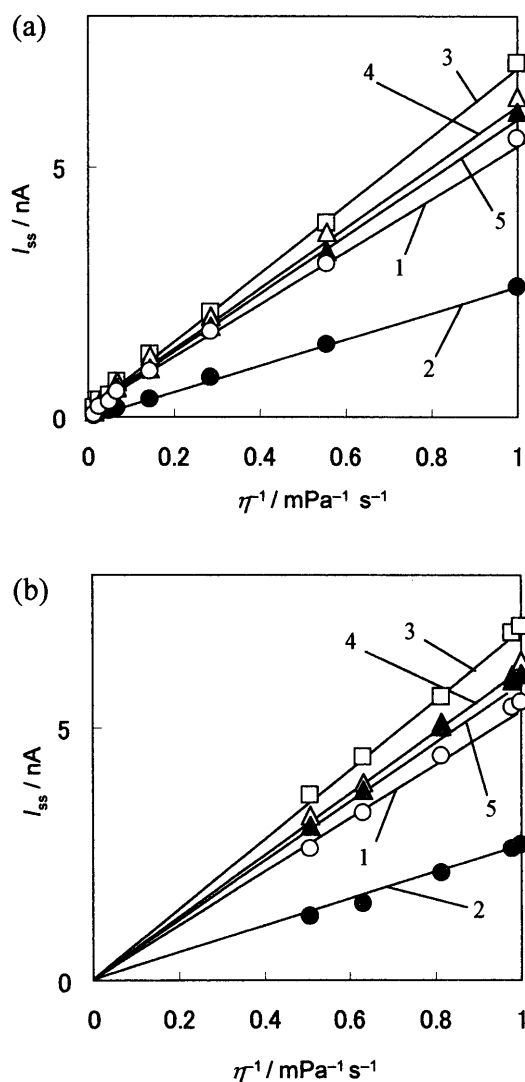


Fig. 4 Relation between η of W in the presence of (a) sucrose or (b) urea in W and steady state currents, I_{ss} , in voltammograms for transfers of Na^+ (curve 1), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$ (curve 2), Br^- (curve 3), I^- (curve 4) and ClO_4^- (curve 5) from W to DCE

W contained 10^{-3} mol dm^{-3} of an objective ion, 0.01 mol dm^{-3} MgSO_4 and various concentrations of sucrose or urea; DCE contained 10^{-3} mol dm^{-3} BTTPA⁺TFPB⁻

$$D = kT/6\pi r_s \eta \quad (6)$$

いま T を一定とすれば、 $kT/6\pi$ は定数であるので、 D は r_s と η に依存する。シヨ糖や尿素を W に添加しても r_s が変化しないのであれば、 D 及び I_{ss} {式(2) 参照} は η の逆数に比例するはずである。

Fig. 4 から明らかなように、 Na^+ 、 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$ 、 Br^- 、 I^- 、 ClO_4^- の W から DCE への移動を示すボルタモグラムの I_{ss} は、シヨ糖あるいは尿素水溶液の η の逆数と比例関係にあった。このことは、共存するシヨ糖の濃度を 2.4 M まで、尿素の濃度を 9.8 M まで変化させても、 Na^+ 、 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$ 、 Br^- 、 I^- 、 ClO_4^- の r_s は変化しないこと

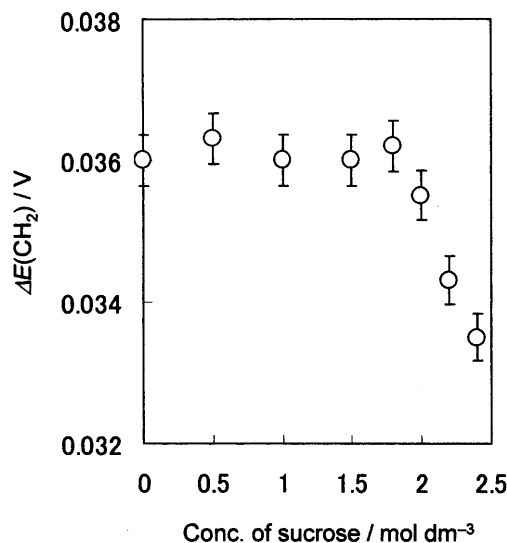


Fig. 5 Effect of sucrose in *W* on $\Delta E(\text{CH}_2)$ which corresponds to the transfer energy of CH_2 from *W* to *DCE*

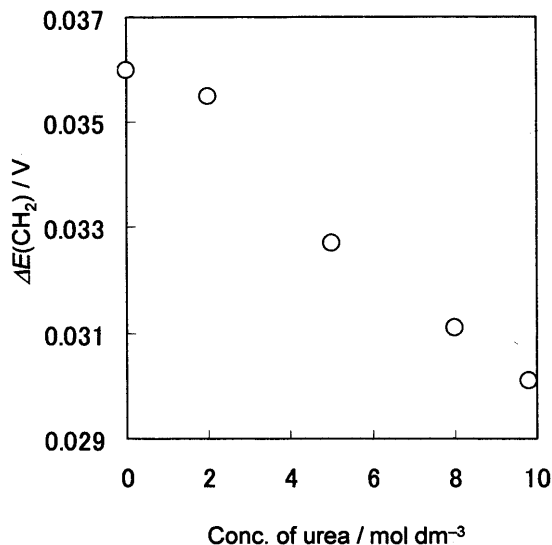


Fig. 6 Effect of urea in *W* on $\Delta E(\text{CH}_2)$ which corresponds to the transfer energy of CH_2 from *W* to *DCE*

を示す.

上記のほか, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{SO}_3^-$ ($n=5\sim 8$), Ca^{2+} についても同様に, 2.4 M までのシヨ糖, 9.8 M までの尿素の共存によっても r_s は変化しないことを確認した.

3.3 中性種の *W/O* 間移動に及ぼす高濃度シヨ糖あるいは尿素の影響

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{SO}_3^-$ の電荷は, CH_2SO_3^- 部分に偏在し, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{n-1}$ 部分は電気的に中性と見なされる. いま, CH_2 の個数 (n) の異なった $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{SO}_3^-$ の *W/DCE* 界面移動電位を測定し, その差をとれば, 電気的に中性な部分 (CH_2) の移動エネルギーを評価できる¹¹⁾. 一般に, CH_2 のような中性部分を水溶液へ溶解させるために必要なエネルギーは, 中性部分の大きさに見合った空孔を, 水分子間の水素結合を断ち切って, 水溶液中に形成するためのエネルギーと等価であると考えられている²¹⁾. したがって, この空孔形成に要するエネルギーを評価すれば, 水分子間の水素結合の強さを評価できると期待される.

そこで, $n (=4\sim 8)$ の異なる $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{SO}_3^-$ の *W* から *DCE* への移動ボルタモグラムを測定し, 観察された負電流波の $E_{1/2}$ を n に対してプロットしたところ, *W* 中に共存させたシヨ糖や尿素の濃度によらず直線となった. この直線の傾きは, n を 1 変化させたときの $E_{1/2}$ の変化, すなわち CH_2 1 個を *W* から *O* に移動させるために要する電位差の大きさ {以後, $\Delta E(\text{CH}_2)$ と記す} を示す. なお, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{SO}_3^-$ の移動波の $E_{1/2}$ は, *W* がシヨ糖や尿素を含まない場合, $n=4$ のとき -0.020 V, $n=8$ のとき 0.125 V, *W* が 2.4 M のシヨ糖を含む場合, $n=4$ のとき 0.122 V, $n=8$ のとき 0.255 V, *W* が 9.8 M の尿素を含む場合, $n=4$ のとき -0.025 V, $n=8$ のとき 0.096 V であった.

Fig. 5 は, $\Delta E(\text{CH}_2)$ が *W* 中に共存するシヨ糖の濃度によって変わる様子を示したものである. シヨ糖の濃度が約 1.8 M より低いとき, $\Delta E(\text{CH}_2)$ はほぼ一定 (約 0.036 V; 約 3.5 kJ mol^{-1} に相当) であったが, 1.8 M 以上になると小さくなり, 2.4 M では約 0.033 V (約 3.2 kJ mol^{-1} に相当) であった. これは, 高濃度シヨ糖が共存すると CH_2 は *W* 中で安定化され, *O* に移動し難くなることを示す.

上述のように, 中性分子の水溶液への溶解エネルギーは, 水溶液中での空孔形成エネルギーと等価であると考えられている. したがって, もしシヨ糖の添加によって水溶液の構造形成が進むとするなら, 空孔形成エネルギーが大きくなり, シヨ糖によって CH_2 のような中性部分は *W* 中で不安定となり, *O* 側へ排除されやすくなると考えられる. しかし, 実験結果は逆で, 2.4 M シヨ糖は CH_2 を *W* 中に若干 (約 0.3 kJ mol^{-1}) 安定化させた.

Fig. 6 に, $\Delta E(\text{CH}_2)$ が *W* 中に共存する尿素の濃度によって変わる様子を示した. 尿素の濃度が約 2 M 以上になると, $\Delta E(\text{CH}_2)$ は約 0.036 V (約 3.5 kJ mol^{-1} に相当) からほぼ直線的に小さくなり, 9.8 M では約 0.030 V (約 2.9 kJ mol^{-1} に相当) であった. これは, CH_2 は高濃度尿素が共存すると *W* 中で安定化し, *O* に移動し難くなることを示す. この結果は, 尿素が水素結合を切断して, タンパク質を変性させるあるいは水の構造を破壊するという考え²²⁾と符合する.

なお, ここではシヨ糖や尿素の $\Delta E(\text{CH}_2)$ に及ぼす影響を水の構造の形成や破壊のみによって議論したが, CH_2 部分とシヨ糖や尿素の間には親和的な相互作用が働き, CH_2 部分を *W* 中に安定化させる可能性もあるので今後の検討を要する.

3・4 イオン-水間の遠距離相互作用, イオン-水分子間の近距離相互作用に及ぼす W 中の高濃度シヨ糖あるいは尿素の影響

イオンを水に溶解するために必要なエネルギー {イオンの溶媒和ギブスエネルギー (ΔG_s^0)} は, イオンがあまり大きくない場合, 主としてイオン-水間に遠距離で働く静電的相互作用 { $\Delta G_s^0(\text{el})$ } 及びイオンと水分子間に近距離で働くドナー-アクセプター相互作用 { $\Delta G_s^0(\text{sr})$ } で構成され, 前節で述べた空孔形成エネルギーの寄与は小さい¹¹⁾²¹⁾. ここでは, イオンの $\Delta G_s^0(\text{el})$ 及び $\Delta G_s^0(\text{sr})$ に及ぼす高濃度シヨ糖あるいは尿素の影響を評価した.

3・4・1 イオンの水和に及ぼすシヨ糖の影響 小さなカチオンである Na^+ のシヨ糖水溶液から 0.01 M DB18C6 を含む DCE への移動を示すボルタモグラムを記録した.

W がシヨ糖を含まないとき, DB18C6 によって促進された Na^+ の移動波 (正電流波) の $E_{1/2}$ は 0.542 V に観察された. この $E_{1/2}$ は, Fig. 7 に曲線 1 としてプロットしたように, シヨ糖濃度が高くなるほどより負となった.

Fig. 7, 曲線 2 は, 実測した $E_{1/2}$ に与える D_w の影響を式 (4) に従って補正して得られた値 (以後, D_w で補正した $E_{1/2}$ と呼ぶ) をプロットしたものである. このとき, D_w は W の η と式 (6) によって評価した. 本実験では, 式 (4) 中の右辺第 3 項及び D_0 は一定であるので, D_w で補正した $E_{1/2}$ の変化は E^0 の変化を直接反映する. 曲線 2 は, 2.4 M までシヨ糖を添加しても Na^+ の E^0 (したがって ΔG_s^0) はあまり変化しないことを示している.

次に, シヨ糖水溶液の ϵ はシヨ糖濃度に大きく依存するので⁵⁾, Na^+ と水間の $\Delta G_s^0(\text{el})$ に及ぼすシヨ糖の影響を, ϵ , 結晶イオン半径 (r_c), z の関数である次のボルン式²³⁾で評価した.

$$\Delta G_s^0(\text{el}) = (z^2 e^2 N / 2r_c) \{ (1/\epsilon) - 1 \} \quad (7)$$

ここで, e は電気素量, N はアボガドロ数である. シヨ糖の $\Delta G_s^0(\text{el})$ への寄与は, 式 (7) にシヨ糖を含む W の ϵ を代入したときの $\Delta G_s^0(\text{el})$ とシヨ糖を含まない W の ϵ ($=80$) を代入したときの $\Delta G_s^0(\text{el})$ の差 { $\Delta \Delta G_s^0(\text{el})$ } によって表される. なお, 式 (7) は種々の仮定のもとに誘導された原理的な式であるが, 本研究では, この式によっても $\Delta G_s^0(\text{el})$ を半定量的には評価できると考えた.

Fig. 7, 曲線 3 は, 曲線 2 のプロット (D_w で補正した $E_{1/2}$) から $\Delta \Delta G_s^0(\text{el})$ に相当する電位 { ΔE : 式 (5) 参照} を差し引いたものである. 曲線 2 と 3 の差 (ΔE) が $\Delta G_s^0(\text{el})$ に及ぼすシヨ糖の影響を示し, シヨ糖を加えないときの $E_{1/2}$ (破線) と曲線 3 との差が溶媒和エネルギーのうち 1 つの成分であるドナー-アクセプター近距離相互作用 { $\Delta G_s^0(\text{sr})$ } に及ぼすシヨ糖の影響を示す.

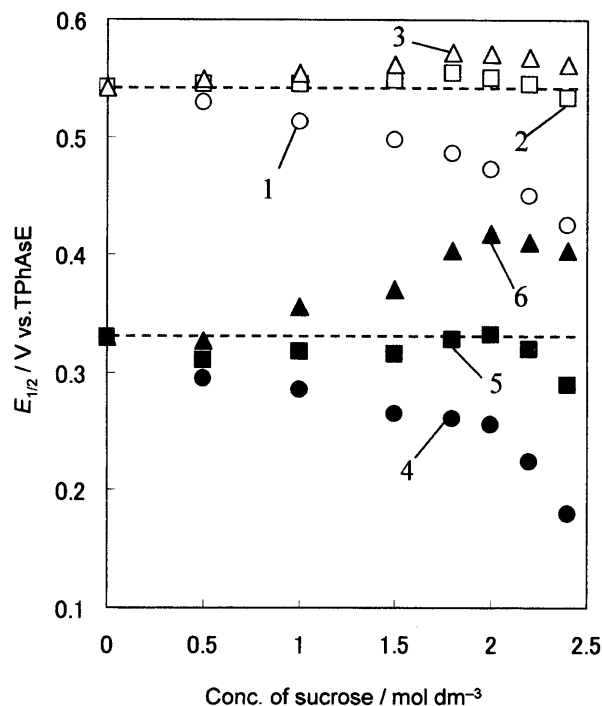


Fig. 7 Dependence of half-wave potentials, $E_{1/2}$, of voltammograms for transfers of Na^+ (curves 1 to 3) and Ca^{2+} (curves 4 to 6) from W in the presence of various concentrations of sucrose to DCE

W contained $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ of Na^+ or $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ Ca^{2+} , 0.01 mol dm^{-3} MgSO_4 (for Na^+) or $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ arginine hydrochloride (for Ca^{2+}) and sucrose; DCE contained 0.01 mol dm^{-3} dibenzo-18-crown-6, DB18C6, (for Na^+) or 0.02 mol dm^{-3} bis(diphenylphosphinyl)ethane, BDPPE, (for Ca^{2+}) and $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ $\text{BTPPA}^+ \text{TFPB}^-$; Curves 1 and 4: observed experimentally; Curves 2 and 5: after correction for diffusion coefficients; Curves 3 and 6: after corrections for both diffusion coefficients and long-distance interactions

Fig. 7, 曲線 1~3 の結果は, 2.4 M のシヨ糖の添加によって, Na^+ の $\Delta G_s^0(\text{el})$ は 2.7 kJ mol^{-1} (0.028 V 相当) 小さくなり, $\Delta G_s^0(\text{sr})$ は 1.9 kJ mol^{-1} (0.020 V 相当) 大きくなるので, 結局, Na^+ の ΔG_s^0 はシヨ糖の影響を受けないことを示す.

Fig. 7, 曲線 4~6 は, Na^+ 及び DB18C6 の代わりに 10^{-4} M Ca^{2+} 及び 0.02 M BDPPE を用いて曲線 1~3 と同様な検討を行った結果を示す. BDPPE によって促進された Ca^{2+} の移動波 (正電流波) の $E_{1/2}$ は, W がシヨ糖を含まないとき 0.330 V に観察され, シヨ糖濃度が高くなるほどより負となった (曲線 4). シヨ糖の影響は, 2 M 以上のとき特に顕著であった. 2.4 M のシヨ糖の添加によって, Ca^{2+} の $\Delta G_s^0(\text{el})$ は 11.0 kJ mol^{-1} (0.114 V 相当) 小さくなり, $\Delta G_s^0(\text{sr})$ は 7.6 kJ mol^{-1} (0.079 V 相当) 大きくなった.

Fig. 8, 曲線 1~3, 4~6 及び 7~9 は, ClO_4^- , I^- 及び

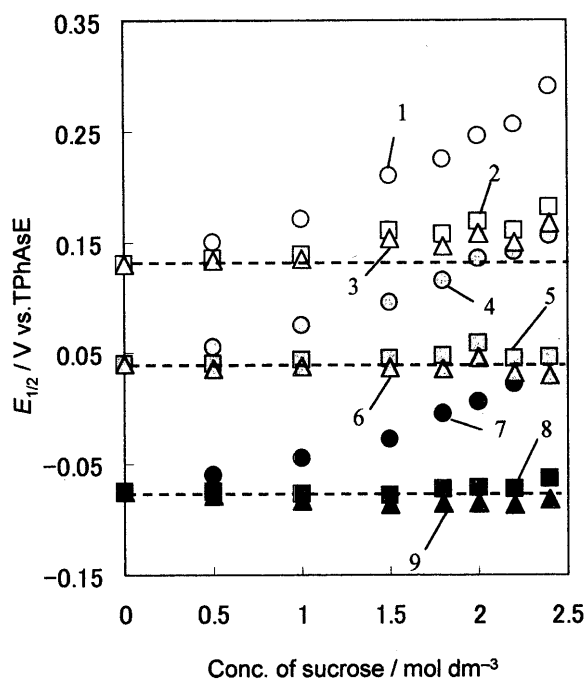


Fig. 8 Dependence of $E_{1/2}$ of voltammograms for transfers of ClO_4^- (curves 1 to 3), I^- (curves 4 to 6) and Br^- (curves 7 to 9) from *W* in the presence of various concentrations of sucrose to *DCE*

W contained $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ of ClO_4^- , I^- or Br^- , 0.01 mol dm^{-3} MgSO_4 and sucrose; *DCE* contained $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ $\text{BTTPA}^+\text{TFPB}^-$; Curves 1, 4 and 7: observed experimentally; Curves 2, 5 and 8: after correction for diffusion coefficients; Curves 3, 6 and 9: after corrections for both diffusion coefficients and long-distance interactions

Br^- の *W* から *DCE* への移動について, Fig. 7, 曲線 1~3 と同様な検討を行った結果である. この検討では, イオノホアは用いていない. 2.4 M のシヨ糖の添加によって, ClO_4^- , I^- , Br^- の $\Delta G_s^0(\text{el})$ はそれぞれ 1.3, 1.5, 1.7 kJ mol^{-1} 小さくなること, ClO_4^- の $\Delta G_s^0(\text{sr})$ は 3.6 kJ mol^{-1} 小さくなり, I^- , Br^- の $\Delta G_s^0(\text{sr})$ は 1.0, 0.7 kJ mol^{-1} 大きくなる.

以上の結果を総合し, 本検討で用いた Na^+ , Ca^{2+} , ClO_4^- , I^- , Br^- の ΔG_s^0 が, -365, -1505, -205, -275, -315 kJ mol^{-1} であること²⁴⁾ を考えると, 2.4 M シヨ糖が水和に与える影響は, 大きくても 2% 程度でしかないと分かった.

3.4.2 イオンの水和に及ぼす尿素の影響 Fig. 9, 10 は, シヨ糖の代わりに尿素を *W* に共存させて, Fig. 7, 8 と同様な検討を行った結果である.

実測の $E_{1/2}$ は, *i* がカチオンの場合, 尿素の影響をやや受けるが (Fig. 9, 曲線 1, 4), *i* がアニオンの場合, 尿素の影響を大きくは受けない (Fig. 10, 曲線 1, 4, 7). また, 尿素水溶液の η は, 9.8 M の尿素を加えたとしても純水のそれと大差がないので, 実測の $E_{1/2}$ (Fig. 9 及び 10,

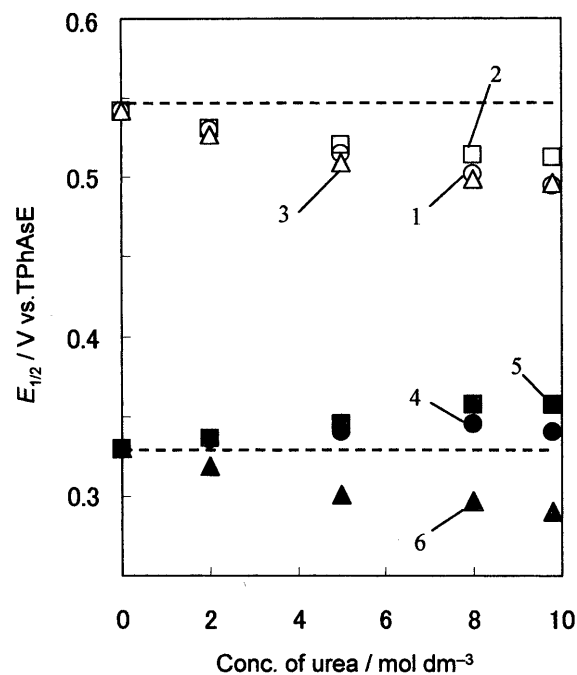


Fig. 9 Dependence of $E_{1/2}$ of voltammograms for transfers of Na^+ (curves 1 to 3) and Ca^{2+} (curves 4 to 6) from *W* in the presence of various concentrations of urea to *DCE*

W contained $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ of Na^+ or $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ Ca^{2+} , 0.01 mol dm^{-3} MgSO_4 (for Na^+) or $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ arginine hydrochloride (for Ca^{2+}) and urea; *DCE* contained 0.01 mol dm^{-3} DB18C6 (for Na^+) or 0.02 mol dm^{-3} BDPPE (for Ca^{2+}) and $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ $\text{BTTPA}^+\text{TFPB}^-$; Curves 1 and 4: observed experimentally; Curves 2 and 5: after correction for diffusion coefficients; Curves 3 and 6: after corrections for both diffusion coefficients and long-distance interactions

曲線 1, 4, 7) と D_w で補正した後の $E_{1/2}$ (Fig. 9 及び 10, 曲線 2, 5, 8) との間には大きな差はない. 更に, ϵ も尿素の影響を大きく受けないため $\Delta G_s^0(\text{el})$ にかかわる影響も特に 1 価イオンについて, 大きくない (Fig. 9, 曲線 3 及び Fig. 10, 曲線 3, 6, 9). 2 価イオンの場合には, $\Delta G_s^0(\text{el})$ が電荷の 2 乗に依存するので, 尿素の影響がやや顕著となる (Fig. 9, 曲線 6).

9.8 M の尿素を加えると, Na^+ の ΔG_s^0 は 3.2 kJ mol^{-1} 減少し, $\Delta G_s^0(\text{el})$ は 1.6 kJ mol^{-1} 大きくなり, $\Delta G_s^0(\text{sr})$ は 4.8 kJ mol^{-1} 小さくなった. Ca^{2+} の ΔG_s^0 は 2.3 kJ mol^{-1} 増大し, $\Delta G_s^0(\text{el})$ は 6.4 kJ mol^{-1} 大きくなり, $\Delta G_s^0(\text{sr})$ は 4.1 kJ mol^{-1} 小さくなった. ClO_4^- の ΔG_s^0 は 0.3 kJ mol^{-1} 小さくなり, $\Delta G_s^0(\text{el})$ は 0.8 kJ mol^{-1} 大きくなり, $\Delta G_s^0(\text{sr})$ は 1.1 kJ mol^{-1} 小さくなった. I^- , Br^- の ΔG_s^0 は 0.2, 0.4 kJ mol^{-1} 増大し, $\Delta G_s^0(\text{el})$ は 0.9, 1.0 kJ mol^{-1} 大きくなり, $\Delta G_s^0(\text{sr})$ は 0.7, 0.6 kJ mol^{-1} 小さくなった.

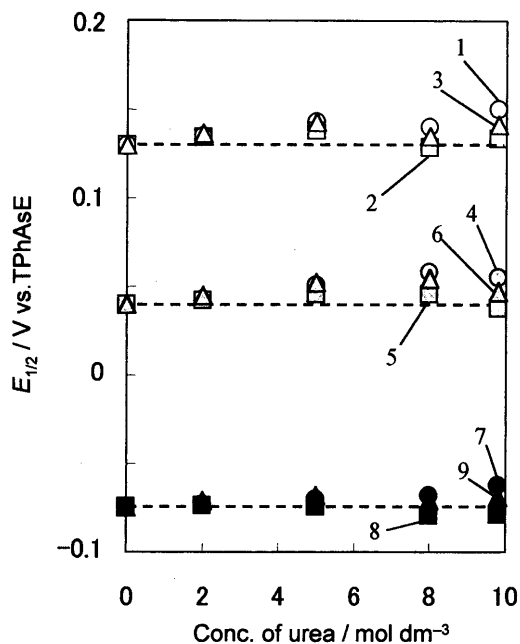


Fig. 10 Dependence of $E_{1/2}$ of voltammograms for transfers of ClO_4^- (curves 1 to 3), I^- (curves 4 to 6) and Br^- (curves 7 to 9) from W in the presence of various concentrations of urea to DCE

W contained $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ of ClO_4^- or Br^- , 0.01 mol dm^{-3} MgSO_4 and urea; DCE contained $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ $\text{BTTPA}^+ \text{TFPB}^-$; Curves 1, 4 and 7: observed experimentally; Curves 2, 5 and 8: after correction for diffusion coefficients; Curves 3, 6 and 9: after corrections for both diffusion coefficients and long-distance interactions

3.5 W中のタンパク質の尿素、シヨ糖による変性と Ca^{2+} のWからDCEへの移動

高濃度の尿素をタンパク質水溶液に加えると、タンパク質が変性することはよく知られている⁴⁾。ここでは、タンパク質の変性によってタンパク質と Ca^{2+} の錯生成定数が変化する様子を、 Ca^{2+} のWから 0.02 M BDPPEを含むDCEへの移動波の $E_{1/2}$ の変化を指標として調べた。Fig. 11, 曲線1は、Fig. 9, 曲線4を再録したもので、 Ca^{2+} の移動波の $E_{1/2}$ に与えるW中の尿素濃度の影響を示している。尿素を添加しても、 Ca^{2+} のWからDCEへの移動は大きな影響を受けない。ここで、Wに 10^{-4} M 牛血清アルブミンを添加すると、W中に尿素がなければ、 Ca^{2+} のWからDCEへの移動がアルブミンとの錯生成によって抑制されるため、 Ca^{2+} の移動波の $E_{1/2}$ は約 0.15 V 正となった。W中に尿素が含まれると、尿素濃度が高くなるにつれて $E_{1/2}$ はより正電位となり (Fig. 11, 曲線2)、尿素が 8 M 以上のとき、 $E_{1/2}$ はWがアルブミンを含まないときの Ca^{2+} 移動波の $E_{1/2}$ と一致した。Fig. 11に示した結果は、添加した尿素の濃度が低くてもアルブミンは変性しはじめ、 8 M 以上存在すると完全に変性して、 Ca^{2+} との錯生成

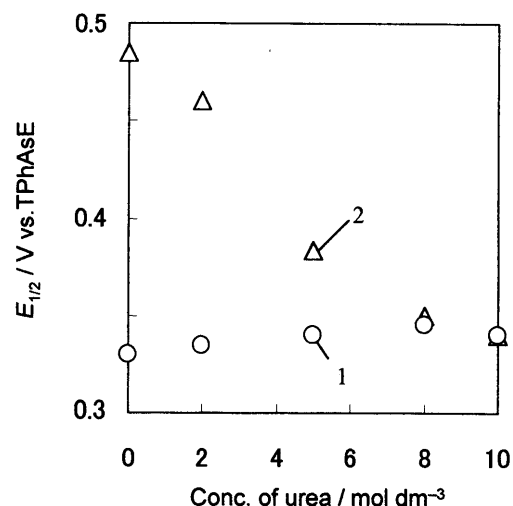


Fig. 11 Effect of urea on $E_{1/2}$ of the voltammogram for the transfer of Ca^{2+} from W in the absence of bovine serum albumin, BSA, (curve 1) or in the presence of $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ BSA (curve 2) to DCE

W contained $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ Ca^{2+} , $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ arginine hydrochloride and urea. DCE contained 0.02 mol dm^{-3} BDPPE

能を失うことを示している。

Fig. 11の結果は、Fig. 6に示した $\Delta E(\text{CH}_2)$ に及ぼすW中の尿素濃度の影響とよく似ている。 $\Delta E(\text{CH}_2)$ の減少は水の水素結合の強さが減少したことを意味し、タンパク質はその周りの水の水素結合が弱くなると変性すると言われていることを考え合わせると、Fig. 6とFig. 11の結果が類似していることは興味深い。なお、ここでは尿素のタンパク質に及ぼす影響を水の構造の形成や破壊の視点のみによって議論したが、タンパク質と変性剤である尿素の相互作用については、変性タンパク質の水に露出した疎水性側鎖と水の不都合な相互作用を変性剤がタンパク質に結合することによって軽減し、変性状態を安定化させるという考えもあるので²⁵⁾、今後の検討を要する。

4 結 語

本研究では、高濃度シヨ糖水溶液のような η の大きい水溶液と有機相の間のイオン移動であっても、微小液液界面を用いればボルタモグラムとして観察可能であることを明らかにした。また、観察の結果、 2.4 M シヨ糖や 9.8 M 尿素を含む水溶液中であっても、アルキルスルホン酸イオン、アルカリ金属イオン、アルカリ土類金属イオン、ハロゲン化物イオンなどのストークス半径、 CH_2 部分を溶解するための空孔形成エネルギー、イオンと水分子間に働く近距離相互作用については、シヨ糖や尿素を含まない水溶液中のそれらと大きな差がないことを明らかにした。一方、粘度や比誘電率はシヨ糖や尿素 (特にシヨ糖)の添加によって変化し、これがイオンの拡散に大きな影響を与

え, イオンと水の間に働く遠距離相互作用にも若干の影響を与えることが分かった。

ショ糖, 尿素は水の構造を形成, 破壊すると考えられてきたが, 本研究の結果はこの考えを支持しない。緒言でも述べたように, ショ糖や尿素は分析化学反応や生体内反応の視点から注目されているので, 更に多様な手法を駆使して, 本研究の結果を確証したいと考えている。

本研究は, 文部科学省科学研究費補助金特定領域研究「液液界面ナノ領域の化学」(平成 13 年度及び平成 14 年度: No.12304045) による研究経費の補助を受けて行われた。ここに謝意を表する。

文 献

- 1) J. M. Tsangaris, R. B. Martin: *Arch. Biochem. Biophys.*, **112**, 267 (1965).
- 2) S. Subramanian, D. Balasubramanian, J. C. Ahluwalia: *J. Phys. Chem.*, **73**, 266 (1969).
- 3) D. B. Wetlaufer, S. K. Malik, L. Stoller, R. L. Coffin: *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 508 (1964).
- 4) G. E. Means, R. E. Feeney: "Chemical Modification of Proteins", (1971), (Holden-Day, San Francisco).
- 5) G. Åkerlöf: *J. Am. Chem. Soc.*, **54**, 4125 (1932).
- 6) J. Wyman, Jr.: *J. Am. Chem. Soc.*, **55**, 4116 (1933).
- 7) J. A. Campbell, H. H. Girault: *J. Electroanal. Chem.*, **266**, 465 (1989).
- 8) H. Ohde, A. Uehara, Y. Yoshida, K. Maeda, S. Kihara: *J. Electroanal. Chem.*, **496**, 110 (2001).
- 9) H. H. J. Girault, D. J. Schiffrin: "Electroanalytical Chemistry", Vol. 15, p. 1 (1989), (Marcel Dekker, New York).
- 10) S. Kihara, M. Suzuki, K. Maeda, K. Ogura, M. Matsui: *J. Electroanal. Chem.*, **210**, 147 (1986).
- 11) S. Kihara, M. Suzuki, M. Sugiyama, M. Matsui: *J. Electroanal. Chem.*, **249**, 109 (1988).
- 12) Y. Shao, H. H. Girault: *J. Electroanal. Chem.*, **282**, 59 (1991).
- 13) 木原壯林, 小倉 薫, 鈴木みつ子, 白井 理, 松井正和: *Rev. Polarog.*, **37**, 3/6, 45 (1991).
- 14) T. Kakiuchi, Y. Teranishi: *J. Electroanal. Chem.*, **396**, 401 (1995).
- 15) S. Kihara, M. Suzuki, K. Maeda, K. Ogura, S. Umetani, M. Matsui, Z. Yoshida: *Anal. Chem.*, **58**, 2954 (1986).
- 16) 日本化学会編: "化学便覧", 基礎編, II-35, (1993), (丸善).
- 17) H. Nishida, N. Takada, M. Yoshimura, T. Sonoda, H. Kobayashi: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **57**, 5545 (1992).
- 18) 吉田裕美, 木原壯林: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **51**, 1103 (2002).
- 19) Y. Yoshida, M. Matsui, O. Shirai, K. Maeda, S. Kihara: *Anal. Chim. Acta*, **373**, 213 (1998).
- 20) K. M. Kadish, J. E. Anderson: *Pure Appl. Chem.*, **59**, 703 (1987).
- 21) J. O'M. Bockris, A. K. N. Reddy: "Modern Electrochemistry", Vol. 2, Chap. 2 (1974), (Plenum Press, New York).
- 22) H. S. Frank, F. Frank: *J. Chem. Phys.*, **48**, 4746 (1968).
- 23) M. Born: *Z. Phys.*, **45**, 1 (1920).
- 24) Y. Marcus: *Biophys. Chem.*, **51**, 111 (1994).
- 25) 濱口浩三: "改定蛋白質機能の分子論", (1990), p. 118 (学会出版センター).

要 旨

2.4 M のショ糖や 9.8 M の尿素のような高濃度非電解質を含む水 (W) と 1,2-dichloroethane (DCE) の界面でのイオン移動ボルタモグラムの, 微小 W|DCE 界面を採用して測定した。ボルタモグラムの解析から, 高濃度のショ糖や尿素は, アルカリ金属イオン, アルカリ土類金属イオン, ハロゲンなどの W 中での拡散やイオンと水の間に働く遠距離相互作用にはある程度の影響を与えることが分かった。一方, W 中でのイオンのストークス半径, 中性分子を W に溶解するための空孔形成エネルギー, イオンと水分子間に働く近距離相互作用は, 高濃度のショ糖や尿素の影響を大きくは受けないことも分かった。これらの結果は, ショ糖は水の構造を形成するとしていた従来の考えを支持せず, また, 尿素の水構造破壊への寄与も大きくはないことを示す。更にアルブミンとの錯生成によって変化する Ca^{2+} の界面移動電位を測定し, アルブミンの変性と W 中での空孔形成エネルギーに与える尿素濃度の影響は類似していることを見いだした。