

## 2P140 Hofmeister Series の Cation の水溶液中における微視的混合状態

### 過剰部分モルエンタルピーからの解析

(千葉大院自然科学<sup>1</sup>・分子研<sup>2</sup>・Univ. British Columbia<sup>3</sup>)

加藤 仁<sup>1</sup>, 片柳英樹<sup>2</sup>, 古賀精方<sup>3</sup>, 西川恵子<sup>1</sup>

**【序】** 水は、分子間に形成される水素結合により他の分子性液体とは異なる性質を示す“異常”な物質であるといえる。我々はこれまで、水の構造に及ぼす溶質の効果を調べるため、1-Propanol(1P)の熱力学的挙動をプローブとして、1P/H<sub>2</sub>O/塩類の 3 成分系で熱力学量測定を行ってきた。2 成分系の 1P/H<sub>2</sub>O では、水溶液中の微視的な混ざり方、すなわち“Mixing Scheme”は、その水素結合様式から 3 種類に分類できる。1P 濃度の低い領域(Mixing Scheme I)では、全体の水素結合確率は通常より減るものの、水は水素結合網を保ったままであり、1P の周りには Iceberg が形成されている。しかし 1P 濃度が増加するとやがて水素結合網のパーコレーションがなくなり(Mixing Scheme II)、さらに高濃度領域(Mixing Scheme III)では水素結合がゼロになり、1P 分子はクラスターを形成する。

種々の熱力学量は、Gibbs エネルギー( $G$ )の微分の次数に応じて分類できる。すなわち、過剰エンタルピー( $H^E$ )は  $G$  の温度についての 1 次の微分量であり、過剰部分モルエンタルピー( $H_{1P}^E$ )は  $G$  の温度と 1P の物質質量  $n_{1P}$  についての 2 次の微分量である。この微分の次数が高い程、系の微細な変化を捕らえることができると考えられるので、 $H_{1P}^E$  の  $n_{1P}$  微分で定義される量  $H_{1P-1P}^E$  から 1P のエンタルピー的相互作用を詳細に知ることができる。 $H_{1P-1P}^E$  は、同じく  $G$  の 3 次の微分量である 1P の部分モルエントロピー - 体積相互ゆらぎ( $^{SV}_{1P}$ )と高い相関を持つ。 $^{SV}_{1P}$  には水の異常性が顕著に現れ、水溶液の Mixing Scheme の変化に敏感である。3 種類の Mixing Scheme の詳細は  $H_{1P-1P}^E$  のパターンの解析から得られた。

本研究では、タンパク質に様々なイオンを加えた時の塩析の効果を定量的に求め系統的に並べた“Hofmeister series”のイオンについて、その 3 成分水溶液における  $H_{1P-1P}^E$  を求め、そのパターンがイオンの存在下でいかに変化するかにより、各イオンの水の構造への影響を調べることが目的である。<sup>1)</sup> Hofmeister Anion についての研究は既に行っており、各 Anion の水溶液中の性質と Hofmeister series の順序を関連付けた。<sup>2,3)</sup>

Hofmeister series の Cation である  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$  ( $\text{TMA}^+$ )の塩化物の水溶液について、 $H_{1P}^E$  の 1P 濃度依存性を実験により求めた。Cl<sup>-</sup>は水溶液中では Hydration center として振舞う。つまり、Cl<sup>-</sup>は第一水和圏に少数個の水分子を水和するが、バルクの水は通常の水と何ら変わらず Cl<sup>-</sup>の影響を受けない。そこで、上記の塩化物の水溶液を試料とすることで、各 Cation が水に及ぼす影響を知ることができる。実験の結果から、エンタルピー的 1P-1P 相互作用  $H_{1P-1P}^E$  を求め、その濃度依存性が塩の存在によってどう変わるかにより、各イオンが水の構造をどのように変えるかを推測し、Hofmeister series の順序との関係を考察した。

**【実験】**  $H_{1P}^E$  の測定には、我々が製作した滴定熱量計を使用した。数種類の濃度の NaCl, CaCl<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, N(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Cl (TMAC)の各水溶液を試料とし、1P を混合する際の  $H_{1P}^E$  を測定した。さらに、 $H_{1P}^E$  を 1P の濃度で微分することで  $H_{1P-1P}^E$  を求めた。測定は 25 °C で行った。

**【結果と考察】** 実験結果の一部として、TMAC, NH<sub>4</sub>Cl, CaCl<sub>2</sub> についての実験により得られた  $H_{1P}^E$  から計算した  $H_{1P-1P}^E$  を Fig. 1 に示す。 $H_{1P-1P}^E$  の急激な増加および減少が見られる部分にそれぞれ直線をフィッティングし、その交点を X 点とすると、この点は Mixing Scheme I から II への転移が始まる点であり、X 点より 1P 濃度の低い側では前述の Mixing Scheme I となる。Fig. 1 から、 $H_{1P-1P}^E$  のパターンの変化の仕方、特に X 点の動き方に対する TMAC の効果は、NH<sub>4</sub>Cl, CaCl<sub>2</sub> の場合と質的に異なることが分かる。つまり、前者では塩濃度の増加に伴い X 点が左下に移動し、後者は真左に移動している。また、NaCl に関しても後者と同様であった。後者については、イオンがいくつかの水分子を水和するためにバルクの自由な水分子の数が減り、グラフが左に縮む形になったと考えられる。すなわち、 $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$  は Cl<sup>-</sup> と同様に Hydration center であるといえる。さらに、 $H_{1P-1P}^E$  の値が X 点で不変、出発点

$x_{1P}=0$  でも誤差内で不変であることから、バルクの水は水和水を略奪された以外はこれらイオンの影響を受けていないと議論される。Fig. 2 は、Fig. 1 における X 点の位置  $x_{1P}$  に対して、塩の初濃度  $x_{salt}^0$  をプロットした相図である。Mixing Scheme I から II への転移開始点の軌跡は、相図中に直線(図中の破線)として描け、この直線を縦軸に外挿したときの交点  $x_{salt}^0$  からイオンの水和数( $n_H$ )を見積もることができる。NaCl の水和数を計算すると、 $n_H = 7.5 \pm 0.6$  であった。第一原理 MD シミュレーションによれば、 $Na^+$  は  $n_H = 5.2$  であるため、<sup>4)</sup>  $Cl^-$  は  $n_H = 2.3 \pm 0.6$  となる。これを用いて各塩の水和数を計算すると、 $NH_4^+$ 、 $Ca^{2+}$  の水和数はそれぞれ  $1.2 \pm 0.4$ 、 $6.4 \pm 1.6$  となった。このことを考慮すると、TMAC(Fig. 1(a))については、X 点は  $Cl^-$  の水和のために左にずれ、 $TMA^+$  によって下にずれるものと考えられる。Fig. 2(a)に示すように、1P/ $H_2O$ /TMAC の系の Mixing Scheme boundary は直線となり、TMAC の水和数は  $2.1 \pm 0.3$  であった。これは  $Cl^-$  の水和数と Error bar の範囲内で一致し、 $TMA^+$  は水和をしないことが分かる。またこれまでの研究では、Fig.1(a)のような  $H_{1P-1P}^E$  の値を減らす傾向は、尿素やグリセロールのように溶質が親水性である場合に見られた。従って  $TMA^+$  も親水性であり、水に溶け込むと水素結合網に加担し水本来の揺らぎの度合いを下げるものと考えられる。

Fig. 2 に示されるように、塩濃度の高い側では、 $x_{1P}=0.050, 0.035, 0.020, 0.015$  (それぞれ溶質が TMAC,  $NH_4Cl$ , NaCl,  $CaCl_2$  のとき)で液液相分離が生じた。すなわち、1P に対する塩析の効果の順序は、 $Ca^{2+} > Na^+ > NH_4^+ > TMA^+$  となる。また水和数の大小を比べても同じ順序となる。これは Ref. (5) の Hofmeister series の順序と一致する。つまり、溶質の水和数が大きいほど、タンパク質が溶け込める水が少なくなるため、塩析が起こりやすくなるといえる。

各イオンの水に対する効果をさらに詳細に知るために、塩濃度の変化に伴う X 点の軌跡の推移の比較を行った。当日はその結果を含めて議論する予定である。

- 1) Y. Koga, H. Katayanagi, J. V. Davies, H. Kato, K. Nishikawa, P. Westh ; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* (In press)
- 2) Y. Koga, P. Westh, J. V. Davies, K. Miki, K. Nishikawa, H. Katayanagi ; *J. Phys. Chem. A* 2004, **108**, 8533.
- 3) P. Westh, H. Kato, K. Nishikawa, Y. Koga ; *J. Phys. Chem. A* 2006, **110**, 2072.
- 4) J. A. White, E. Schewgler, G. Galli, G. J. Gygi ; *J. Chem. Phys.* 2000, **113**, 4668.
- 5) T. Lopez-Leon, A. B. Jodar-Reyes, D. Bastos-Gonzalez, J. L. Ortega-Vinuesa ; *J. Phys. Chem. B* 2003, **107**, 5696.

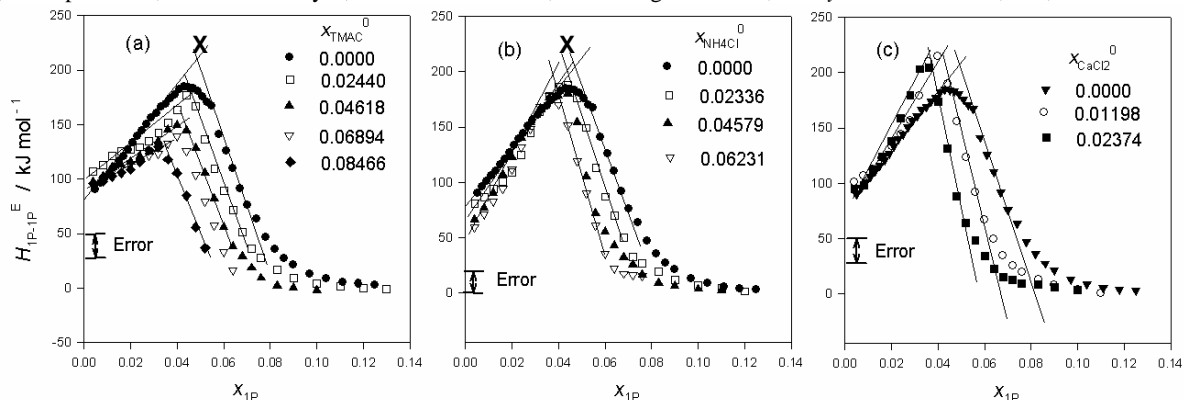


Fig. 1 Enthalpic interaction function for 1P-  $H_2O$ -X, X=TMAC(a),  $NH_4Cl$ (b),  $CaCl_2$ (c)

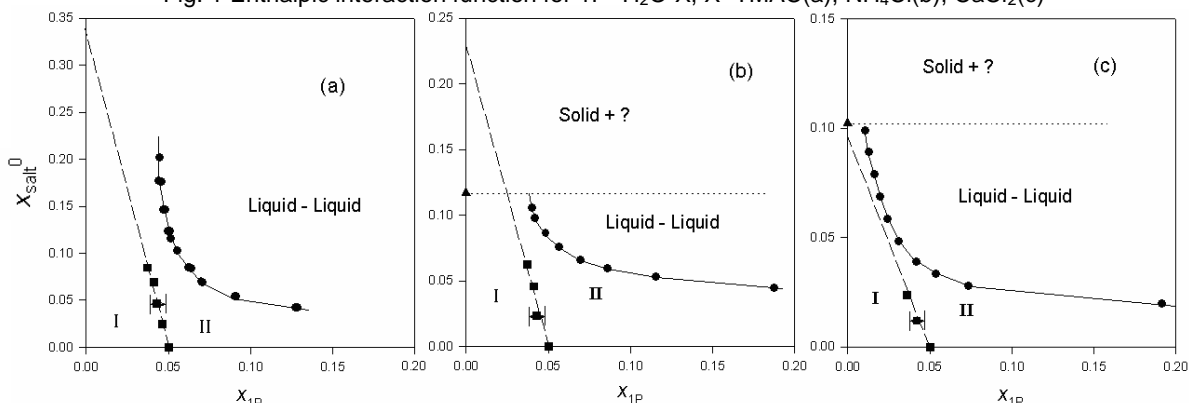


Fig. 2 Phase diagram and Mixing Scheme boundary for 1P- $H_2O$ -X, X=TMAC(a),  $NH_4Cl$ (b),  $CaCl_2$ (c)