

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：82110

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05573

研究課題名（和文）気液界面X線吸収分光法を用いたソフト界面における対イオンの水和構造の解明

研究課題名（英文）Elucidation of Hydration Structure of Counter Ion at Soft interface by Air Water Interface X-ray Absorption Spectroscopy

研究代表者

谷田 肇（Tanida, Hajime）

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門 原子力科学研究所 物質科学研究センター・技術副主幹

研究者番号：70301760

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：周期表でCa以下の軽元素に適用できる気液界面電子収量X線吸収分光法の開発を試みた。P、S、ClのK吸収端の測定を目的とした直入射型の電子収量法では目的のスペクトルを得ることが出来なかった。界面に対してX線を水平もしくは振り下げた状態で照射し、照射面積を稼いで、信号強度を上げる必要があった。一方で、全反射型でCa K吸収端のスペクトルを得ることに成功した。このデータにより、気液界面で、界面活性剤が存在している場合としていないときで、Caの水和構造がどのようになっているかを明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

P、S、Cl、Caなどは基礎的で重要な元素であり、その水和構造を知ることは環境中、あるいは生体内などで、その機能を知る上で必須である。特に気液界面での構造、界面活性剤と相互作用しているときの構造は極めて重要である。ところが、直接観察する方法はあまりなく、X線吸収分光法はそれを可能にする手法であるが、気液界面での構造を知る方法は無い。本研究成果で少なくともCaについてはその気液界面における水和構造を明らかにすることができた。

研究成果の概要（英文）：We attempted to develop the air-water electron-yield X-ray absorption method applicable to light elements below Ca in the periodic table. We could not obtain the spectra by the direct-incidence electron-yield method for measuring the K edge of P, S, and Cl. It was necessary to irradiate X-rays to the interface either horizontally or by glancing the X-rays down in order to increase the foot-print at the interface and signal intensity. On the other hand, we succeeded in obtaining spectra on the Ca K edge by the total reflection method. This data allowed us to clarify the hydration structure of Ca at the air-water interface with and without the surfactant present.

研究分野：分析化学

キーワード：気液界面 X線吸収分光法 全反射 水和 界面活性剤 カルシウムイオン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

イオンの水和構造は、熱力学的な方法や各種の振動分光法など、様々な分析方法で分析されているが、気水あるいは油水界面における構造を選択的に見ることは難しい。界面の水和構造が重要な例として、ホフマイスター系列がある。これは、タンパク質の塩析に影響を及ぼすイオンの順列であり、1888年にドイツの化学者フランツ・ホフマイスターによって提唱された。例えば、最近の報告例では、陰イオンと陽イオンについては、それぞれ次の順番で、低濃度でタンパク質を塩析、析出、沈殿すると知られている[M. Sega, et.al. J. Phys. Chem. B 2017, 121, 1997]。



これは水の構造化の能力を示していると考えられ、この現象の解明は、タンパク質やリン脂質膜を扱う生化学、界面活性剤などの表面現象を扱う物理化学、溶媒抽出を扱う分析化学、界面構造のシミュレーションを扱う計算科学などの分野において極めて重要である。

例えば、2014年には、田原らにより、和周波発生法 (Sum Frequency Generation : SHG) を用いて、ホフマイスター系列の新しいメカニズムを提案し、注目を集めている[S. Nihonyanagi, et.al. J. Am. Chem. Soc. 2014, 136, 17, 6155]。この研究では、界面におけるイオンの水素結合が重要であるというモデルが提案されている。また、その後のLiuらの研究[L. Liu, et.al. Soft matter, 2017, 13, 68-80]など、イオンがタンパク質のような高分子と直接相互作用しているかどうかは世界的にも注目を集めている。図1にはタンパク質とイオンが直接結合することにより塩析している様子と、イオンが水和することにより、タンパク質が溶解している様子を示している。

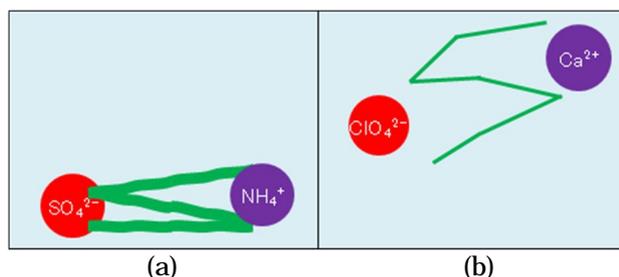


図1. (a)タンパク質の塩析(対イオンは直接、タンパク質のアルキル鎖と結合している)。 (b) タンパク質の溶解(対イオンは水和構造を保持して、タンパク質のアルキル鎖と相互作用している)

2. 研究の目的

これまで行われている研究は分子構造を直接観察する物ではなく、各種の振動分光法や熱力学といったマクロな手法によるものが多い。これらの方法では、水和距離や水和数を直接求めることができない。また、実際にタンパク質の様な巨大な分子を扱うことは、様々な相互作用が影響し、タンパク質とイオンの相互作用のみを抽出することが難しい。本研究では、界面に注目し、タンパク質分子中の疎水基と親水基を構成する分子として界面活性剤を用い、界面における分子構造を選択的に明らかにするために、X線吸収分光法、X線吸収微細構造(X-ray Absorption Fine Structure, XAFS)を用いた分析方法の開発を試みた。

XAFSは水和構造を明らかにすることの出来る手法であり、溶液のような非結晶な化学種周りの局所構造、第一水和圏の水和距離や水和数を量的に見積もることができる。また、比較的希薄な試料についても適用でき、元素選択的である。ただし、タンパク質と結合しているイオンのみを選択的にみることは難しい。そこで、そのモデルとして、タンパク質分子と同様に疎水性のアルキル鎖と親水性の極性基を持つ界面活性剤を用い、界面活性剤に吸着している水和イオンの水和構造を明らかにすることを目的とした。図2にその様子を示す。

XAFS解析により、水和構造が明らかになり、イオンが直接極性基と結合しているか、水分子を介して結合しているかが分かる。この結合の違いはタンパク質の塩析に極めて重要な情報である。

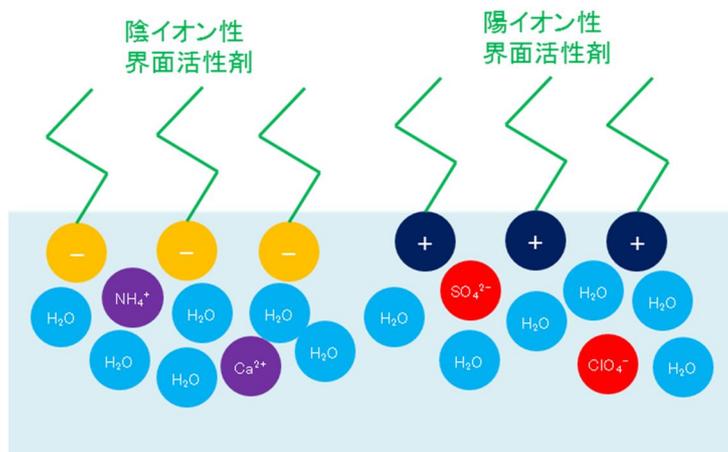


図 2. 気液界面における界面活性剤と対イオンの水和の様子

3. 研究の方法

ホフマイスター系列のタンパク質においてイオンと相互作用をする極性基とアルキル鎖を持つ界面活性剤を用いる。陰イオン性界面活性剤としてカルボン酸基[-COO]やスルホン酸基[-SO₄]²⁻を持つ分子が存在する気液界面下においてK⁺、Ca²⁺の測定を全反射法での測定を試みた。さらに陽イオン性界面活性剤としてトリメチルアンモニウム基[-N(CH₃)₃]⁺を持つ分子が存在する気液界面下において、Cl⁻の測定を直入射法で試みた。

気液界面において界面活性剤に吸着するイオンの水和構造を選択的に見る方法として、全反射法を我々のグループでは新規開発し、気液界面における Br⁻が、界面活性剤の存在下で偏析し、その水和構造、水和数が変化することを明らかにしている [I. Watanabe, et.al. Rev. Sci. Instrum. 1997, 68, 3307]。ただし、K⁺、Ca²⁺などの測定では、X線の吸収端のエネルギーが低く、空气中、あるいは溶媒蒸気中を通る X線の強度が大きく減少し、測定が困難である。一方でこれらのイオンは生体内でも極めて重要な元素であり、価数が違うことによる、吸着、水和構造の違いを調べるためにも測定出来るシステムを新たに構築することを試みた。茨城県つくば市にある高エネルギー加速器研究機構放射光実験施設 BL7C において、測定を行った。

P、S、Cl などのさらに低エネルギーに吸収端を持つ元素については、全反射法の適用が難しい。そこで、X線の侵入深さ、光電子の脱出深さが極端に小さくなることを利用した方法を新規に開発する。気液界面に X線を照射しても、X線は水中を数 μm 以下しか侵入しない。一方、X線によって励起される光電子も気液界面において数十 nm 以下しか脱出出来ず、気液界面に X線を照射しても極最表面のみを検出することになる。気相に飛び出した電子はすぐに溶媒蒸気などの雰囲気ガスに吸収されるが、界面近傍に電極を設置し、気液界面との間に流れる電流を検出することにより、測定を行うことを試みた。図 4 にその概念図を示す。

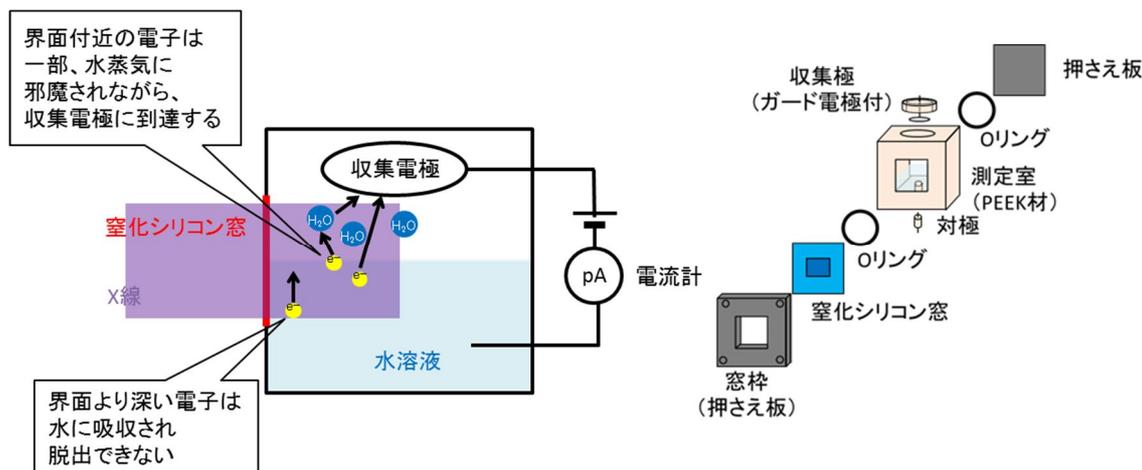


図 3. 直入射による電子収量法概念図 (左) とセルの模式図 (右)

測定は、兵庫県西播磨にある SPring-8 の BL23SU、Ca によるテスト測定を BL22XU、茨城県つくば市にある高エネルギー加速器研究機構 (KEK) の放射光実験施設 (PF) の BL27A と BL9A、滋賀県草津市にある立命館大学 SR センター-BL13 などで行った。

4. 研究成果

結果として、直入射法はうまくいかなかった。原因として、ほとんどのビームラインはX線ビームをミラーによって振り上げて、角度が付いている。そのため、界面でのフットプリントが小さく、十分な信号強度を得ることが出来なかった。

例えば、図4に直入射法による電子収量スペクトルを示す。このスペクトルはSPring-8 BL27SUのBブランチにおいてSi(111)のチャンネルカット結晶とNiコーティングのミラー2枚を用いる標準的な光学系で測定した。図4(a)にNaCl水溶液の結果を示す。界面の位置にX線を照射したスペクトルをinterfaceと表記し、界面より上で溶液の無い位置をair、界面より下でX線が当たっている位置をbulkと示した。Interfaceでは2824 eV付近にCl K端が見られ、濃度が1 Mよりも5 Mの方が吸収端のジャンプ量がより大きい。airでもCl K端が観察され、これはセル内の散乱X線が溶液表面にあたり、信号が検出されたと考えている。BulkではCl K端は観察されない。図4(b)でNaClと界面活性剤の塩化テトラブチルアンモニウム(TBACl)の比較を行った。水溶液表面の位置にX線が照射された時のスペクトルで、青色が左の軸で、1M NaCl水溶液、橙色が右の軸で、1 mMのTBACl水溶液である。非常に信号強度が弱い、2824eV付近にCl K吸収端のピークが観察される。濃度が1000倍異なるが、ほぼ同じようなピーク高さを示し、界面濃縮の様子を捉えることが出来たと考えている。ただし、解析できるほどの強度を得ることが出来なかった。

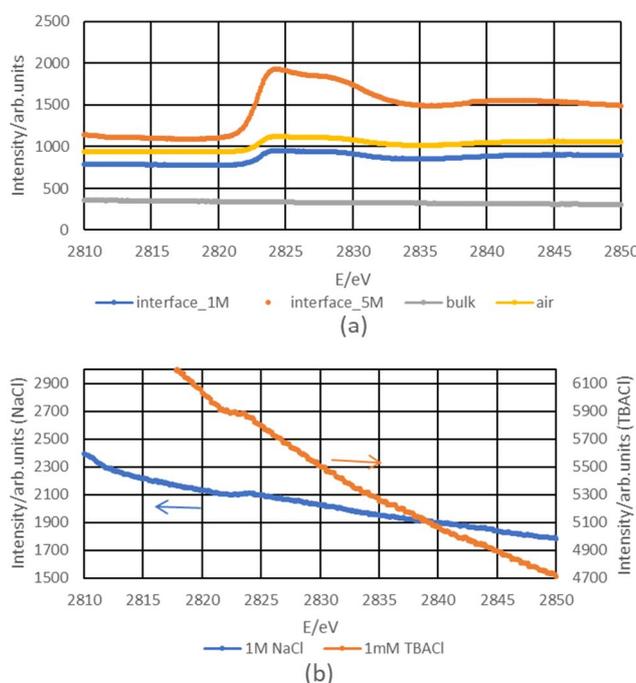
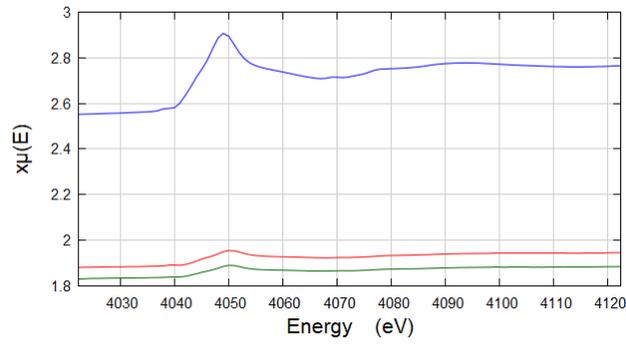


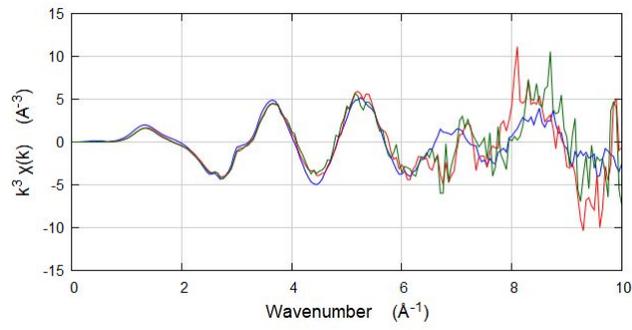
図4. 直入射法による電子収量X線吸収スペクトル。(a) NaCl水溶液表面の電子収量スペクトルの濃度による比較。(b) NaClとTBAClのスペクトルの比較

全反射法では図5のスペクトルを得た。測定はKEK PFのBL7Cで行い、Si(111)の二結晶分光器でサジタルフォーカスを行って集光した後、Siのミラー1枚を2 mrad傾けて、水面への入射角を約4 mradとした。また、高次光を除去するために、分光器の60%デチューンを行った。

図5(a)において、青が1000 mmol/kg CaCl₂水溶液、緑と赤が0.571 mmol/kg CaCl₂に対してオクチルベンゼンスルホン酸ナトリウム(SOBS)をそれぞれ2 mmol/kgと1 mmol/kg加えたときのスペクトルである。吸収端のジャンプ量はCaの存在量を示しているが、青では約0.17であるのに対して、SOBSを加えた緑と赤では約0.038となっている。Caのバルク濃度比では、緑と赤の吸収端ジャンプ量は 9.7×10^{-5} となるが、界面活性剤であるSOBの表面濃縮効果により、気液界面における濃度が大きくなり、表面敏感な全反射電子収量法により、その表面濃縮の様子を捉えることができた。図5(b)にはデータ処理を行った後の広域X線吸収微細構造(Extended X-ray Absorption Near Edge Structure, EXAFS)のスペクトルを示す。横軸kが6以上の領域でスペクトルに違いが現れており、を完全水和のCaと表面のスルホ基に結合したCaの水和構造の違いを捉えている可能性がある。詳細な解析を今後行う予定である。



(a)



(b)

図 5. 全反射全電子収量 X 線吸収分光法によるスペクトル。青色が 1000 mmol/kg CaCl_2 水溶液、緑と赤が 0.571 mol/kg CaCl_2 に対して、SOBS をそれぞれ 2 mmol/kg と 1 mmol/kg 加えたときのスペクトル。(a) X 線吸収スペクトル。(b) EXAFS スペクトル。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	今井 洋輔 (Imai Yosuke) (90738816)	九州大学・基幹教育院・助教 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関