

サンセットエローのポーラログラムに

およぼすゼラチンの影響

伊達善夫[※]・山本春海^{※※}

Yoshio DATE and Harumi YAMAMOTO

Effect of Gelatin on the Polarogram of Sunset Yellow

1. 緒言

ポーラログラフィーにおいて極大抑制剤として使用されるゼラチンの影響についてはすでにいくつかの系統的な研究がなされている^{(1)~(4)}。その中で最も包括的なものは Meites⁽²⁾ らによる研究であり、彼等はゼラチンをはじめ各種の極大抑制剤の挙動をしらべ、半波電位および拡散電流におよぼす影響や電極反応の可逆性におよぼす影響などによってこれら抑制剤を6つの組に分類している。また、たとえば田中および小林⁽³⁾ は、ゼラチンを0.01%以上添加すると α -および p -ニトロアニリンの1段波が2段に分離することを見出したが、同じ現象を Strassner⁽¹⁾ らは電極反応機構の立場から論じ、ゼラチンの濃度が増すにつれ電極表面で生じた中間生成物が安定化されるためであろうと説明している。

われわれは前報⁽⁵⁾においてサンセットエロー(SY)のポーラログラム的挙動を追求した際、高アルカリ性溶液中でゼラチンの添加によって波が2段に分離し、ゼラチンの濃度を増すにつれて第1波高が次第に低下してゆき最後にはほとんど消失するという現象を見出したが、さらにこのようなゼラチンの影響を詳細に検討した結果、ポーラログラムにひき起こされる変化が、水銀滴下極の表面に吸着されたゼラチンとプロトン解離型SY陰イオンとの静電的反撥作用に基づくものであることを明らかにすることができたので報告する。

2. 実験

2.1 装置および測定法

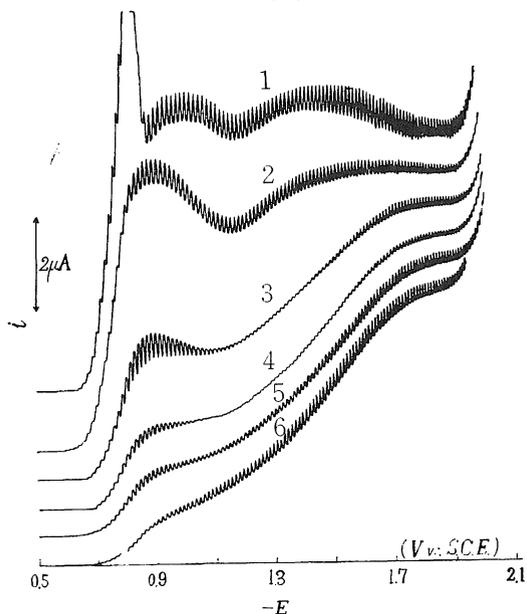
ポーラログラムに対するゼラチン添加の影響を測定す

る際には、前報⁽⁵⁾でのべたH型セルに10mlの電解液を入れ、これに0.5%ゼラチン溶液の所要量をマイクロピペットによって逐次添加した。その他のポーラログラム操作は前報⁽⁵⁾に準拠した。

2.2 試料

前報⁽⁵⁾に準拠した。

3. 実験結果と考察



ゼラチンの濃度 1 : 0%, 2 : 0.005%
3 : 0.01%, 4 : 0.015%
5 : 0.02%, 6 : 0.05%

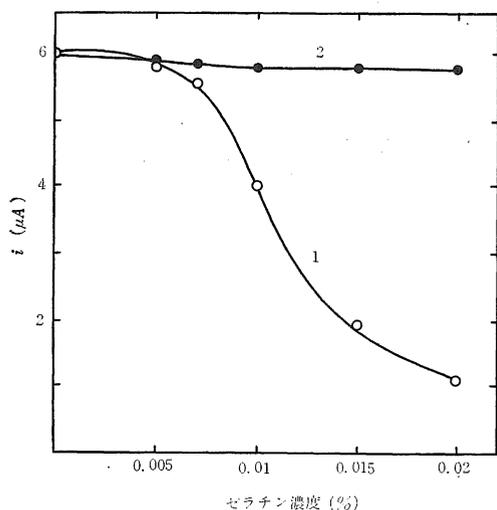
SYの濃度 = $0.89 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$, pH = 12.15, $\mu = 0.62$

図1 SYのポーラログラムに対するゼラチン濃度の影響

※ 農芸化学工学研究室
※※ 島根県衛生研究所

pH12.15におけるSYのポーラログラムに対し、ゼラチンの濃度を变化させた場合の影響を図1に示した。

ゼラチンを添加しない場合および0.005%添加した場合ポーラログラムの-1.15V付近に極小部が現われているが、これは脂肪族アミノオキシドの場合⁽⁶⁾におけると同様復極剤の吸着によるものと思われる。ゼラチンの濃度が増大するにつれてポーラログラムは、はっきりと2段に分離し、かつその1段波高は著しい減少を示した。この1段波高の最も高い部分をゼラチン濃度に対して点描すると図2が得られた。ゼラチン濃度0.005%程度ま



1：第1波高， 2：総波高
SYの濃度 $=0.89 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ ， pH=12.15
 $\mu=0.62$

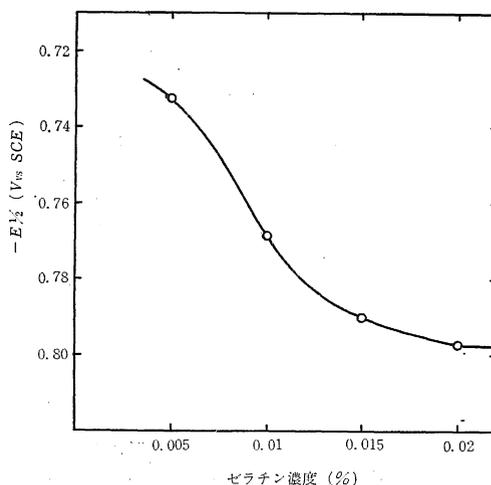
図2 SYのポーラログラム波高におよぼすゼラチン濃度の影響

ではほとんど変化はないが、この濃度を過ぎるあたりから急激に波高が減少し、0.02%以上の濃度では波高の変化の度合はふたたびゆるやかになる。

また、第1波の半波電位($E_{1/2}$)のこうむる変化をゼラチン濃度に対して点描すると、図3にみられるように第1波高に対するゼラチンの影響と全く相似的にゼラチン濃度の増大につれて $E_{1/2}$ が陰電位側に移行する。

このようなゼラチン添加の影響については2つの面からの解釈が考えられる。その1はゼラチンが電極表面に吸着することによって示す効果であり、その2は溶液中でゼラチンと復極剤とが結合することによって引き起こされる効果である。

まず、後の見解について考えてみる。アゾ化合物の分子中に含まれる SO_3H 基のpK値は色素の構造の如何



SYの濃度 $=0.89 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ ， pH=12.15
 $\mu=0.62$

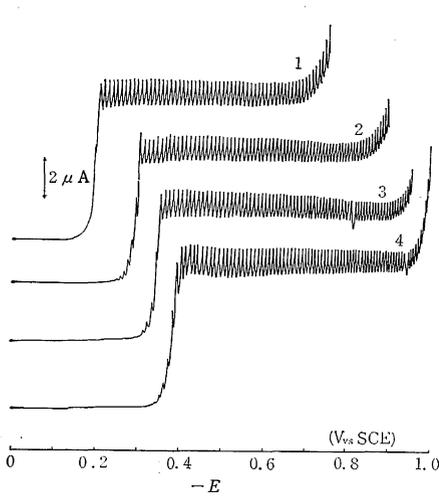
図3 SYの第1波の半波電位におよぼすゼラチン濃度の影響

にかかわらずおよそ2であると言われ、したがってSYの SO_3H 基もpH4以上では完全に解離しているものと考えてよい。

蛋白質と色素陰イオンとの親和性は、酸性あるいは、中性の水溶液中では非常に大きく、アルカリ性になるといちじるしく弱まる事が知られている。そしてその結合性は酸性中では主として色素陰イオンと蛋白質中の陽荷電をもつ塩基性基との間の静電引力に基づき、中性溶液では色素中の水酸基、アミノ基あるいはアゾ基など非イオン性の基と蛋白質中のアミノ基との間の水素結合に主として基づくと考えられている。⁽⁸⁾

われわれの実験では、SYのポーラログラムに対するゼラチンの影響はpH10以上のアルカリ性色においてのみ認められた。そしてオレンジI、オレンジII⁽⁵⁾など分子中に SO_3^- 基をただ1個しかもたないものは例えば図4のオレンジIIにみられるようにpHの全領域でこのようなゼラチン添加による影響を全く受けず、またアマランス⁽⁵⁾のように分子中に3個の SO_3^- 基を有するものは、アルカリ性色においては勿論、pHのより低い領域でも、相当程度にゼラチンによる影響を観察することができた。これらのことはゼラチンの影響を受ける色素が分子構造中に SO_3^- 基、およびO-基またはN-基を含めて少なくとも3個の陰荷電部をもつ必要のあることを示している。

Lichtenstein⁽⁹⁾によって示されたゼラチンの滴定曲線によれば、その等電点は約5.0であり、酸性側における



pH	緩衝液の成分	μ
1 : 4.70	Na ₃ citrate-HCl	0.27
2 : 8.10	H ₃ citrate-Na ₂ HPO ₄	0.58
3 : 10.40	Na ₂ HPO ₄ -NaOH	0.43
4 : 12.53	Na ₂ HPO ₄ -NaOH	0.62

○ II の濃度 = 10⁻³ mol/l, ゼラチンの濃度 = 0.015%

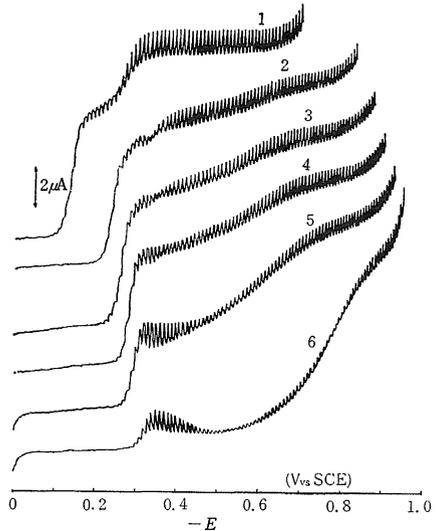
図4 各種 pH におけるオレンジIIのポーラログラムにおよぼすゼラチンの影響

正電荷はほとんどが NH₃⁺基に、またアルカリ性側における負電荷はほとんどが COO⁻基によるものと考えられている。そして pH 値がおよそ 6~8 の間では約 20% の負電荷の過剰が認められ、これは pH 値が 9 をこえると急速に増大し、pH 11 で約 80% となっている。

このように高 pH 領域では SY もゼラチンとともに陰イオンとしてのみ存在すると考えてよいから、両者の結合が pH 10 以上で起こり、pH 値が増大するにつれて結合もまた増大するとは到底考えられないし、またオレンジIIおよびアマランスについても同様の見解が成立する。

つぎにゼラチンが電極表面に吸着することによって示す効果の可能性について考えてみよう。

SY を含まない場合はポーラログラフ測定の場合と全く同じ条件で電気毛管曲線 (E-C 曲線) を求めると図 6 が得られた。E-C 曲線における滴下時間は水銀滴下極の界面張力を相対的に示す尺度と見做すことができるから、溶液中に添加されたゼラチンは電極表面に吸着することによって -0.1~-1.8V (vs. SCE) の電位のほとんど全範囲にわたって界面張力を低下させることがわかる。図 6 にもとづいて、E-C 曲線の極大点および種々の電位における滴下時間をゼラチンの濃度に対して点



pH	緩衝液の成分	μ
1 : 4.70	Na ₃ citrate-HCl	0.27
2 : 8.10	H ₃ citrate-Na ₂ HPO ₄	0.58
3 : 9.52	Na ₂ B ₄ O ₇ -NaOH-KCl	0.31
4 : 10.40	Na ₂ HPO ₄ -NaOH	0.43
5 : 11.36	Na ₂ HPO ₄ -NaOH	0.50
6 : 12.53	Na ₂ HPO ₄ -NaOH	0.62

アマランスの濃度 = 10⁻³ mol/l

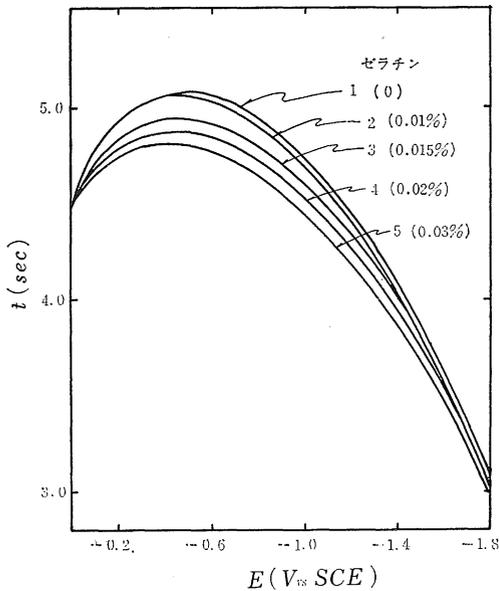
ゼラチンの濃度 = 0.015%

図5 各種 pH におけるアマランスのポーラログラムにおよぼすゼラチンの影響

描すると図 7 が得られた。E-C 極大点および -0.95V においてはゼラチンの界面張力に対する影響はとくにいちじるしく、いずれの場合でもゼラチン濃度が 0.01% および 0.015% 程度で最も顕著となり、それ以上の濃度ではふたたびゆるやかとなる。

-0.95V なる電位は図 1 において明らかなように、SY のポーラログラムに対するゼラチンの影響が最も顕著に示される部分である。そしてこの電位において、ゼラチンの濃度変化が界面張力におよぼす影響と、図 2 に示されるところの第 1 波高に対する影響とを比較すると、両者の間には顕著な対応性がある。すなわち、これら両曲線上における急激な段階的变化に対応するゼラチンの濃度範囲がほとんど一致していることがわかる。

以上の観点からすれば、ゼラチンの添加によって SY のポーラログラムに現われる影響は、電極表面に吸着したゼラチン粒子により SY の陰イオンが電極表面に到着することを妨げられるか、あるいは電極表面において電子を獲得する反応を妨げられることによって引き起こされるものと考えられることができる。そしてすでにのべたよ



$pH=12.15$, $\mu=0.62$

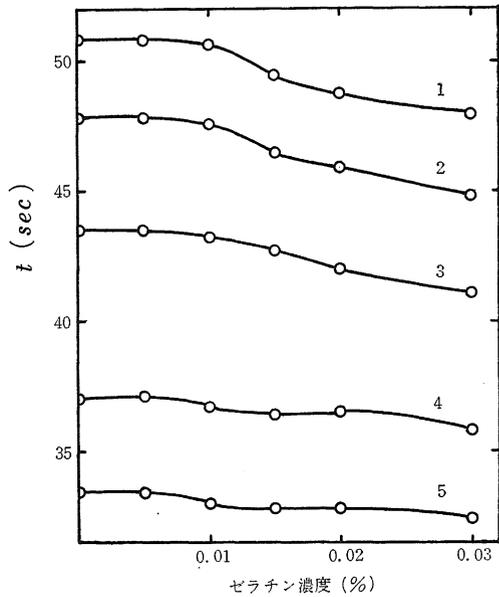
(t は水銀10滴の滴下に要する時間を示す)

図6 電気毛管曲線に対するゼラチン濃度の影響

うに、このようなゼラチンの影響が分子中に SO_3^- 基をただ1個しか有しない色素例えば(オレンジI, オレンジII)においては現われず、またSYにおいてもこれがヒドロキシルアゾ型またはヒドラゾン型の互変異性体として存在する⁽⁵⁾と考えられる $pH10$ 以上の場合には現われない点を考慮するならば、このような現象はプロトン解離型SY陰イオンすなわち SO_3^- 基とO-基またはN-基を含む解離型の三塩基酸と電極表面を覆ったゼラチン粒子の陰電荷部(主として COO^- 基)との静電的反撥に基づくものであり、アマランスのように未解離の場合でも3個の SO_3^- 基を有するものは同様の影響をうけるのに対し、オレンジIやオレンジIIのように解離型でも二塩基酸にとどまるものは影響をうけないと言わねばならない。

つぎに、ゼラチンの添加によってSYが図1に示すような2段波にわかれる原因について考えてみる。

ゼラチンの濃度が増すにつれて分離波における第1波は著しく波高を減ずるが、その波形は依然として拡散電流型である。したがってゼラチンの添加による波の分離および第1波高の低下は、電極界面に吸着されたゼラチン粒子によってプロトン解離型SY陰イオンが反撥され、単位時間内に電極表面に到達するそれらの量が減少するためであると考えることができる。そして電位がさらに陰側に移行して $-1.05V$ 付近に達すると、波高はふたたびゆるやかに上昇しはじめ、 $-1.7 \sim -1.8V$ 付



ゼラチン濃度 (%)

電位 1 : E-C極大, 2 : $-0.95V$
3 : $-1.25V$, 4 : $-1.55V$
5 : $-1.65V$, (vs. SCE)

$pH=12.15$, $\mu=0.62$

図7 水銀の滴下時間におよぼすゼラチン濃度の影響

近では波は水平となる。この第2波の水平部において測定した総波高は図2に示すようにゼラチン濃度の如何にかかわらずほとんど一定であり、したがってこの部分ではゼラチンの影響は消失するものと見做して差し支えない。

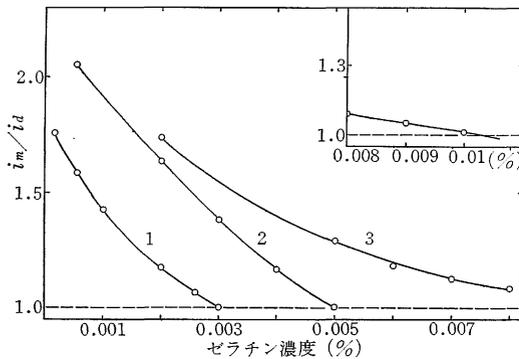
このような第2波の出現はつぎのように解釈することができよう。すなわち、電位が陰側に移行して $-1.05V$ 程度に達すると、電極面における強い陰電荷とゼラチン粒子のもつ陰電荷との間の静電的反撥力が増大することによりゼラチン粒子の陰極に対する吸着量が減少し、そのためSYイオンの電極面に到着する量が多くなるが、このような傾向は電位が陰に移るほど増大すると考えられる故に図1にみられるような第2波が現われることになる。また、図7において、第2波の上昇部に相当する $-1.25V$ と $-1.55V$ 、および第2波の水平部に相当する $-1.65V$ における滴下時間に対するゼラチン濃度の影響が、第1波の水平部に相当する $-0.95V$ の場合よりも著しく弱められている結果も第2波の出現に対する上述の見解を裏づけることになるものと思われる。

また、第1波の $E_{1/2}$ は図3に示すように、波高に対する顕著な影響の現われるゼラチンの濃度範囲 ($0.005 \sim 0.02\%$) で漸次陰電位側に移行する。これは限界電流

に達するまでの波の部分、電極反応速度すなわち SY 陰イオンが電子を受け取る速度に律速されており、その速度が電極表面に吸着したゼラチン粒子によって減少することを意味する。他方、限界電流部分においては反応速度は充分速く、したがってゼラチン粒子による速度の減少はポーラログラムには現われない。すなわち、波高の減少は前述のようにゼラチン粒子による SY 陰イオンの拡散の阻害に基づくものと解釈できる。

つぎにこのような SY の波形におよぼすゼラチンの効果に対し、SY のポーラログラムの極大を抑制する効果を比較しよう。

SY の極大はゼラチンを添加することによって次第に低下し遂に消失するが、この極大を消失させるのに必要な最小限のゼラチン濃度を極大抑制点という。これは極大電流値を i_m 、限界電流値を i_l で表わすとき i_m/i_l のゼラチン濃度に対する点描が 1 に達した時の値で表わす



復極剤	pH	μ
1 SY	12.15	0.62
2 OII	12.15	0.62
3 SY	7.05	0.42
4 SY	7.05	0.42

復極剤の濃度 = $0.89 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$

図8 SY およびオレンジIIの i_m/i_l とゼラチン濃度との関係

ことができる。⁽¹⁰⁾ 図8よりその値は、pH12.15 における SY の場合 0.003% であり、波形および界面活性に対するゼラチンの影響が現われはじめる濃度よりはるかに低い。このことはポーラログラムの極大抑制がゼラチンの吸着あるいはゼラチン添加による界面張力の変化に直接関係するというよりは、むしろ、そのために起こる電気的二重層の構造の微細な変化に主として関連することを暗示している。

4. 要 約

SY は、pH 10 以上の緩衝液中では、そのアルカリ性色の型すなわちプロトン解離型陰イオン中に存在する 2 個の SO_3^- 基 および 1 個の O^- 基 または N^- 基 と、電極表面に吸着したゼラチンの陰電荷部との間の静電的反撥によって電極表面に到達することを妨げられ、その結果ポーラログラムのはじめの部分の波高がいちじるしく減少する。pH が高くなるほどプロトン解離が進むのでこのような現象はより顕著になる。そして電位が陰側に移るにつれて、ゼラチン自体の吸着が減少するため波高も次第に上昇し、遂にはゼラチンの影響を全くうけない限界電流となる。

文 献

1. Strassner, J. E. and Delahay, P. : J. Am. Chem. Soc., 74, 6232 (1941)
2. Meites, L. and Meites, T. : ibid., 73, 177(1951)
3. Tanaka, N. and Kobayashi, M. : Bull. Chem. Soc. Japan, 24, 132 (1951)
4. Dratovsky, M. and Ebert, M. : Chem. Listy, 45, 88 (1951)
5. 伊達善夫・山本春海：島根大農研報，2，123(1968)
6. 伊達善夫：日化誌，84，22 (1963)
7. Iijima, T. : Rev. Polarography, 14, 318 (1967)
8. Vickerstaff, T. : The Physical Chemistry of Dyeing, Imp. Chem. Ind., London (1954) p.391
9. Lichtenstein, I. : Biochem. Z., 303, 20 (1940)
10. Colichman, E. L. : J. Am. Chem. Soc., 72, 4036 (1950)

Summary

The initial part of the polarographic wave of Sunset Yellow (SY) is unusually deformed by gelatin in buffer solutions of pH values higher than 10, because the arrival of SY to the surface of electrode is prevented by the electrostatic repulsion between the negative charge of the tri-basic anion formed by the dissociation of protons and that of gelatin adsorbed to the electrode surface. The phenomenon becomes more remarkable with the rise of pH because of the increase of tri-basic anions. As the electrode potential shifts to more negative, the wave height becomes larger and finally gets to the limiting value free from the effect of the gelatin adsorbed.