

# スピンラベルした脂肪酸を可溶化させた HDTAB ミセルの 磁気共鳴法による研究 I. 第2 CMC 近傍における HDTAB ミセルの硬さについて

岡林 博文・木原 孝治・奥山 政高

工業化学科  
(1976年9月11日受理)

Magnetic Resonance Study of HDTAB Micelle Containing Spin-Labeled Fatty Acid. I. On the Rigidity of HDTAB Micelle in the Vicinity of the Second CMC

Hirofumi OKABAYASHI, Koji KIHARA and Masataka OKUYAMA

Department of Industrial Chemistry  
(Received September 11, 1976)

The  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectra of HDTAB (hexadecyl trimethylammonium bromide) micelle are broadened by the solubilization of NFRFA (N-oxy-4', 4'-dimethyloxazolidine derivative of 5-ketopalmitic acid). The broadening of the  $\text{N-CH}_3$  resonance line is remarkable at the second CMC. This observation shows that above the second CMC the polar part of the HDTAB micelle is more rigid than that below this concentration.

The solubilization of the spin-labeled fatty acid (NFRFA) by the micelle was also studied by electron spin resonance spectra. There is a rapid increase in the ESR-line width at the second CMC. From this fact, it is concluded that the hydrophobic part of the HDTAB micelle become rigid owing to the change of the micelle shape.

Accordingly, above the second CMC both the polar and the nonpolar parts of the micelle are more rigid than that below the CMC.

## 1. 緒 言

界面活性物質は水の中でミセルを形成する。このミセルは、生物学的立場から見ても興味がある。何故なら、ミセルの構造の研究は、生体膜における脂質の役割の解明につながるからである。

我々は今まで主として NMR により、ミセルの構造および可溶化の分子の機構を調べて来た。今回は、ラジカルの NMR スペクトルにおよぼす常磁性緩和効果を利用して、ミセル構造に関する知見を深めようとした。

Hexadecyl trimethylammonium bromide (HDTAB)

は第一 CMC 以上の濃度で球状ミセルであるがさらに濃度が増加して、第二 CMC で球状ミセルから棒状ミセルへと形状の変化が起ることがわかっている。<sup>1),2)</sup>

5-ketopalmitic acid の N-oxy-4', 4'-dimethyloxazolidine 誘導体 (NFRFA) を可溶化させた HDTAB ミセルの NMR および ESR スペクトルを調べた。NFRFA では、ニトロキシドラジカルは極性基から 5 番目の炭素にある。この位置にラジカルがある場合、NMR スペクトルからミセルの親水基の部分、ESR スペクトルからはミセルの親油基部分に関する情報を得るに都合がよい。

即ち、NFRFA が HDTAB ミセルの N-CH<sub>3</sub> ピークの半値幅におよぼす影響を調べることによって、HDTAB の親水基部分の集合状態に関する情報が得られる。一方、HDTAB ミセル中に可溶化した NFRFA のニトロキンドラジカルは、このミセルの親油基部分にあるので、このラジカルの ESR スペクトルの半値幅の測定から親油基部分の集合状態についての知見が得られる。

## 2. 実験方法

使用した界面活性剤 hexadecyl trimethylammonium bromide (HDTAB) は、市販の特級試薬を用いた。

### 2.1 試料の調製

Nitroxide Free Radical Fatty Acid (N-oxyl 4', 4'-dimeihyloxazolidine derivative of 5-ketopalmitic acid, NFRFA) の合成は、Roger D. Kornberg と Harden M. McConnell<sup>2)</sup> の方法によった。この構造式を Fig. 1 に示した。

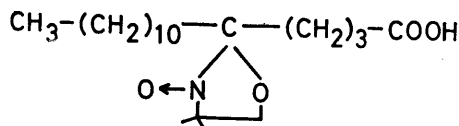


Fig. 1 N-oxyl-4', 4'-dimethylloxazolidine derivative of methyl-5-ketopalmitic acid (NFRFA)

NMR および ESR 測定用サンプルは、一定量の NFRFA をベンゼンに溶かし、そのベンゼン溶液をマイクロピペットで取り、ベンゼンを減圧除去する。その微量の NFRFA に HDTAB 重水溶液を加えることによって調製した。NFRFA は水にほとんど不溶であるため、NFRFA を水にできるだけ多く溶かし、ろ過したもので ESR 測定を行なった (Fig. 5(a))。

### 2.2 NMR および ESR 測定

NMR の測定には、日立 R-24A 型および日立 R-20B 型を使用した。N-CH<sub>3</sub> の線幅測定は、周波数拡大を行なった。

ESR 測定には、日本電子 JES-ME 型を使用した。又、サンプルは毛細管に入れ、脱気をして測定した。

## 3. 結果および考察

T.J. Swift と Robert E. Connick<sup>4)</sup> は、常磁性物質による NMR の線幅の広がりを表わす式(1)を示した。

$$\frac{1}{T_2} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2^0} = \frac{P_M}{\tau_M + T_{2M}} \quad (1)$$

$T_2$  と半値幅の関係は、 $T_2 = (\pi \Delta\nu_{1/2})^{-1}$  で表わされるか

ら、(1)式はさらに(2)式であらわされる。

$$\Delta\nu = \Delta\nu_{1/2} - \Delta\nu_{1/2}^0 = \frac{P_M}{\pi(\tau_M + T_{2M})} \quad (2)$$

ここで  $T_2$ ,  $T_2^0$  は NFRFA が存在する時および存在しない時の緩和時間、 $P_M$  は NFRFA の割合、 $\tau_M$  は複合体の寿命、 $T_{2M}$  は複合体での横緩和時間。又、 $\Delta\nu_{1/2}$ ,  $\Delta\nu_{1/2}^0$  は NFRFA が存在する時および存在しない時の半値幅である。 $P_M = q[R]/([S] + [R])$  であるから、(2)式は次のようになる。

$$\Delta\nu = \frac{q}{100\pi(\tau_M + T_{2M})} \cdot \left( \frac{[R]}{[S] + [R]} \times 100 \right) \quad (3)$$

ここで、 $q$  は NFRFA のまわりに存在する界面活性物質の分子数で、六方最密充填を考えると  $q=6$  である。(3)式の傾き  $S$  は、

$$S = \frac{q}{100\pi(\tau_M + T_{2M})}$$

となり速い交換では、 $T_{2M} \gg \tau_M$  であるから

$$T_{2M} = \frac{q}{100\pi S} \quad (4)$$

となり常磁性物質による横緩和時間  $T_{2M}$  は、(3)式の傾き  $S$  で決まる。

### 3.1 NFRFA の HDTAB の NMR スペクトルにおよぼす効果

P. Ekwall, L. Mandell および P. Solyom<sup>1)</sup> は、第 2 CMC 付近における粘性率と光散乱の急激な変化から、ミセルの形状が球状から棒状に変化すると結論した。

次いで、G. Lindblom, B. Lindman および L. Mandell<sup>2)</sup> は、HDTAB 水溶液の第 2 CMC 以上において <sup>81</sup>Br の NMR スペクトルの半値幅の急増から HDTAB ミセル表面での運動が一層束縛されることを明らかにした (第 1 CMC での議論は NMR によっては、濃度が小さすぎるので、不可能である)。

Lindblom らは、HDTAB ミセル表面の対イオンの束縛状態を調べたのであるが、我々はおもつと直接的に HDTAB 分子それ自身の末端 N-CH<sub>3</sub> の易動性を調べた。

Fig. 2 は HDTAB 水溶液(a)、および少量の NFRFA を含む HDTAB 水溶液(b)の NMR スペクトルを示している。

HDTAB の N-CH<sub>3</sub> ピークに着目すると、NFRFA を含まない場合その半値幅は 3.3 Hz であるが、0.88 mole % の NFRFA を含む場合 6.3 Hz となる。つまり NFRFA の常磁性効果によって、N-CH<sub>3</sub> ピークは線幅の広がりを生じたわけである。

HDTAB の濃度を一定にして、NFRFA の濃度を増加

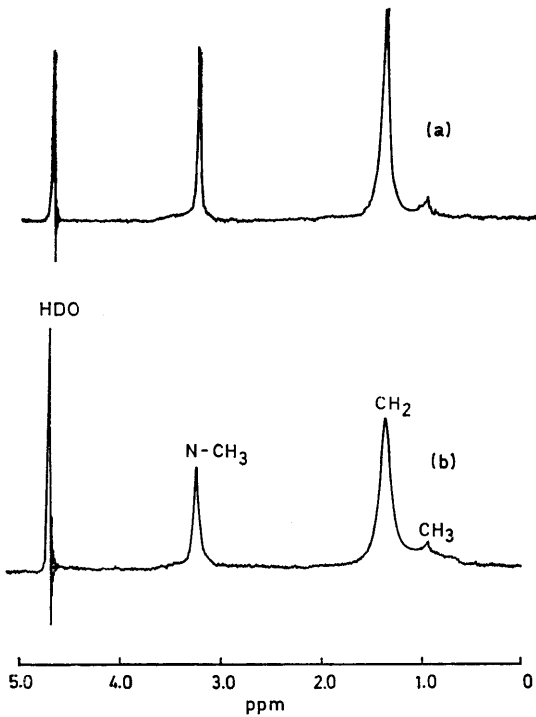


Fig. 2 Effect of NFRFA on the proton magnetic resonance spectra of HDTAB micelle at 60 MHz  
(a) pure HDTAB micelle solution  
(b) HDTAB micelle solution containing NFRFA

させるとしだいにこの線幅も増加する。その様子を Fig. 3 に示した。Fig. 3 の傾き  $S$  と(4)式から緩和時間  $T_{2M}$  を求めた。

Fig. 4 は横軸に HDTAB 濃度、縦軸に(4)式から算出した横緩和時間  $T_{2M}$  をプロットしたものである。HDTAB 20~50 mg/cm<sup>3</sup> の間で  $T_{2M}$  は、ほとんど一定である。この濃度領域では、HDTAB ミセルは球状であると考えられている。50~60 mg/cm<sup>3</sup> の濃度で  $T_{2M}$  は、減少し始め、60~110 mg/cm<sup>3</sup> の間で  $T_{2M}$  は急速に減少する。110mg/cm<sup>3</sup> の濃度以上で  $T_{2M}$  は一定になる。この濃度では、HDTAB ミセルは棒状であると言われている。

以上の結果、 $T_{2M}$  が急速に減少する濃度領域すなわち第 2CMC を境として、HDTAB ミセル表面の易動性が、急速に減少することがわかった。

### 3.2 NFRFA の ESR スペクトルにおよぼすミセル形状変化の影響

NMR の測定では、HDTAB 濃度が 130mg/cm<sup>3</sup> 以上で、粘度が大きく測定困難であった。しかし ESR には濃度の増大による困難はないので 200mg/cm<sup>3</sup> まで測定

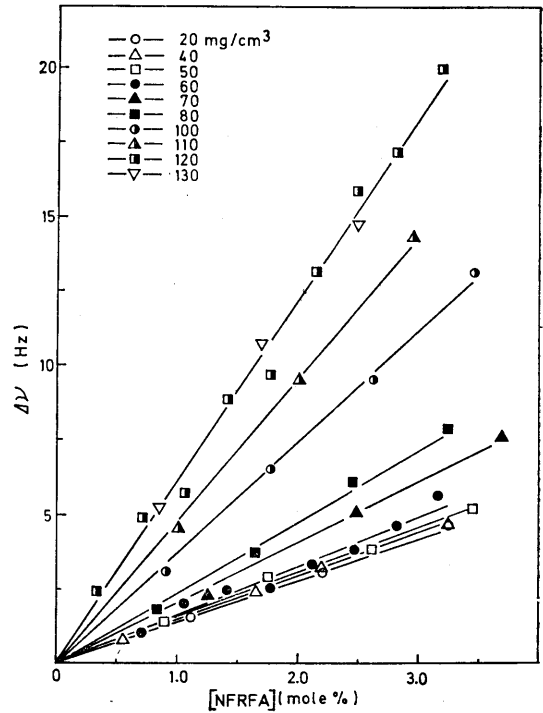


Fig. 3 Effect of NFRFA on the N-methyl proton line-width

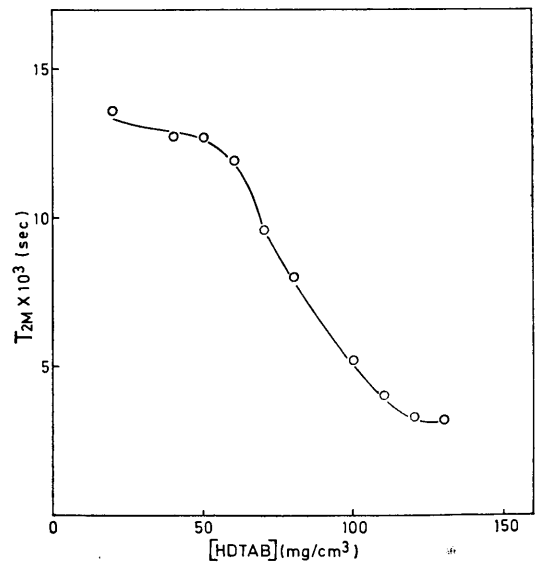


Fig. 4  $T_{2M}$  values at various HDTAB-concentration

し、120 mg/cm<sup>3</sup> 以上ではミセルの形に変化のないことを確かめることができた。

我々は NFRFA を HDTAB ミセルに可溶化させ、その ESR スペクトルを HDTAB の種々の濃度、特に第

2 CMC 付近の濃度領域で調べた。

Fig. 5 (a)および 5 (b)は、NFRFA の水溶液中および HDTAB ミセル水溶液中の ESR スペクトルを示している。

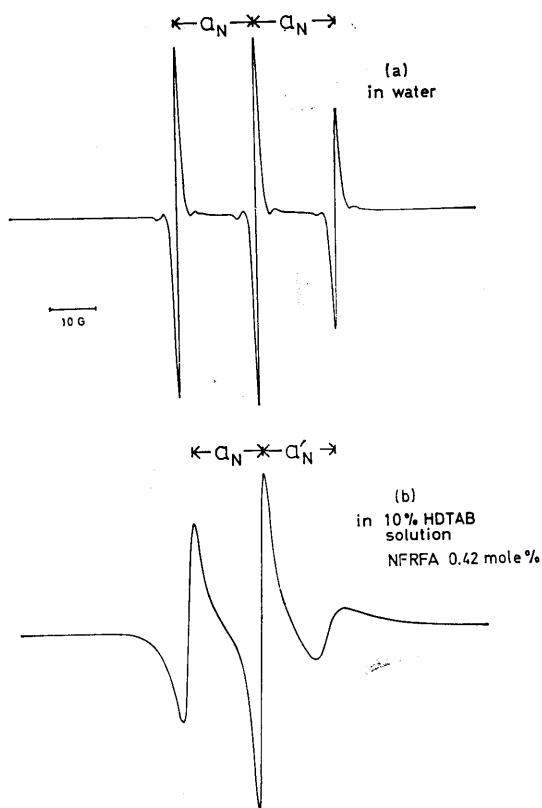


Fig. 5 ESR spectra of NFRFA

NFRFA の水溶液中における ESR スペクトルの coupling constant は  $a_N=16.9$  gauss (NFRFA の濃度は飽和) である。しかし、HDTAB ミセル溶液中に可溶化すると、その 3 本線は広幅化現象を起し、その coupling constant は顕著に減少し  $a_N=14.5$  gauss,  $a'_N=15.5$  gauss (HDTAB 10 重量% 水溶液, NFRFA 0.42 mole %) となる。3 本線のうち高磁場側のピークの線幅の増加が著しい。この理由は未だ明らかでないが、とにかくこの高磁場側のピークの線幅 ( $W_{-1}$  gauss) の変化を HDTAB の濃度をいろいろ変化させて調べた (Fig. 6)。

HDTAB 濃度が、40~80 mg/cm<sup>3</sup> では、線幅  $W_{-1}$  は一定であり、この濃度範囲で、HDTAB はミセルが球状であるものと考えられている。80~110 mg/cm<sup>3</sup> の濃度

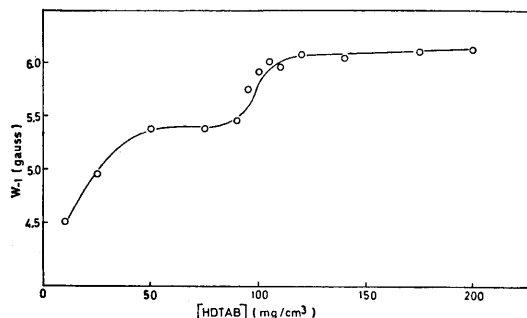


Fig. 6 Half-height width ( $W_{-1}$ ) of high field line of the NFRFA ESR spectra at various HDTAB-concentration

範囲で  $W_{-1}$  は急激な増加がみられ、110 mg/cm<sup>3</sup> 以上では  $W_{-1}$  は一定となる。

NFRFA のニトロキシドラジカルは、Fig. 1 に示すように炭素鎖部分に存在するので、上に述べた線幅  $W_{-1}$  の変化は、ミセル内部の環境を反映している。よって以上に述べた ESR の結果から HDTAB ミセル内部においても、第 2 CMC 以上の濃度で分子が、より一層束縛された状態にあるものと考えられる。

以上述べたように、HDTAB の N-CH<sub>3</sub> ピークの緩和時間  $T_{2M}$ , NFRFA プローブの ESR の線幅は、HDTAB ミセルの第 2 CMC 付近で大きな変化を生ずることがわかった。これは HDTAB ミセルが第 2 CMC 付近でその形状が、球状から棒状へと変化することによく対応している。これらの実験事実から、棒状ミセル状態では、ミセルを形成する界面活性分子が球状ミセルの状態よりも、一層束縛された状態にあることが推定される。

終りに、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルの測定に多大の協力をして下さった本学の亀の内宣子技官に感謝します。

## 文 献

- 1) P. Ekwall, L. Mandell and P. Solyom, *J. Colloid & Interface Sci.*, 35, 519 (1971).
- 2) G. Lindblom, B. Lindman and L. Mandel, *J. Colloid & Interface Sci.*, 42, 400 (1973).
- 3) R. D. Kornberg and H. M. McConnell, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 68, 2564 (1971).
- 4) T.J. Swift and R.E. Connick, *J. Chem. Phys.*, 37, 307 (1962).