

平成4年度化学教室研究報告

並木 博・栗原 良枝・永瀬 茂・前田 安昭
西川 恵子・村山 治太・中村 栄子・大谷 裕之

Annual Report of the Department of Chemistry -1992

Hiroshi NAMIKI, Yoshie KURIHARA, Shigeru NAGASE, Yasuaki MAEDA,
Keiko NISHIKAWA, Haruta MURAYAMA, Eiko NAKAMURA,
and Hiroyuki OTANI

平成4年度の化学教室の研究成果を報告する。本報告は以下のように分類してある。
なお、文末のカッコ内は学部学生である。

1. 無機・分析化学および地球化学
2. 物理化学
3. 有機化学および生物化学

1. 無機・分析化学および地球化学

(1) 水中の全シアン定量におけるシアン化水素の異常生成

水中の全シアン化合物の定量において、試料中に亜硝酸イオンが含まれると、加熱蒸留時にこれが試薬として添加したEDTAと反応してシアン化水素が生成する。このため、工場排水試験方法(JIS K 0102)では、スルファミン酸を添加してあらかじめ亜硝酸イオンを分解することになっている。ところが、スルファミン酸を添加してもシアン化水素が生成する試料があることが知られている。本研究室では、このシアン化水素の異常生成についての検討を行い、これまでに、加熱蒸留時に生成する窒素酸化物が原因であると推定している。

本研究では、この窒素酸化物を明らかにするため、種々の化学反応を利用して数種の窒素酸化物を発生させ、EDTAとの反応によるシアン化水素の生成を検討した。

その結果、窒素酸化物のうち一酸化窒素、一酸化二窒素はシアン化水素の生成に関係しないことが判明した。しかし、化学反応により発生した窒素酸化物の組成やこれを水に溶解させた時の化学種が明らかでないため、スルファミン酸を添加した場合にシアン化水素が生成する窒素酸化物を特定できなかった。(大沢 健一)

(2) 高純度水の分析における極微量成分の濃縮

半導体産業などの先端産業では高純度の水が多量に使われており、これに含まれる極微量の不純物が製品の品質に大きく影響する。このため、それらの定量法の確立が強く望まれている。極微量の不純物のうち、金属成分については石英製のロータリーエバポレーターで濃縮後、フレイムレス原子吸光法により定量することが公定法 (JIS K 0553) に規定されている。しかし、この方法には器壁への吸着や装置が高価であるなどの問題がある。

本研究では、簡便で高精度な濃縮法を開発する事を目的とし、いくつかの濃縮法を検討した。その結果、水をはじく性質により溶存成分の器壁への吸着が少ないと考えられる合成樹脂 (ポリカーボネイト) 製の蒸発容器を用い、非沸騰状態で蒸発を行う濃縮装置を開発した。ポリカーボネイト製三角フラスコ (250 ml) に試料 100 ml をとり、約 120°C の水・エチレングリコール混合浴中で加熱する。発生した水蒸気はポンプからの乾燥空気により速やかに冷却部へ送られる。また、空気を循環させて密閉系とし、外部からの物質の混入を防ぐ。試料を蒸発乾固させた後、0.3 M 硝酸 1 ml を加え目的成分を溶出させ、フレイムレス原子吸光法により定量する。試料としてカドミウム、銅、リチウムをそれぞれ 0.01 ppb, 0.1 ppb, 0.1 ppb の濃度で含む溶液を用い、本装置により濃縮後定量した。いずれの金属についても良好な回収率が得られ、本濃縮装置が高純度水の極微量金属成分の濃縮に有効である事が確認された。(渡辺 昌之)

(3) コンピュータ処理による重量適定 (VI)

—電気伝導度法の適用によるアンモニウムイオンの定量—

本研究室では、適定における滴下溶液をサイフォンの原理により連続的に試料溶液に流入し、当量点をコンピュータ処理によって求める重量滴定装置を 1986 年に開発している。

本研究では、同様の装置を用いたアンモニウムイオンの定量を目的とし、電気伝導度の変化を当量点の判別に用いる滴定を行った。アンモニウムイオンを含む試料溶液に過剰の水酸化ナトリウム溶液を加え、アンモニウムイオンをアンモニアとして酢酸溶液で滴定した。滴定の初めは過剰分の水酸化ナトリウム溶液が中和されて水酸化物イオンが減少し、それに伴い電気伝導度が減少する (第 1 当量点)。この後、アンモニアが滴定されてアンモニウムイオンが生成し、電気伝導度が増加する。アンモニアの滴定が終了すると電気伝導度はほぼ一定になる (第 2 当量点)。この 2 つの当量点付近のデータをコンピュータに記憶させ、滴定後、当量点決定のための処理を行った。第 1 当量点ではデータを二次方程式にあてはめ、その最小値を、第 2 当量点ではデータを最小二乗法により処理し、2 直線の交点を求めてそれぞれの当量点を算出し、アンモニウムイオンの滴定値はこの差から計算した。試料溶液として 0.050 M のアンモニウムイオン溶液 5 g を用いて本法で滴定した結果、10 回の繰り返し測定 of 標準偏差は 0.0059 g, 変動係数は 0.14% であった。(稲生 雅美)

(4) 陰イオン界面活性剤の吸光光度定量法

陰イオン界面活性剤（以下 AS）の定量に用いられるエチルバイオレット吸光光度法は、陽イオン性の色素であるエチルバイオレット（以下 EV）とのイオン会合体をトルエンに抽出して吸光度を測定する方法で、操作が簡便で感度が高い特徴をもっている。しかし、塩化物イオンが共存すると、これが EV とイオン会合体を生成してトルエンに抽出され妨害をする。このため、抽出後のトルエン層を水で洗浄して Cl-EV のイオン会合体を除去する。しかし、この方法を検討した結果、この洗浄操作では塩化物イオンの影響を完全に除くことができなかった。本研究では、この洗浄での問題を詳しく検討し、塩化物イオンの妨害を完全に除く方法に改良した。

水洗浄では、AS-EV イオン会合体の一部が壊れて負の誤差の原因となることが分かった。また、抽出、水層を分離除去後の分液ロートの器壁には付着物があり、これが正の誤差の一因となることも分かった。改良法では、抽出後のトルエン層を小型分液ロートに移すことにより、トルエン層を器壁付着物から完全に分離し、Cl-EV を除去するための洗浄液としてエチルバイオレット溶液（15 μ M）を用いることにより、AS-EV イオン会合体の分解を防ぎ、塩化物イオンの影響を完全に除くことができた。本法の標準偏差は約 1.4% で、海水試料に適用した場合も良好な結果が得られた。（露崎 直子）

(5) 硝酸イオンの還元定量における還元方法の研究

水中の全窒素の定量法の一つに、試料をアルカリ性ペルオキソ二硫酸カリウムで酸化分解して窒素化合物を硝酸イオンに変えた後、これを銅・カドミウムカラムにより亜硝酸イオンに還元してナフチルエチレンジアミン吸光光度法で定量する方法がある。これは還元率も一定し良好な方法であるが、酸化分解時にガラス製試料容器からシリカが溶け出し、これが原因でカラムが目づまりするという問題がある。本研究では、カラムの目づまりを解消するため、前処理した試料に銅を被覆したカドミウムの一定量を加えて振り混ぜを行なうバッチ法による還元を検討した。

検討の結果、次の定量操作を定めた。酸化分解した試料を塩酸で中和後、アンモニウム緩衝溶液の一定量を加え、水で一定の体積とする。この溶液の 20 ml を三角フラスコにとり銅・カドミウム粒 2 g を加え、栓をして 20 分間振り混ぜる。溶液の一部を比色管にとり、ナフチルエチレンジアミン吸光光度法で亜硝酸イオンを定量する。この方法を海水中の全窒素の定量に適用し、カラム法と比較した。その結果、両者はよく一致しバッチ法が全窒素の定量法として有効であると考えられた。また、カラム法の場合、カラム保存液中にカドミウムが多量に排出する問題があり、これについても検討を行なった。その結果、銅・カドミウム粒をアルコールで洗浄後、乾燥する保存が良いと推定された。（福田 さちえ）

(6) 降水に於ける pH 変動のメカニズム

降水は種々の物質を溶かし込み、汚染の無い雨水でも二酸化炭素のために pH 5.6 を示す (pH 5.6 より強い酸性を示す雨を「酸性雨」と呼ぶ)。降水のイオン組成は溶存物質の種類によって異なり (強い酸性を示さなくても溶存物質が多い場合もある)、酸性雨の環境に対する影響を pH のみで評価するのでは不十分である。横浜の雨を例にとり、pH と電気伝導率の関係に影響を及ぼす因子について研究した。試料の採水は横浜国立大学・教育学部・第二研究棟屋上で行った。1992 年の 4 月から 12 月までに降った雨を毎月一回、降り初めから終わり迄を 30 分毎に採水した。試料総数は 8 回の降雨で 147 になった。縦軸に電気伝導率の対数、横軸に pH をとり全試料をプロットした。同じグラフに pH 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 の硝酸と硫酸の水溶液の値をプロットした結果次の事が明らかになった。

- 1) 硝酸・硫酸水溶液の各点はほぼ同じ直線に乗り、試料の大部分はその直線に沿って分布した (pH 5.0 以下の雨水の pH 変動は主に NO_3^- と SO_4^{2-} の濃度に支配された)。また pH 5.0 以下の雨水で直線から外れる試料は NH_4^+ , Na^+ , K^+ および Cl^- を多く含んでいた。
- 2) pH 5.6 以上の雨でも電気伝導率の大きい雨が観測された (10 月 8 日)。この雨だけは特に K^+ の含有量が多かったが、気象情報からその起源を特定することは出来なかった。
- 3) 観測された pH の最小値は 3.44 (9 月 18 日)、平均値は 4.63 ($n=147$) であった。
- 4) pH 5.0 以上の雨は pH と電気伝導率との間に特別の関係がなかった。(畔野 健司)

(7) 富士山麓の湧水について

富士山麓の湧水は年間を通じて水温の変化が少なく、水質も清澄で生活・工業用水として地元の人々に利用されている。しかし近年の開発による自然環境変化や工場の進出によって、湧出量の減少と人為的汚染という二重の危機が生じている。三島市柿田川湧水を例にとると、湧出量は 1955 年には $14 \text{ m}^3/\text{秒}$ であったが、1987 年には $9 \text{ m}^3/\text{秒}$ と著しく減少しており、トリクロロエチレン他 2 種の有機塩素系物質も環境庁の評価基準の $1/20$ ではあるが検出されている (静岡県調査)。富士山麓の湧水群 32 地点の水質を調査し、実態を把握することを主な目的とし、降水が浸透してから湧出するまでの組成変化を追跡した。

今回調査した湧水は新富士溶岩と古富士泥流との境目を滞水層とするものがほとんどであった。降水の化学組成が Na^+ , $\text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-}$ 型であるのに対し、湧水は $\text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$, HCO_3^- 型が主であった。湧水地点の山頂からの方位 (東西南北) による水質の差異は見られなかった。降水が浸透する際、微生物や酸性雨の影響による H^+ は地層中のケイ酸塩・炭酸塩とイオン交換をし、 Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , HCO_3^- , SiO_2 などを溶出する。地中での移動にとめない、電気伝導率と SiO_2 の濃度は増加した。 Cl^- は地中に供給源が無い場合、降水の濃度とほぼ同じであった。しかし、市街地やゴルフ場周辺で Cl^- は平均値の 4 倍、 NO_3^- は 5.6 倍を示した湧水もあり、人為的汚染を受けていると思われる。湧出量の減少は、地下水の過剰揚水と開発による地下浸透量の減少によるものと思われる。(岩山 英樹)

(8) コンクリート構造物に鐘乳石を生成させる滴下水について

コンクリート建築物の内・外部につらら状の鐘乳石が生成していることに注目が集まっている。つららから滴り落ちる水滴から石筍が形成されているところも見つかっている。いずれも水にとけて運び出されたカルシウムイオンが炭酸カルシウムとして再結晶したものである。横浜国立大学で1989年4月28日に建てられた、築後約3年の学生会館でもつららが発見された。学生会館のつららから滴り落ちる水滴を自作の採水器に集めて分析した。

- 1) 滴下水の陽イオンは Na^+ と K^+ の和が99%以上を占めていた。濃度は滴下開始時に最大で、時間の経過と共に減少するが、滴下終了時に再び増加した。初期の最大濃度は、その前の滴下時の終わりに割れ目に残っていた水がコンクリートと十分に反応し、コンクリートから溶けだした物質が滴下水の通路に残り、それを運びだしてくるためと考えた。時間の経過と共にほぼ一定の濃度になるのは溶け出す量と運び出される量とが釣り合うからで、滴下終了時に近づくとも濃度が増大するのは滴下量の減少による。
- 2) 測定した陰イオン Cl^- 、 NO_2^- 、 SO_4^{2-} の時間経過による濃度変化は陽イオンと同様であった。pHから求めた OH^- の濃度は滴下終期に減少した。滴下量が減少すると空気中の二酸化炭素と反応する割合が増加し、pHが減少するのであろう。
- 3) 雨水に起源を持つと思われる NO_3^- の一部は NO_2^- に還元されており、この反応はpH 11以上の時(滴下初期)特に著しかった。(栗原 智)

(9) 温泉分析法の検討～アルミニウム箔皿を用いた蒸発残留物測定法～

蒸発残留物の測定法として、蒸発皿としてアルミニウム箔の皿を用い、赤外線乾燥機に自動電子天秤を接続して計測する方法について検討した。この方法の利点として考えられることは以下の点である。①市販のカップケーキ用の皿を利用すれば安価で使い捨てができる。②蒸発時間・恒量時間が短縮できるので、原子吸光光度法やイオンクロマトグラフ法での成分分析の際、希釈率を迅速に推定できる。③自動天秤に乾燥機を接続した場合は結果を重量の差として求められるので測定値に比重をかける手間が省ける。④残留物の形態が観察しやすく、溶存成分や泉質の推定ができる。

鉱泉分析法に規定されている方法では2日以上かかるが、赤外線乾燥機に自動天秤を接続して計測する方法では測定時間は2時間に、熱源にホットプレートを用い、市販のアルミ皿を用いた方法では約5時間に短縮された。しかし、試料に蒸留水を用いた場合でも皿が数mg重くなり、蒸発残留物重量が少ない試料では皿の重量増加を無視できない。酸性泉以外の試料では、アルミ皿を予め高温(500℃)で加熱してから用いると重量増加が少なくなった。蒸発残留物重量が2500 mg/kgを越える試料については皿の重量増加は無視できるので、概算値でよい場合(希釈率の推定など)には十分である。蒸発残留物の形態から温泉の代表的な溶存成分を推定することも可能といえる。

(濱田 恵子)

2. 物理化学

(1) Ti 化合物における理論的研究

4 族元素 Ti と 14 族元素 (C, Si, Ge, Sn, Pb) は同数の価電子を所有しているが、遷移元素である Ti の価電子は d 軌道に位置している。そのため、14 族元素とは違った、遷移元素 Ti ならではの物性、機能が期待される。そこで本研究では、分子軌道法を用いて 14 族元素との比較を行い、Ti のもつ特性を明らかにすることを目的とした。

Ti 化合物については基本的な構造を有するメタン、エタン型化合物を考察した。メタン型化合物において Ti は 14 族元素よりも平面構造を好むことが分かった。これは Ti が所有している d 軌道が平面構造の形成に有利と考えられるからである。また、Ti のエタン型化合物は骨格が異常に変形している。そこで Ti のメタン型化合物において、骨格を変化させるモデル計算を行った。その結果、Ti 化合物は骨格の変化が不利とはならないことが分かった。つまり、この特性により Ti のエタン型化合物は骨格が変形してしまっただと考えられる。次に Ti と C の三員環を構造最適化した。この三員環には歪みがかかっていないと考えられ、14 族元素によって形成された三員環とはまったく異なる性質を示している。この三員環の形成において歪みがかからないという特性から、Ti の歪み化合物への適用への有用性が示唆された。(滝田 博)

(2) 高周期典型元素を骨格にもつ環式化合物の理論的研究

ベンゼンの骨格を、13 族元素 X (X=B, Al) と 15 族元素 Y (Y=N, P) で交互に置き換えたベンゼン類似体 ($X_3Y_3H_6$) についても、13 族元素の空軌道と 15 族元素の孤立電子対との重なりによる芳香族性が期待できる。しかし、ホウ素とリンによるベンゼン類似体の平面構造はイス型や舟型へと崩れてしまう。そこで、ホウ素とリンによるベンゼン類似体の非平面化に注目し、モデル計算を試みた。その非平面化の要因や置換基による抑制効果について明らかにするために、分子軌道法を用いて理論的考察を行った。

まず、ベンゼン類似体の平面化、非平面化に相関性が見られるエチレン類似体の骨格構造を、13 族、15 族元素に置き換えて比較検討してみたところ、窒素原子と比べ、リン原子は 13 族の原子とピラミッド状に折れ曲がって結合し易い傾向が見られた。従って、ホウ素とリンによるベンゼン類似体の非平面化を抑制するためには、リン原子における折れ曲がりの抑制が可能となる置換基の選択が望まれる。

ホウ素とリンによるエチレン類似体において、リン原子に σ 電子を供与し、リン原子から π 電子を受容するような置換基を導入すれば、ホウ素の空軌道とリンの孤立電子対との重なりが増加して、非平面化の抑制が可能となった。

従って、同様な置換基をリン原子上へ導入すれば、ホウ素とリンによるベンゼン類似体においてもリンによる非平面化が抑制されると考えられる。(松下 美穂)

(3) 15族超原子価 (hypervalent) 化合物の理論的考察

一般に原子は、8個の電子を共有して八隅子を形成できれば共有結合をつくることができるというオクテット則に従って化合物をつくる。しかし、実際には10個以上の電子が結合形成に関与している化合物も数多く存在する。このような化合物を hypervalent 化合物と呼ぶ。このような化合物のうち、五配位型の三方両錘構造はアキシアル結合とエクアトリアル結合という性質の異なる2種類の結合をもち、その構造や反応性について様々な研究が行われてきた。

本研究では、周期表15族原子の五配位型の hypervalent 化合物の特性について分子軌道法を用いて理論的考察を行った。

アキシアル結合へのd軌道の関与に注目して、d軌道を考慮した場合としない場合について PH_5 の構造、結合次数の変化を調べたところ大きな変化はみられず、また、d軌道上の電荷も小さく、これらのことからd軌道はアキシアル結合には本質的には関与していないことがわかった。

また、水素分子の脱離反応の障壁から PH_5 の安定性について考察を行った。水素分子の脱離反応の経路は2通り存在し、いずれの場合もおよそ50 kcal/mol の障壁があり、 PH_5 は熱力学的には不安定であるが、速度論的には安定であると考えられる。

(井田 裕之)

(4) リンを中心とする15族高周期元素のクラスターの理論的研究

リン元素によって見られる構造の多様性は長い間知られており、特に最近は小さなクラスターに興味を持たれている。しかしながら様々な形の正確な分子構造のデータは今だ限られたものであり、リンクラスタースにおいては P_2 (D_{2h})、 P_4 (T_d) 以外の構造は現在も未知のままと言える。本研究はリンクラスタースの構造と安定性を明らかにするために、ヒ素以下の15族高周期元素を交えて、分子軌道法を用いて検討した。

XH_3 分子において、高周期ほど混成しておらず、結合角度は90度に近づいている。プリズマン型クラスターの1原子あたりの歪みエネルギーの比較から、4員環より5員環を好むと予測した。 X_8 のキューバン型クラスター(A)の安定性は、Aの一辺を90度回転させたBが4員環が5員環と3員環になって歪みが軽減する事によって、総じて最安定となり、90度が不利とはならない高周期ほどその差は小さい。しかしさらにもう一辺を90度回転させたCはBよりも安定とはならず、ヒ素以下ではAより不安定である。5員環4枚からなり不飽和結合2本を持つDの不安定性は、 X_6 で示されたように不飽和結合の存在が要因と考えられる。リンクラスタースにおいてほとんど考慮されていない平面構造だが、リンにおいては熱力学的に比較的安定な5員環2枚が平面となっているEを発見した。EとBは最初の角度設定だけが異なる同様の構造を最適化して得られた構造であるが、他の構造間と共に対称禁制が存在するために異性化は難しいと考えられる。(須田 芳子)

(5) 小角 X 線散乱装置の製作

X 線回折実験には大きく分けて二通りの方法がある。一つは広角 X 線回折で、もう一つは小角 X 線回折である。広角 X 線回折は原子間距離などのマイクロな情報を観察し結晶、液体、溶液などの構造解析を行うものなのに対し、小角 X 線回折は溶液や超臨界流体のゆらぎ測定や液体中の高分子の形や大きさの決定、多孔質物質の細孔径の決定やフラクタル次元解析など比較的セミマイクロなデータが得られる。このように広角と小角ではそれぞれ得られる情報は相補的であり、互いに結果を行き来させることにより考察をさらに深めることも可能になる。しかし我々の要求にかなう小角 X 線散乱装置は販売されておらず今回自作することになった。

今回の装置はサンプルに溶液などの回折像の弱いものを使うことを想定し、入射 X 線の強度と検出効率の向上を計った。具体的な方法としては、まず X 線の経路をできるだけ真空にした。これによって空気による X 線の吸収と散乱を防ぐことができる。さらに二次元湾曲モノクロメーターを使用し、入射 X 線自体の強度を向上させた。また、検出器には PSPC と呼ばれる一次元検出器を使用し、検出効率をより向上させた。以上の装置の光学系は旋盤やフライス盤などを駆使して全て自作した。PSPC につく計数回路が間に合わず、細かな性能は今回測定できなかったが、できるだけ早く完成させ実用に備えたい。(田中 伊吹)

(6) X 線 (AgK α) を用いての回折強度測定の高精密化、及び液体ジクロロエチレンの構造解析

二次元検出器 (イメージングプレート) が開発され X 線の回折像を二次元で測定できるようになった。従来管球として Mo が使用されていたが、今回 Ag 管球を用いての回折実験を行なった。管球を Ag に変更するのに伴いセッティング、補正の全てをやり直した。光学系においては X 線の単色化、ビームストッパーの調整、補正としてはイメージングプレートの中心補正、一様性補正、カメラレングスの精密化、X 線の吸収補正、測定時間、空気の散乱についてなどの補正を行なった。精度確認のため既に正確な回折強度がわかっている水、四塩化炭素について強度データの比較をおこなった。その結果、ほぼ完璧に近い数値が得られ、補正がうまくなされていたことが確認できた。波長の短い AgK α の使用により測定範囲の拡大、透過力の増大が実現した。また、AgK α 線を用いて初めて正確な水や四塩化炭素の正確な強度データが得ることができた。この装置を用いて液体ジクロロエチレンのトランス、シス体について解析実験を行った。予想通り二つとも強度データはピークも強度も違っていた。このデータよりそれぞれの動径分布関数を求めた。トランス、シス体とも分子内の関係については読みとることができた。隣の分子との関係を考えての液体の構造モデルをたてるのは今後の課題である。

(田口 哲也)

(7) 広角 X 線回折法を用いた超臨界流体二酸化炭素の構造解析の可能性について

様々な分野に用いられている超臨界流体の分子レベルでの構造解析を行うことを目的とし、広角 X 線回折実験用試料セルの製作、およびそれを用いての超臨界流体二酸化炭素の測定および強度解析の可否を検討した。

本研究ではまず SUS 316 をボディに、厚さ 2 mm の Be 板を窓として用いたセルを製作した。製作後、常温常圧の水を試料としその実用性を既存の液体用ホルダーを使用した場合と比較検討した。その結果、液体については高い実用性が確認することができた。

そこで、液体 (6.45 MPa, 18.5°C) および超臨界状態 (7.41 MPa, 35.0°C) 二酸化炭素について回折実験を行いその回折強度データを得た。ちなみに、二酸化炭素の臨界点は 7.38 MPa, 31.0°C である。また、そのデータの解析について検討を行った。その結果、①超臨界流体は全範囲で等しい密度をもっているのではなくクラスター的な密の部分と気体自由分子に近い粗な部分とが入り混った構造になっていること、②超臨界流体の密の部分と液体を比較した場合、その分子間距離は超臨界流体の方が長いことがわかった。

この結果より、超臨界流体の構造解析が X 線回折法を用いて可能であることが示唆された。今後、小角 X 線回折法とデータを組み合わせていくことにより超臨界流体の構造解析が行えると考えている。(武松 正和)

(8) 低温用 X 線回折装置の製作と C₆₀ の単結晶のディフューズ・パターンの測定

C₆₀ は常温では柔粘性結晶である。柔粘性結晶とは、結晶のように分子が結晶格子上に固定されているが、液体のように分子が等方的に回転、あるいは大きな回転振動している物質である。そのため X 線回折実験を行ったとき液体特有のディフューズ・パターン (散漫な散乱) と結晶特有のスポット (点) が重なってみられる。その柔粘性結晶を冷却していくと回転、回転振動が停止し、相転移して結晶に変化する。C₆₀ の場合、文献によるとその温度は -13°C である。東大北沢研より C₆₀ 単結晶の提供を受けたので柔粘性結晶と結晶の相転移前後をディフューズ・パターンに焦点を絞り観測した。

C₆₀ を冷却するための装置を自作した。液体窒素で冷やされた窒素ガスを吹き付け、さらに試料に霜が付くのを防ぐため二重ガラス管とした。外側のガラス管から乾燥空気を流して内側を流れている冷却窒素ガスを包み込んで室内の空気の水分の露結および氷結を防いだ。

室温 (19°C) と低温 (-16°C) の回折像を比べてみると、室温のディフューズ・パターンがはるかに強かった。またそのパターンの等方性から柔粘性結晶相での C₆₀ 分子の自由回転が予想される。低温相でも若干のディフューズ・パターンが残る。これは、格子欠陥などの結晶の乱れに起因するものと思われる。また低温相での回折点の増加は回転が停止したことによる分子の方向の異方化によって、それまで等方的で単結晶であった C₆₀ が多結晶になったためと考えられる。(竹内 勇人)

3. 有機化学および生物化学

(1) 耐熱性甘味タンパク質マビンリン I および II の結晶化に関する研究

耐熱性甘味タンパク質マビンリン I および II の X 線結晶構造解析に必要な結晶を得ることを目的に結晶化の条件を検討した。結晶化はハンギングドロップ蒸気拡散平衡化法で行った。外液は CRYSTAL SCREEN REAGENT COMPONENTS (Hampton Research, U. S. A.) を指標にし、沈殿剤濃度、pH などを変化させた。

マビンリン II におけるスクリーニングでは、外液組成 [沈殿剤：40% 2-メチル-2,4-ペンタンジオール、緩衝液：0.1 M 酢酸ナトリウム (pH 4.6)、塩：0.02 M 塩化カルシウム] および、外液組成 [沈殿剤：40% 2-プロパノール、緩衝液：0.1 M 酢酸ナトリウム (pH 4.6)、塩：0.2 M 塩化カルシウム] を用いたとき、約 20 μm の結晶を得た。

マビンリン I-1 におけるスクリーニングでは、外液組成 [沈殿剤：30% 2-メチル-2,4-ペンタンジオール、緩衝液：0.1 M カコジル酸ナトリウム (pH 6.5)、塩：0.2 M 酢酸マグネシウム] において 10 μm 程度の結晶を得た。また、沈殿剤にポリエチレングリコールを用いた時には微結晶が多く生成した。

以上、結晶を与える条件についてある程度の知見が得られたが、いずれの場合も X 線結晶構造解析に適する大きさではなかった。(堀 明美)

(2) 耐熱性甘味タンパク質マビンリン I-1 のジスルフィド結合位置の決定

マビンリンは、中国雲南省地方に自生するつる性の低木 *Capparis masaikai* (フウチョウソウ科) の種子に含まれる耐熱性甘味タンパク質である。マビンリン I-1 は、A 鎖および B 鎖から構成されており、A 鎖と B 鎖にはそれぞれ 2 個、6 個のシステイン残基が存在することがすでに報告されている。

本研究ではマビンリン I-1 のジスルフィド結合位置を決定することを目的にした。マビンリン I-1 をトリプシンにより消化したのち、生成したペプチドを逆相高速液体クロマトグラフィーにより分離した。各ペプチドを過ギ酸酸化し、システイン酸を検出することによりシスチンを含むペプチド T-19 および T-21 を確認した。T-19 についてアミノ酸組成分析、アミノ酸配列分析を行った結果、A 鎖の 17 番と B 鎖の 10 番および B 鎖の 11 番と B 鎖の 59 番がそれぞれジスルフィド結合していることが明らかになった。T-21 についてはサーモリシンで再消化し、2 種のシスチンペプチドを得た。これらのアミノ酸配列分析を行った結果、A 鎖の 4 番と B 鎖の 21 番および B 鎖の 23 番と B 鎖の 67 番がジスルフィド結合していることが明らかになった。

以上の結果、マビンリン I-1 のジスルフィド結合位置が決定され、それらは、ペプチド鎖間および鎖内にそれぞれ 2 組存在することが明らかになった。(高塚 美由紀)

(4) 生体内における11-シス-レチナールの働き

生物の眼の視物質(ロドプシン)を形成している11-シス-レチナールがホタルイカの肝臓内で抽出されている。本研究では、他の生物の肝臓にも11-シス-レチナールが含まれているかを調べることを目的とした。

最初にスルメイカをサンプルとした。肝臓をアセトンで抽出し、遠心分離で精製した。カラムクロマトグラフィーでリン酸脂質などを除いた後、加水分解を行い、レチナール型にし、薄層クロマトグラフィーで11-シス-レチナールを収集しHPLC用サンプルとした。結果、HPLCでは11-シス型を確認できた。さらに、ロドプシン再生実験でも11-シス-レチナールが確認できた。同様に、サンマ、ウシでもHPLCで11-シス型を確認することができた。

次に肝臓の11-シス-レチナールが眼以外で生理的に必要なかを調べるために、スルメイカの皮及び足に11-シス-レチナールが存在するかを調べた。操作の中で水溶性の物質がレチナールのヘキサン抽出を妨げたので、逆相カラムクロマトグラフィーを取り入れ、この物質を取り除いた。結果、HPLCでは11-シス型を確認することができた。ただし量が少なかったため、ロドプシン再生実験では確認できなかった。

今後、11-シス-レチナールの存在を確実に確認し、11-シス-レチナールの働きに理解が深まっていくものと考えている。(八巻 康一)

(5) ロドプシンの再生に対する脂質の影響

再生の面からタンパク質と脂質の相互作用を調べる準備段階として、本研究ではイカのロドプシンをまず再生させることを目的とした。

精製したイカロドプシン膜にヒドロキシルアミンを加え、光照射し、退色させた。その後、遠心分離を繰り返すことによってロドプシンの再生を阻害するヒドロキシルアミンを除き、オプシン膜を得た。

そのオプシン膜に11-シス-レチナールを加えたところ、ロドプシンの吸収ピーク付近にグラフの膨らみが見られたが、ヒドロキシルアミンの添加で大幅に吸光度が減少した。ロドプシンがヒドロキシルアミンに安定なのに対して、メタロドプシンは不安定であること、また11-シス-レチナールの添加によってメタロドプシンの吸収ピーク490nmで最も吸収が増えていることから考え、退色させることによって得たオプシンは11-シス-レチナールではなく、オールトランスレチナールと結びついたと考えられた。このことは①イカのオプシンがオールトランスレチナールと非常に親和性が高い。②レチナールをはずしたタンパク質がオールトランスレチナールしか受け付けない。という2つの可能性を示す。

そのため今後イカロドプシンを再生させるには、11-シス-レチナールの純度を上げ新鮮なサンプルを入手することが必要である。(佐久間 富美)

(6) イカ桿体外節中のリン脂質の脂肪酸組成について

ロドプシンを取り囲む脂質二分子膜のリン脂質のうち、ホスファチジルコリン (PC) とホスファチジルエタノールアミン (PE) は約 80% を占める。本研究では、イカをサンプルとして、PC・PE の各分子種を決定することを目的とした。

まず、遠心分離によりイカ網膜から視細胞外節の精製を行い、Bligh-Dyer 改良法で脂質の抽出を行った。次に薄層クロマトグラフィーで PC・PE を分取し、高速液体クロマトグラフィーにより各分子種に分離させ、ガスクロマトグラフィーを用いて各構成脂肪酸分析を行った。

ガスクロマトグラムから得た各脂肪酸の重量パーセントと、高速液体クロマトグラフィーの溶出順序から、PC は C 16 : 0 と C 22 : 6, PE は C 20 : 5 と C 22 : 6, C 22 : 6 と C 22 : 6, C 20 : 4 と C 22 : 6 の組み合わせからなる分子種でほぼ構成されていることが明らかになった。このことから、イカ桿体外節におけるリン脂質においては、PC は PE よりも組成が単純であり、PE の方が不飽和度の高い脂肪酸から成っているといえることができる。また PC・PE とともに不飽和度の高い脂肪酸の多いことから、イカにおいてはロドプシンを取り囲む脂質二分子膜は、流動性の大きい、かなり柔らかい膜になっていることが予想される。(石山 しのぶ)

(7) アキアカネ複眼中における視物質の精製

無脊椎動物において視物質の精製は頭足類の一部でしか行われておらず、未だ未知の部分が多い。そこで本研究では無脊椎動物の中で昆虫を取りあげ、アキアカネをサンプルとして視物質を精製することを目的とした。

アキアカネの視物質の精製は、まず試料を遠心分離にかけ、ある程度不純物を取り除いた後にコール酸ナトリウムを用い抽出し、陰イオン交換クロマトグラフィーにかける方法を取った。

陰イオン交換クロマトグラフィー (充填剤 DEAT-Sephacel) での各フラクションについて、高速液体クロマトグラフィーによるレチナールの確認を行ったところ 10 mM, 100 mM, 200 mM の各溶離液 (Na⁻K リン酸緩衝液 0.2% コール酸ナトリウム) で溶出される物でレチナールの存在が確認できた。このうち 200 mM 溶離液で溶出された物では、レチナールの 11-cis 型から all-trans 型への光異性化も確認された。この陰イオン交換クロマトグラフィーの条件は、アキアカネと同じ無脊椎動物であるイカを用いてカラムの再現性を確認した後に使用した。

以上の結果から、多少の不純物は含まれると思われるもののアキアカネの視物質の一部が精製されたといえるだろう。今後他の視物質も精製されることを期待する。

(杉山 仁)