

蛋白質-水系の熱容量測定

蛋白質-水間の相互作用は蛋白質の生化学的性質を支配するものの一つとして興味を持たれている。この相互作用の量的な性格を知る上にも、ここでの紹介論文と同一の著者らによる最近の一連の論文¹⁾“生化学モデル化合物溶液の熱化学”は貴重な測定結果を提供してくれているように思われる。

ここで紹介する論文^{2~4)}は、これと関連はしているが、別に、より端的に、二、三の球状蛋白質-水系を対象とした熱容量の測定による探索的な研究についてのものである。測定の目的は、蛋白質-水間の相互作用を把握すべく、蛋白質水溶液の熱容量測定から求めた溶質蛋白質の水溶液中の部分熱容量値と、乾燥蛋白質の熱容量値との比較にある。

測定に使用した熱量計は、双子型の投下式熱量計(伝導型、文献5には“Ampoule drop calorimeter for biological analysis”として紹介、装置の説明は文献3に詳しい)で、試料容器はOリング密閉式の厚さ0.3mmのステンレス製(固体および液体用、2.8g、内容0.7cm³)のものである。測定は、熱量計上部の恒温炉(furnace、温度 θ_i)で熱平衡に達せしめた試料アンブルを下部のアンブル受容部を有する測定ブロック(calorimetric block、温度 θ_f)に投下させて行う(温度差 $\Delta\theta = \theta_i - \theta_f$)。炉と測定ブロックの温度は0.001Kの正確さで、温度差を0.0003Kの精度で測定することが出来る。

実測は、参照空アンブルと試料用空アンブルおよび試料充填アンブルとの間で行われる。二つのアンブル間での熱量差 q は記録した時間(t) - 電圧(V)の積分値として $q = \epsilon \int V \cdot dt$ で与えられる。 ϵ は比例定数である。 $q / \Delta\theta$ は(1)式のようにアンブル(と)試料(熱容量 $C_1 + C_{\text{subst}}$)と参照空アンブル(熱容量 C_2)との間の熱容量差に等しいとして、 θ_i と θ_f の温度範囲に対する試料

$$\frac{q}{\Delta\theta} = (C_1 + C_{\text{subst}}) - C_2 \quad (1)$$

の平均熱容量を試料用空アンブルと充填アンブルとの測定値の差から(2)式によって求める。

$$C_{\text{subst}} = \frac{q_2}{\Delta\theta_2} - \frac{q_1}{\Delta\theta_1} = \{(C_1 + C_{\text{subst}}) - C_2\} - (C_1 - C_2) \quad (2)$$

ϵ は(3)式によって評価することができる。ここで、 C_p^* は標準物質(水)の熱容量、 ΔC_{corr} は凝縮とアンブ

$$\epsilon = \left\{ \left(\frac{1}{\Delta\theta_1} \right) \int_{\theta_1}^{\theta_2} C_p^*(\theta) d\theta + \Delta C_{\text{corr}} \right\} / \left\{ \frac{\int V \Delta t}{\Delta\theta_1} - \left(\frac{\int V \Delta t}{\Delta\theta_2} \right)_0 \right\} \quad (3)$$

ル内の空気置換にもとづく熱容量効果、 $\Delta\theta_1 = \theta_i - \theta_2$ は標準試料測定の場合の温度差、 $(\int V \Delta t)_0$ は空試料アンブルの測定温度差 $\Delta\theta_2$ における熱量である。

(3)式とは独立に、電気エネルギーの供給実験によっても ϵ は求まる。正確さを期すためにも両者の一致性は重要である。結果は後者が0.3%高い。原因として、ヒーター導線による熱損失、熱流パターンの相違、炉およびブロックの温度不均一性などが挙げられている。投下式の熱量計自体、先日Oetting博士の講演にもあったように、より本質的な問題も含まれているものと感じられる。 ϵ 値として前者の $(15.456 \pm 0.001) \text{ W} \cdot \text{V}^{-1}$ が用いられた。

この装置を用いて合成サファイヤ、安息香酸、ヘプタンについて298.15Kにおける熱容量値(すべてNBSの文献値あり)が求められた。後二者は全く良い一致が観られたが、サファイヤの場合にのみ文献値より0.2%低い結果が示されている。0.1%以下の系統的誤差の精度ですべて測定されている。

溶液(1~5wt.%)中の蛋白質の部分熱容量 $\bar{c}_{p,2}$ を、(4)式⁶⁾により、少なくとも3点の測定値から、 $(1+w_2) \cdot c_p$

$$(1+w_2) \cdot c_p = \bar{c}_{p,1} + w_2 \bar{c}_{p,2} \quad (4)$$

と w_2 との関係(よい直線性が得られた)によって求めた。ここで w_2 は水1g当りの蛋白質重量、 c_p は溶液の熱容量測定値、 $\bar{c}_{p,1}$ は水の部分熱容量である。水分量15wt.%までの含水量を異にした固体蛋白質についても、同様に、少なくとも4点の測定値で、 $(1+w_1) \cdot c_p$ と w_1 の関係、(よい直線性が得られた)から見掛けの部分熱容量 $(\bar{c}_{p,1}^{\circ})_{\text{app}}$ および $(\bar{c}_{p,2}^{\circ})_{\text{app}}$ が求められた。ここで w_1 は蛋白質1g当りの水の重量である。さらに、乾燥蛋白質(P_2O_5 上で少なくとも4日間常温で減圧乾燥)の熱容量 c_p° 値を測定した。これらの結果をまとめて下表に示す。298.15K, 単位は $\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ である。

	Lysozyme	Ovalbumin	Chymotrypsinogen
$\bar{c}_{p,2}$	1.71	1.55	1.73
$(\bar{c}_{p,1}^{\circ})_{\text{app}}$	5.82	5.77	5.14
$(\bar{c}_{p,2}^{\circ})_{\text{app}}$	1.109	1.176	1.209
c_p°	1.255	1.297	1.314

これは、著者の蛋白質に対するこの種の最初の探究で、現在進行中の蛋白質およびモデル化合物に関するより多くのデータを待つて詳細な解析をする意向が述べられている。しかしながら、水と接触状態にある疎水基や荷電は、モデル化合物実験から明らかに熱容量に影響を及ぼす。とくに疎水基の存在は、その影響下で形成された水構造の融解エンタルピーによると信ぜられる非常に大きな見掛けの熱容量値を連想させる。直接に蛋白質を対象にしたこの測定結果も、著者のその意向が満されている。

ただ、含水量零への外挿によって求めた $(\bar{c}_{p,2}^{\circ})_{app}$ と直接的に求めた c_p° の相違と傾向の違いに関しては、その指摘のみにとどまっている。

参考文献

- 1) J. Konicek, I. Wadsö, Acta Chem. Scand. **25**, 1541 (1971); K. Kusano, J. Suurkuusk, I. Wadsö, J. Chem. Thermodynamics **5**, 757 (1973); N. Nichols, I. Wadsö, *ibid.* **7**, 329 (1975); C. H. Spink, I. Wadsö, *ibid.* **7**, 561 (1975).
- 2) J. Suurkuusk, I. Wadsö, Third International Conference on Chemical Thermodynamics, Preprints **V**, p. 156 (1973).
- 3) J. Suurkuusk, I. Wadsö, J. Chem. Thermodynamics, **6**, 667 (1974).
- 4) J. Suurkuusk, Acta Chemica Scand. in press.
- 5) I. Wadsö, "熱・温度測定と熱分析 1973" 熱測定研究会編, 科学技術社, P.42.
- 6) G. C. Kresheck, L. Benjamin, J. Phys. Chem. **68**, 2476 (1964).

(森本 敏)

Dynamic Thermoacoustical Analysis

物質中の音波の伝搬速度の測定からその弾性率を求めることは古くから行われており、温度を段階的に上昇させながら温度による音速の変化を測定し、弾性率の温度依存性を求めることも行われている。しかし定速昇温下での測定が可能となるように装置を改良して、熱分析的に音速の測定を行ったのは恐らく Chatterjee^{1,2)} が最初であろう。

彼は軽い張力を加えた長さ一定の繊維試料に一定周波数(7kHz)の音波パルスを与え、その伝搬時間を一定速度で昇温しながら連続的に測定し、繊維試料中の音波の伝搬時間の温度変化から、試料に生じた物理的もしくは化学的な状態の変化を追跡している。彼はこの方法を Dynamic Thermoacoustical Analysis と名付けているが、物質中の音速の測定が弾性率を求めるための有力な手段であることから、熱機械測定(TMA)の1種と考えることも可能であろう。

測定装置³⁾は図1に示すように、加熱部には Du Pont 900 DTA の加熱ブロック(A)を水平に固定して利用し、温度のプログラミングと記録には Du Pont 900 モ

ジュールを用いている。加熱ブロックには基準試料および測定試料用のホルダー(T₂, T₃)および加熱エレメント用の孔(H)のほかに、2ヶ所に孔(T₁, T₄)がくり抜いてある。繊維試料はその一端をクランプ(S)に結び付け、プーリー(P₁), 圧電変換素子(Z₁), T₄, 圧電変換素子(Z₂), 一組のプーリー(P₂)を通し、最後に末端に5gのおもりをつるす。パルス発振器によってZ₁に7kHzの電気的なパルスを送ると、周波数の等しい音波パルスが発生し、繊維試料を通してZ₂に伝搬され、そこでふたたび電気的なパルスに変換される。この変換と同時にタイミング回路が閉じ、Z₁~Z₂(3.6cm)をパルスが伝搬するに要した時間が記録計(時間軸)に記録され、T₁に挿入した熱電対によって測定された温度はX-Y記録計に記録される。またT₂, T₃を本来の目的に用いることによってDTAとの同時測定が可能であり、DTA曲線はX-Y記録計に記録される。

測定例³⁾としてナイロン610の場合を図2に示すと、T_g(45℃)付近から伝搬時間は基線をはずれ、温度の上昇とともに連続的に増加する。融解が起こる前に150℃付近から伝搬時間は加速的に増加し、融点において伝搬時間の急激な上昇と、続いての繊維の切断によるゼロ線への瞬間的な低下が認められる。同時に測定したDTA曲線においても対応した変化が認められている。

そのほかにもこの装置を用いて各種の繊維の室温から融解温度または分解温度までの挙動の比較、あるいは延伸の影響が調べられている³⁾。また、その化学構造がどちらもセルロースからなっているため、綿とレーヨンをDTAやTGで判別することはできないが、この方法では分解領域における挙動の差から判別が可能となっている。

参考文献

- 1) P. K. Chatterjee Polymer Preprints **14**, 576 (1973)
- 2) P. K. Chatterjee La Nuova Chimica **1973**, Nr. 11, 91.
- 3) P. K. Chatterjee J. Macromol. Sci. --- Chem. A **8**, 191 (1974)

(中村 茂夫)

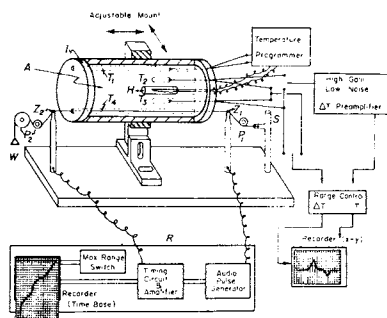


図1 装置の模式図

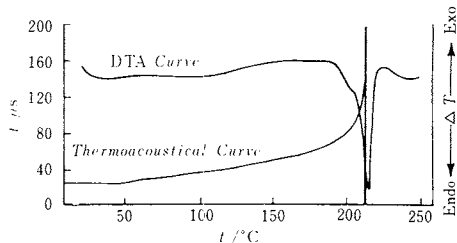


図2 ナイロン610のDTA curveおよび thermoacoustical curveの比較。空气中, 昇温速度20℃/min