



Title	液体界面反応のその場測定法
Author(s)	渡會, 仁
Citation	大阪大学低温センターだより. 2003, 122, p. 15-19
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/4378
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

液液界面反応のその場測定法

理学研究科 渡 會 仁 (内線5411)

E-mail: watarai @chem.sci.osaka-u.ac.jp

1. はじめに

有機相と水相からなる液液二相系は、金属イオンやタンパク質の分離、あるいは有機合成の媒体として広く利用されている。このような二相系を用いる化学操作における重要な素過程として、界面を横切る物質移動や、界面での吸着反応を仮定した速度論的研究が盛んに行われてきた。また最近は、液液界面を細胞膜のモデルと捉える研究や、吸着状態の計算化学的シミュレーションも行われている。図1は、分子動力学法により描かれたヘプタン／水系の密度変化を示す^[1]。平衡状態における分子レベルの液液界面は、その厚さが1 nm以下の極めて平坦な領域である。しかし、このような液液界面の溶媒物性や、反応機構における界面の役割を理解するには、界面反応の実験的評価が必要であるが、二つのバルク相に挟まれ界面だけを直接的に測定することは必ずしも容易ではない。界面の古典的、熱力学的評価法として、界面張力測定が広く用いられているが、この方法では界面の化学種を決定することはできない。本稿では最近我々の研究室で開発したいくつかの分光的その場測定法を紹介する。

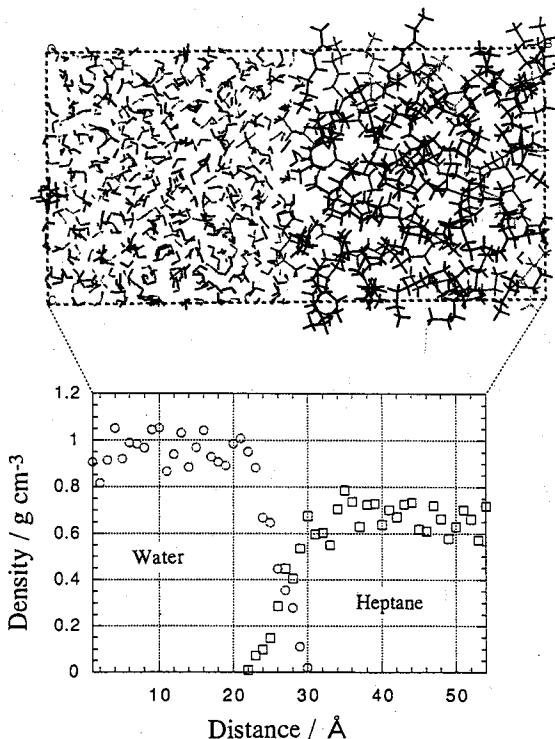


図1 ヘプタン／水系の界面における密度変化（分子動力学シミュレーションの結果）

2. 単一分子プローブ法

界面に吸着した一個の分子の挙動を測定することにより、界面の横方向の拡散運動に関する情報が得られるのではないか。その運動性から界面ナノ領域の流体力学特性が測定できるのではないか。このような発想から、界面吸着性の蛍光分子を液液界面に吸着させ、単一分子計測を行う方法を開発した。この方法のポイントは、顕微蛍光測定に適した二相液膜を作ること、バックグラウンドを極力下げるここと、および観測領域を極力小さくして分子の存在確率を下げるこである。図2に装置の概略を示す。薄いガラス板を張り合わせたセル内に、厚さ0.14mmの水相と厚さ0.80mmの有機相

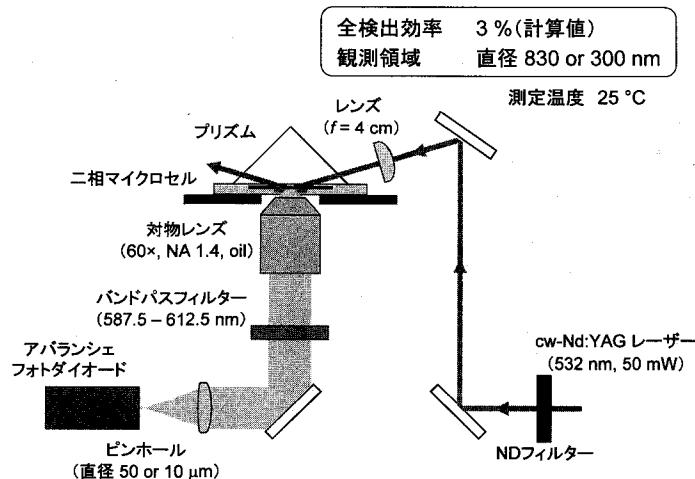


図2 液液界面での単一分子の拡散計測装置の概略

本光学系全体の検出効率は3%程度である。また、一チャンネルの積算時間が最小の2μsの場合、チャンネル数は8192であるので、一回の測定は16msとなる。溶媒や不純物からのラマン散乱や蛍光がバックグラウンドとなることがあり、系に応じて精製と適当なフィルターの使用が重要である。たとえば、ドデカン／水界面に吸着させた蛍光性の1,1'-ジオクタデシル-3,3,3',3'-テトラメチルインドカルボシアニン (DiI) 分子の場合、観測領域内に平均0.2分子が存在するような低濃度では、図3(a)に示すような蛍光のフォトンバーストが観測された。16msの測定の間にこのようなフォトンバーストが得られる確率は、全検出効率と同程度の数%である。フォトンバーストの持続時間は、界面でブラウン運動をする一個の吸着分子が測定領域に存在する滞在時間を表し、バーストにおけるフォトンの密度は蛍光収率に関係する。フォトンバーストの持続時間の最大値は、円形の観測領域の最大距離である直径上を分子が移動したことに対応する。したがって、数百回の測定から単一分子の最大滞在時間を求め、拡散係数を求めた。そして、Stokes-Einstein式を用いて、粘度を計算した。その結果、ドデカン／水界面に吸着したDiI分子の拡散係数は $2.3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ 、粘度は1.4mPasと得られた。この値は、水の粘度(0.89mPas)よりもドデカンの粘度(1.4mPas)に等しく、DiI分子の二つのオクタデシル基がドデカン相に存在することを示唆している^[2]。また、この系に界面活性剤としてドシル硫酸ナトリウム (SDS) を加え、界面にSDSを共存させたところ、DiIの拡散係数はあまり変化しなかった。これは、ドデカンとSDSの炭素鎖長が12個と同じであ

により二相界面を作成し、その上に直角プリズムをのせ、全内部反射条件(入射角73°)で有機相側から界面に励起光(cw-Nd:YAGレーザー、532nm、50mW)を照射した。界面からの蛍光を対物レンズ(60×、NA1.4, oil)により水相側(セルの下方)から集光した。直径30–50μmのピンホールにより、直径300–830nmに絞った観測領域からの蛍光をアバランシェフォトダイオードを用いてフォトンカウンティング測定を行った。

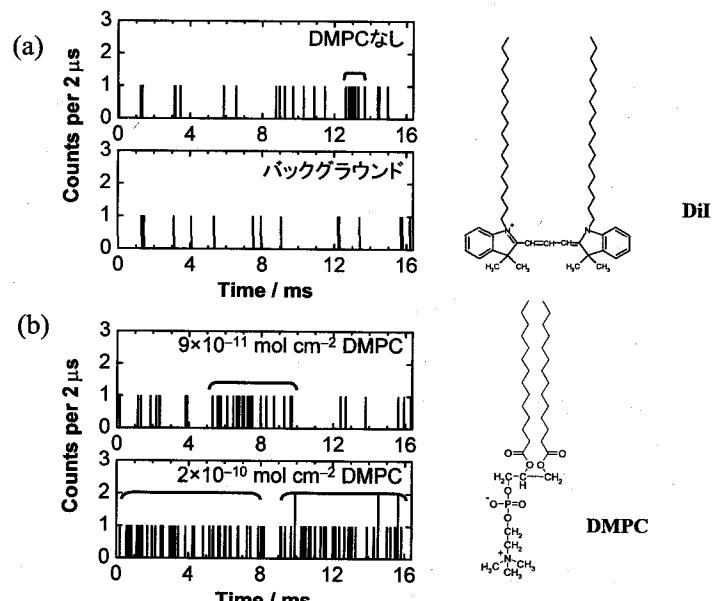


図3 観測領域内のDiI分子からのフォトンバーストの測定
DiI 0.2分子、レーザーパワー 8 mW,
観測領域 830nm

るため、界面における両者の運動性に差が生じないことを示している。一方、二本の C_{18} の炭素鎖をもつジミリストイルホスファチジルコリン(DMPC)を界面に共存させると、フォトンバーストの観測時間は著しく長くなり(図3(b))、界面被覆率0.5においては0.7Pasと著しく粘度が増大することがわかった。DMPCは細胞膜を形成する界面活性剤の一つであり、その粘重性による膜構造保持機能が示されたと言える^[3]。单一分子をプローブとするこのような方法は、タンパク質の構造変化のプローブにも利用されているが、ミクロ構造をもつ液液界面や微粒子表面のナノ領域の物性評価法としての応用性も高い。さらに、今後は、界面を横切る単一分子の移動や、その反応の検出に展開されるであろう。

3. 界面緩和法

界面に吸着した分子の状態を、極めて短い時間で平衡からずらし、元の平衡状態への復帰過程を時間分解で測定することにより、界面ナノ領域の流体力学特性が測定できる。たとえば、蛍光寿命測定より、界面での分子の回転時間や集合状態を知ることができる。直径3cmの太鼓型セルに二相を入れて中央部に平界面を生成させる。全内部反射条件で有機相(上方)より励起ビームを入射し、水相(下方)より蛍光を対物レンズで集光し、界面に吸着した分子の蛍光寿命を測定する。励起と検出の偏光ベクトルを45°ずらして偏光の解消を時間分解で測定することにより、吸着分子の面内、面外の回転緩和時間を測定することができる^[4]。この方法により、オクタデシルローダミンBの回転緩和時間とそれに対する界面活性剤の効果^[5]や、界面で集合錯体を形成するパラジウム(II)-テトラピリジルポルフィリン錯体の回転緩和速度^[6]が調べられた。

4. 遠心液膜法

液液系における金属イオンの抽出速度において、界面反応の寄与を実験的に初めて明らかにしたのは高速攪拌法^{*}である^[7]。この方法は、界面吸着量と反応量を同時にかつ高感度に測定できる点で極めて優れた方法であるが、界面を直接測定してはいないので、界面の化学種を実験的に決定することはできない。この点を補完する方法として、遠心液膜法を考案した^[8]。図4に示すように、内径20mm、長さ30mmの円筒ガラスセルに、有機相、水相各200 μ lを入れ、毎分1万回転で回転し、セルを横切るように光束を透過させることによって吸収スペクトルを測定する。このときの液相の厚さは100 μ m以下に制御することができる。この方法ではバルク相と界面の吸収スペクトルの総和が測定されるが、バルク相が極めて薄い液膜状態であるため、相対的に界面の吸光度が優勢となる。この方法の特徴は、界面積が既知であることと、バルク

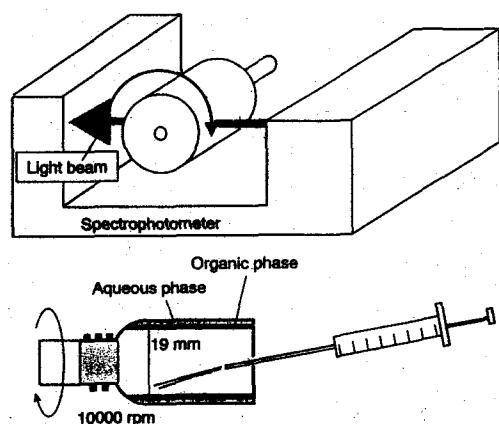


図4 遠心液膜法の模式図

*この印の付いている語は、後に「用語説明」があります。

液膜相内の拡散が完全に分子拡散のみであるということである。吸収スペクトル測定法により、界面での金属錯体の生成反応速度^[9]、および有機液膜におけるポルフィリンの拡散速度^[6]が測定された。最近、図5に示すように、遠心液膜法と共に焦点顕微共鳴ラマン分光法を組合わせ、焦点を深さ方向に移動させることにより、水相、界面、および有機相のラマンスペクトルを分解して測定することが可能となった^[10]。この方法は、それぞれの領域における化学種の同定に威力があり、特に界面に生成する化学種が同定できる点で有力であり、今後微小領域の反応解析法としてさらに普及するものと思われる。

5. 二相マイクロフロー法

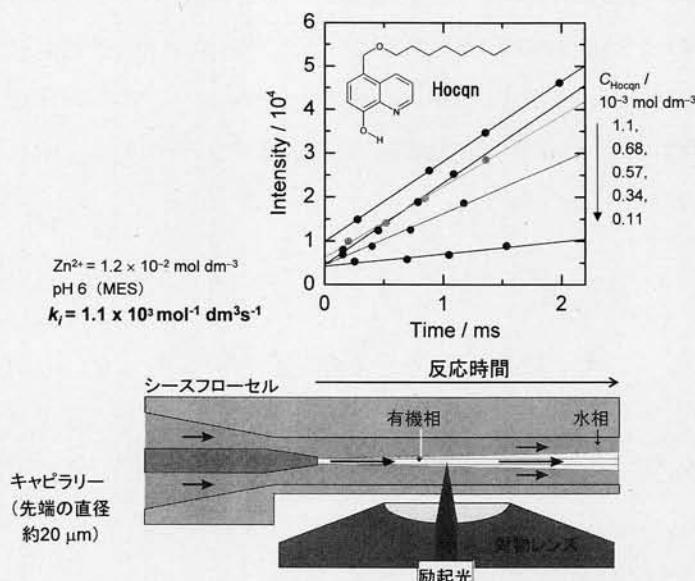


図6 二相マイクロシースフロー法による界面高速反応測定

に添ってレーザー励起光の焦点を走査し、界面の蛍光を測定することにより、界面反応量の時間変化を測定することができる。有機相の流量を $1 \sim 50 \mu\text{l} / \text{min}$ の範囲で変えることにより、亜鉛(II)とオキシン誘導体の1ミリ秒以内の界面反応速度を測定することができた。また、二相マイクロフロー系をそのままエレクトロスプレー法によりイオン化し、TOF/MSに導入することにより、有機液滴の一滴一滴に含まれる化学種のMSスペクトル^[12]や、液滴の界面で会合した化学種のMSスペクトルを測定することに成功した^[13]。

6. まとめ

バルク相体積に対する界面の寄与は比界面積により評価されるが、ここで紹介した反応計測法に

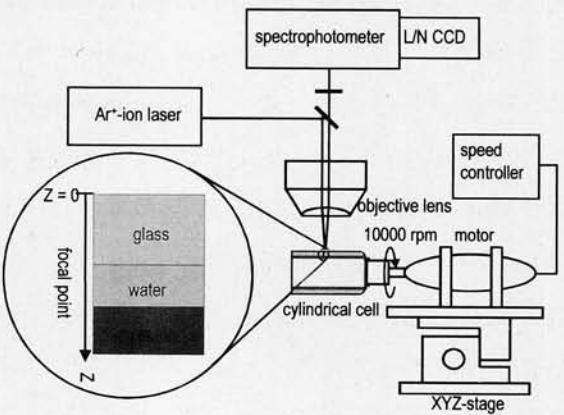


図5 遠心液膜/ラマン分光法のセル部分の概略

遠心液膜法において試料の注入を速やかに行うことにより、秒オーダーの界面反応を測定することができる。しかし、さらに高速のミリ秒からサブミリ秒の界面反応を測定するには新しい工夫が必要である。一つの方法として、二相マイクロシースフロー法を開発した^[11]。図6に装置の概略を示す。石英製のフローセルに挿入したキャピラリーの先端から直径20 μm 程度の有機相を押し出し、外側には水相を流す。定常的フロー状態では、流れの方向の距離がそのまま反応時間となる。したがって、有機相フローの界面

においては、二相マイクロシースフロー法の比界面積が最も大きく 2000cm^{-1} であり、次いで高速攪拌法 400cm^{-1} 、遠心液膜法 100cm^{-1} である。つまり、体積が小さいほど界面の効果は増大する。固体表面の研究では、現在様々な走査プローブ顕微鏡が開発され、ナノレベルの計測が容易となっているが、液液界面は流動性が高く、チップを用いるプローブは系を著しく乱す。これが、單一分子プローブを用いる理由の一つである。今後、プローブとして量子ドットが利用される可能性も高い。液液界面を細胞膜のモデルとして、タンパク質の構造変化や酵素反応の一分子レベルでの研究が進行中である。また、液液界面では、金属錯体が二次元超構造を形成することを見いだしており、そのナノ構造の解析が課題となっている。自由エネルギーが平衡から大きくずれた液液系の界面では、分子の吸脱着が集団として非線形的、かつ不均一に起こるが、このような系の計測に対しても、ここで紹介した顕微分光的方法は極めて有用である。

参考文献

- [1] H. Watarai, M. Gotoh and N. Gotoh, Bull. Chem. Soc. Jpn., 70, 957-964 (1997).
- [2] F. Hashimoto, S. Tsukahara and H. Watarai, Anal. Sci., 17, i81-i83 (2001).
- [3] F. Hashimoto, S. Tsukahara and H. Watarai, Langmuir, 印刷中.
- [4] S. Tsukahara, Y. Yamada and H. Watarai, Langmuir, 16, 6787-6794 (2000).
- [5] S. Tsukahara, Y. Yamada and H. Watarai, Langmuir, 16, 6787-6794 (2000).
- [6] N. Fujiwara, S. Tsukahara, and H. Watarai, Langmuir, 17(17), 5337-5342 (2001).
- [7] H. Watarai and H. Freiser, J. Am. Chem. Soc., 105(2), 189-190 (1983).
- [8] H. Nagatani and H. Watarai, Anal. Chem., 70, 2860-2865 (1998).
- [9] Y. Yulizar, A. Ohashi, H. Nagatani, H. Watarai, Anal. Chim. Acta., 419, 107-114 (2000).
- [10] A. Ohashi and H. Watarai, Chem. Lett. 2001, 1238-1239.
- [11] T. Tokimoto, S. Tsukahara and H. Watarai, Chem. Lett., 2001, 204-205.
- [12] H. Watarai, A. Matsumoto and T. Fukumoto, Anal. Sci., 18, 367-368 (2002).
- [13] H. Watarai, Proceeding of the International Solvent Extraction Conference, ISEC2002, 64-69 (2002).

用語説明

高速攪拌法

抽出試薬を含む有機相と金属イオンを含む水相を毎分5000回転程度で攪拌し、機械的に分散状態として界面積を増大させ、テフロン相分離膜で有機相のみを連続的に外部の分光光度測定用フローセルを循環させる。攪拌状態と攪拌停止時の吸収スペクトルの差から、界面吸着量を求める。また、有機相中の金属錯体濃度の時間変化より、抽出速度が決定できる。