非イオン性界面活性剤-非水溶媒系におけるクロロフィル *a*, *b* 及びフェオフィチン *a*, *b* の可視吸収並びに蛍光特性

河合 範夫, 森重 清利^{®*}

(1994 年 7 月 8 日受理)

クロロフィル *a*, *b* 及びフェオフィチン *a*, *b* の非イオン性界面活性剤非水溶液中での吸収並びに蛍光特性を検討し, クロロフィル分子と非イオン性界面活性剤分子間の相互作用について考察した. その結果, 無極性溶媒を用いた場合, 界面活性剤の添加によりモル吸光係数は 1.5~2 倍に, 蛍光の量子収率はクロロフィル *a* で約 6 倍, クロロフィル *b* は約 2 倍に増加した. しかし, クロロフィルの中心金属であるマグネシウムが脱離したフェオフィチン *a*, *b* は添加前後ではモル吸光係数及び蛍光の量子収率は変化しなかった. 又, 蛍光の偏光度を測定し, ペラン-ウェーバー式を用いて溶媒和分子の体積を求めた. その結果, 界面活性剤の添加によるクロロフィルの溶媒和体積の増加を確認し, クロロフィルのマグネシウムとエチレンオキシド (EO) 鎖の酸素原子との相互作用が示唆された.

1 緒 言

光合成初期過程において重要な役割を果たしているクロロフィル (以下 Chl と略記) 類 (Fig. 1) は, 環境試料において重要な指標となる. これらの分析法としては, HPLC¹⁾²⁾ がはん用されているが, 多種多様なクロロフィル類縁化合物を分離定量するのは非常に困難である. 近年, 分離分析における新しい媒体として界面活性剤が注目されている³⁾⁴⁾. 著者ら⁵⁾は先に Chl の非イオン性界面活性剤水溶液中における吸収及び蛍光特性を検討し, Chl 分子と界面活性剤分子との相互作用を明らかにした. そこで本研究では, Chl *a*, *b* とその初期分解物であるフェオフィチン *a*, *b* (Phe *a*, *b*) の非イオン性界面活性剤非水溶液中における吸収並びに蛍光特性について検討した. 更に, 藤田の有機性値, 無機性値⁶⁾並びに結合屈折⁷⁾⁸⁾から求めた分極率などの極性パラメーターあるいは蛍光の偏光度から求めた溶媒和分子の体積を用いて Chl 類と界面活性剤分子との相互作用について検討したので報告する.

Fig. 1 Structure of chlorophylls

Chl *a*: R=CH₃-; Chl *b*: R=CHO-; Phe *a*:
Chl *a*-Mg+2H; Phe *b*: Chl *b*-Mg+2H

2 実 験

2・1 装 置

吸収スペクトルの測定には日立製自記分光光度計

* 近畿大学理工学部化学科: 577 大阪府東大阪市小若江 3-4-1

200-10 型を使用した。

蛍光スペクトルの測定には日立製分光蛍光光度計 850 型 (R-928F 光電子増倍管, 150 W キセノンランプ) に補正用タングステン標準ランプをセットして使用した。

又、偏光度の測定は同分光蛍光光度計に同社製 650 形分光光度計用紫外可視偏光付属装置を取り付けて使用した。

蛍光寿命の測定には日立製分光蛍光光度計 MPF-2A 型及び同付属時間分解測光装置 (D_2 フラッシュランプ, サンプリング方式) を使用した。

2.2 試 薬

クロロフィル類の分離精製に用いたカラムクロマトグラフィー用担体は Advantec 製セルロースパウダー No. A (100~200 メッシュ) 及び No. B (200~300 メッシュ) を等量混合し、温風乾燥器中で 2 時間乾燥後、デシケーター中で十分に放冷させて湿式法によりカラムに充てんして使用した。

窒素及び酸素は市販高純度ガスを用いた。界面活性剤は東京化成製ポリオキシエチレンモノ-*p*-ノニルフェニルエーテル|エチレンオキシド (EO) 基の平均付加モル数 $n=5$ [PONPE-5] 及び PONPE-2 ($n=2$) の 2 種類を精製することなく使用した。

その他の試薬は市販特級品をそのまま用いた。

2.3 方 法

2.3.1 Chl *a*, *b* の単離精製 Chl *a*, *b* はコンフリー (*Symphytum officinale* L., ムラサキ科) の葉枝よりアセトン抽出後、ジオキサン法⁹⁾により濃緑色素類の沈殿を得た。得られた沈殿物からセルロースカラムクロマトグラフィー |石油エーテル: 1-プロパノール=99.9: 0.1~99.0: 1.0(v/v)| により Chl *a* 及び Chl *b* を分取した。又、Phe *a*, *b* はそれぞれ Chl *a* あるいは Chl *b* のジエチルエーテル溶液を 1 mol dm^{-3} 塩酸と共に約 2 分間振り混ぜて得た。

2.3.2 試料溶液の調製 濃度既知の Chl のアセトン溶液の一定量を濃縮乾固後 0.1 mol dm^{-3} 界面活性剤溶液に溶解し、各溶媒で 0.01 mol dm^{-3} 界面活性剤溶液 |シクロヘキサン中における臨界ミセル濃度 (CMC)¹⁰⁾ 付近| とした。ただし、溶媒はヘキサン、四塩化炭素、ジクロロメタン及びアセトンを用いた。

2.3.3 蛍光測定 すべての蛍光測定は Chl の $0.1 \sim 0.8 \mu\text{mol dm}^{-3}$ 溶液を用いて行った。又、窒素通気による除酸素後、あるいは酸素通気 (ガス流量: $1.5 \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$) 後の蛍光強度変化を検討した結果、窒素通気

(通気時間: 1 分間) により蛍光強度は増加、酸素通気により減少し、溶存酸素による蛍光の消光を確認した。従って、溶液調製後の測定溶液に 1 分間窒素通気を行い測定に供した。

2.3.4 粘度測定 オストワルド粘度計を用いて測定し、 20°C における水に対する相対粘度として表した。

3 理論及び計算

3.1 界面活性剤の HLB 値

一般に非イオン性界面活性剤の可溶性、分散あるいは乳化能を示すパラメーターとして HLB (hydrophilic-lipophile balance) 値が繁用されている。この HLB 値は、基本的には親水基と疎水基の分子量の比として表されるが、親水基あるいは疎水基の種類によりその計算法は若干異なる。小田¹¹⁾は藤田⁶⁾の考案した分子の極性を表す経験的パラメーターである無機性値 (I) と有機性値 (O) の比 (I/O) を 10 倍したものが非イオン性界面活性剤の HLB 値とよく一致することを見いだした。

藤田の無機性値及び有機性値は、それぞれ分子の双極子モーメント並びに分子間の分散力、すなわち分極率に相当するパラメーターである。又、これらは分子の沸点並びに石油エーテル-水間の分配から求められた経験的数値から求められる。すなわち無機性値 (I) は水酸基を 100 として各官能基について経験的に求められた数値により、有機性値 (O) は炭素原子 1 個につき 20 とし、おのおの加減計算により求めた⁶⁾。

3.2 HLB 値と可溶性

一般に界面活性剤溶液の温度を上昇させると親水性と疎水性が釣り合い、界面活性剤相が分離する。このときの温度を転相温度 T_{HLB} (HLB 温度)¹²⁾ といい、HLB 値 N_{HLB} との間には

$$T_{\text{HLB}} = k(N_{\text{HLB}} - N_{\text{oil}}) \quad (1)$$

の関係がある¹³⁾。ここで、 k は $17^\circ\text{C}/\text{HLB unit}$ の定数である。又、 N_{oil} は溶媒あるいは共存する油性物質に依存する定数であり N_{HLB} と同様の単位を持つ。従って N_{oil} も N_{HLB} と同様に親水性と疎水性のバランスを示すと考えられる。

又、界面活性剤がミセルを形成するときの自由エネルギー変化 ΔG は界面活性剤の疎水基 (ΔG_1) と親水基に起因する成分 (ΔG_h) に分けられる。温度 T_{HLB} のとき ΔG_1 と ΔG_h は釣り合っているの

$$\begin{aligned}\Delta G_l - \Delta G_h &= (\Delta H_l - T_{HLB} \Delta S_l) - (\Delta H_h - T_{HLB} \Delta S_h) \\ &= (\Delta H_l - \Delta H_h) - T_{HLB} (\Delta S_l - \Delta S_h) \\ &= 0\end{aligned}$$

従って式(1)より

$$\begin{aligned}(\Delta H_l - \Delta H_h) / (\Delta S_l - \Delta S_h) &= T_{HLB} \\ &= k' \{ (I/O)_s - (I/O)_{oil} \} \\ (k' \text{ は定数}) &\quad (2)\end{aligned}$$

となる。ここで $(I/O)_s$ 及び $(I/O)_{oil}$ はそれぞれ界面活性剤及び油性物質の無機性値と有機性値の比を示す。従って、界面活性剤の I/O との差の小さい I/O を持つ溶媒ほどエントロピー項に支配されて界面活性剤をよく溶解する。同様に界面活性剤との差の小さい I/O を有する物質ほど安定にミセル化されることが予想される。

4 結果及び考察

4・1 界面活性剤非水溶液中における Chl 類の吸収特性

Chl *a* 及び *b* のアセトン、ヘキサン並びにヘキサン-界面活性剤系における吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。いずれもクロリン環の π 電子系に起因するソーレ

バンド (430~450 nm 付近) 及び 4 本の Q バンド (550~660 nm 付近) を示した。又、ヘキサン溶液では Q バンド第一バンドの長波長側に肩吸収 (660~670 nm 付近) が確認されたが、界面活性剤溶液では肩吸収は消失し、アセトン溶液と同様のスペクトルを示した。一方、Phe 類の吸収スペクトルは溶媒の種類、界面活性剤の有無にかかわらずほぼ一定であった。

又、Table 1 に各種溶液系におけるソーレバンド及び Q バンド第一バンドの吸収極大波長並びにその波長におけるモル吸光係数 ϵ_{max} を示す。Phe 類ではソーレバンド及び Q バンド第一バンドの ϵ_{max} はおおよそ一定値を示した。しかし、Chl 類ではヘキサンあるいは四塩化炭素溶液系において界面活性剤の添加により ϵ_{max} は増加した。

4・2 界面活性剤非水溶液中における Chl 類の蛍光特性

各物質の最適励起・蛍光波長における蛍光強度に対する界面活性剤の影響を検討した。その結果、Chl 類はアセトン及びジクロロメタン溶液では蛍光強度に変化はなかった。しかし、ヘキサン並びに四塩化炭素溶液では界面活性剤の添加により蛍光強度は増加し、界面活性剤濃度 3 mmol dm^{-3} で一定値を示した。一方、Phe 類では

Fig. 2 Absorption spectra of chlorophyll *a* and *b* in acetone (1), hexane (2) and hexane-PONPE-5 system (3)

A: Chl *a* ($4.73 \mu\text{mol dm}^{-3}$); B: Chl *b* ($2.56 \mu\text{mol dm}^{-3}$); PONPE-5: 0.01 mol dm^{-3}

Table 1 Absorption properties of chlorophyll *a* and *b* pheophytin *a* and *b* in nonaqueous solutions of nonionic surfactants (22°C)

		Chl <i>a</i>		Chl <i>b</i>		Phe <i>a</i>		Phe <i>b</i>	
		Soret ^{a)}	Q(I) ^{b)}	Soret	Q(I)	Soret	Q(I)	Soret	Q(I)
Hexane	λ (nm) ^{c)}	428	660	450	641	409	669	433	656
	ϵ ($\times 10^4$) ^{d)}	7.87	6.05	6.41	2.30	10.7	5.90	20.8	4.52
	λ (nm)	430	661	454	643	409	669	433	656
	ϵ ($\times 10^4$)	11.4	9.01	14.8	5.63	11.1	6.02	20.5	4.57
+ PONPE-2	λ (nm)	430	661	456	643	408	668	433	656
	ϵ ($\times 10^4$)	10.8	8.62	15.5	5.56	11.7	6.19	20.5	4.57
+ PONPE-5	λ (nm)	432	664	456	645	413	670	438	657
	ϵ ($\times 10^4$)	4.61	3.19	8.40	3.24	11.4	5.87	18.3	4.01
CCl ₄	λ (nm)	433	666	458	646	413	670	438	657
	ϵ ($\times 10^4$)	6.96	5.14	12.0	4.41	11.3	5.87	18.4	3.91
+ PONPE-2	λ (nm)	433	666	460	646	413	670	438	657
	ϵ ($\times 10^4$)	7.59	5.75	11.8	4.53	11.7	6.04	18.1	3.96
+ PONPE-5	λ (nm)	430	663	457	645	412	667	438	654
	ϵ ($\times 10^4$)	8.18	6.89	13.0	4.61	11.1	4.63	18.6	3.71
CH ₂ Cl ₂	λ (nm)	432	664	460	648	411	667	438	654
	ϵ ($\times 10^4$)	8.42	6.96	13.4	5.08	10.5	4.49	18.5	3.91
+ PONPE-2	λ (nm)	433	665	463	648	411	667	438	655
	ϵ ($\times 10^4$)	8.52	7.20	13.2	4.88	10.6	4.52	18.6	3.91
+ PONPE-5	λ (nm)	432	663	455	645	409	665	434	652
	ϵ ($\times 10^4$)	9.45	7.65	14.0	5.21	11.1	4.26	18.5	3.71
Acetone	λ (nm)	430	661	460	646	408	666	433	652
	ϵ ($\times 10^4$)	8.13	6.75	13.4	5.07	10.3	4.38	18.1	3.71
+ PONPE-2	λ (nm)	432	663	461	647	408	665	432	651
	ϵ ($\times 10^4$)	9.20	7.59	13.7	5.16	10.4	4.46	17.2	3.65

a) Soret-band; b) first band of Q-band; c) maximum wavelength; d) molar absorptivity at maximum wavelength; Concentration of surfactant: 0.01 mol dm⁻³

いずれの溶液系においても蛍光強度の変化は認められなかった。

各溶液系（界面活性剤濃度 0.01 mol dm⁻³）における Chl *a*, *b* と Phe *a*, *b* の最適励起・蛍光波長並びに蛍光の相対量子収率 ϕ_f {フルオレセインナトリウム水溶液 (0.1 mol dm⁻³ NaOH) 対照, 励起波長 436 nm, $\phi_f=0.90^{14)}$ } を Table 2 に示す。Phe 類では ϕ_f は溶媒の分極率 α に対し, 界面活性剤の有無にかかわらず一定値を示した。しかし, Chl 類は界面活性剤無添加の系では α の増加, すなわち溶媒の双極子モーメントの減少に伴い, ϕ_f は減少した (Fig. 3)。一方界面活性剤を添加した系では ϕ_f は溶媒の α の増加に伴い増加する傾向にあり, ヘキサン溶液においては無添加の系に比し Chl *a* で約 6 倍, Chl *b* で約 2 倍の ϕ_f を示した。

4・3 有機概念図

藤田の方法により求めた無機性値 (*I*) 並びに有機性

値 (*O*) をそれぞれ縦軸, 横軸にとったものを有機概念図⁶⁾といい, これにより分子の極性並びに分子間の相互作用を説明することができる。Fig. 4 に各非イオン性界面活性剤と溶媒並びに Phe *a*, *b* の有機概念図を示す。各物質の点と原点とを結ぶ直線を同比率線と称する。これらの同一直線上にある物質はど似通った極性, すなわち似通った親水性と疎水性のバランスを持つ物質であり, よく溶解し合う。Chl の中心金属であるマグネシウムの *I* 値及び *O* 値は与えられていないが, 界面活性剤の添加前後で Chl 類の ϵ 及び ϕ_f がほとんど変化しなかったアセトンの *I/O* から Chl の同比率線を推定した。PONPE-2 及び -5 の *I/O* はヘキサンの四塩化炭素などの無極性溶媒よりも Chl 類の *I/O* に接近しており, 無極性溶媒中での Chl 類と PONPE との相互作用が示唆された。一方, マグネシウムが脱離した Phe *a*, *b* の *I/O* 比は各溶媒及び界面活性剤のほぼ中間に位置して PONPE-2 の *I/O* にも近接している。しかし, Phe の ϵ

Table 2 Fluorescence properties of chlorophyll *a* and *b* and pheophytin *a* and *b* in nonaqueous solutions of nonionic surfactants (22°C)

Solvent		Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Phe <i>a</i>	Phe <i>b</i>
Hexane	Ex./Em. ^{a)} (nm/nm)	427.8/665.3	452.0/645.1	410.0/673.4	435.0/660.0
	ϕ_f ^{b)}	0.074	0.057	0.233	0.074
+ PONPE-2	Ex./Em. (nm/nm)	431.1/666.8	455.2/648.0	411.0/673.7	434.4/659.1
	ϕ_f	0.390	0.140	0.192	0.085
+ PONPE-5	Ex./Em. (nm/nm)	431.8/668.0	457.2/648.6	411.0/673.7	434.6/659.2
	ϕ_f	0.489	0.136	0.189	0.082
CCl ₄	Ex./Em. (nm/nm)	432.2/671.1	457.4/650.1	415.1/676.7	439.7/661.7
	ϕ_f	0.106	0.075	0.289	0.082
+ PONPE-2	Ex./Em. (nm/nm)	434.9/671.1	460.1/652.9	414.9/677.3	440.4/662.0
	ϕ_f	0.239	0.116	0.274	0.071
+ PONPE-5	Ex./Em. (nm/nm)	435.1/672.3	462.9/653.4	416.2/676.6	439.7/661.6
	ϕ_f	0.256	0.120	0.257	0.078
CH ₂ Cl ₂	Ex./Em. (nm/nm)	433.9/670.6	464.0/655.6	413.5/675.4	440.4/660.5
	ϕ_f	0.196	0.137	0.227	0.072
+ PONPE-2	Ex./Em. (nm/nm)	433.9/671.6	463.2/655.1	413.9/675.7	439.9/661.1
	ϕ_f	0.232	0.113	0.311	0.082
+ PONPE-5	Ex./Em. (nm/nm)	434.0/674.3	464.1/656.7	415.1/674.9	440.5/662.0
	ϕ_f	0.291	0.135	0.299	0.076
Acetone	Ex./Em. (nm/nm)	433.8/669.5	457.7/654.6	409.1/673.3	435.5/659.4
	ϕ_f	0.386	0.121	0.156	0.070
+ PONPE-2	Ex./Em. (nm/nm)	433.8/669.5	463.3/655.3	411.0/672.3	435.2/659.5
	ϕ_f	0.388	0.121	0.136	0.080
+ PONPE-5	Ex./Em. (nm/nm)	435.5/670.4	463.4/654.5	411.4/673.1	436.4/658.9
	ϕ_f	0.320	0.113	0.143	0.070

a) excitation wavelength/emission wavelength; b) fluorescence quantum yield {vs. sodium fluorescein (0.1 mol dm⁻³ NaOH), Ex.=436 nm, ϕ_f =0.90} after removal of dissolved oxygen with nitrogen at 22°C; Concentration of surfactant: 0.01 mol dm⁻³

Fig. 3 Effects of solvents on fluorescence quantum yield of chlorophyll *a* and *b* and pheophytin *a* and *b*

(I) Chl *a*, (II) Chl *b*, (III) Phe *a*, (IV) Phe *b*; 1: hexane; 2: CCl₄; 3: CH₂Cl₂; 4: acetone; ●: without surfactant; ○: added PONPE-2; △: added PONPE-5; Concentration of PONPE: 0.01 mol dm⁻³

Fig. 4 Organic conceptual diagram of pheophytin *a* and *b*, surfactants and solvents

A: Phe *a*; B: Phe *b*; 1: hexane; 2: CCl₄; 3: CH₂Cl₂; 4: acetone; 5: PONPE-2; 6: PONPE-5

及び ϕ_f は界面活性剤の添加前後ではほとんど変化しなかったことから、Phe と界面活性剤の相互作用は弱いことが示唆された。よってChl と界面活性剤の相互作用には中心金属のマグネシウムが関与していると解釈された。

4・4 溶媒和分子体積の算出

窒素通気による除酸素及び酸素通気による酸素飽和時の最適励起・蛍光波長における蛍光の偏光度並びに蛍光寿命からベラン-ウェーバーの式¹⁵⁾ (Table 3 脚注 c) 参照) を用いてヘキサン及びアセトン溶液系における溶媒和分子の体積 V を算出した (Table 3)。これらは ϕ_f と同様に Phe 類ではおおそ一定値を、又 Chl 類ではヘキサン溶液系で界面活性剤の添加により約 7 倍から 200 倍に増加した。又、溶液の粘度は各溶液とも $3.0 \times 10^{-4} \text{ N s m}^{-2}$ 前後であり、界面活性剤との相互作用による分子運動の抑制が示唆された。

4・5 分子間の相互作用と Chl のエネルギー準位

Chl のマグネシウムはクロリン環平面から突出し、無極性溶媒中では他の Chl 分子のカルボニル酸素との相互作用により二量体を形成しやすい。又、水分子などの極性分子が軸配位しやすいことが知られている^{16)~19)}。従って無極性溶媒中では、Fig. 5 に示すように二量体化による励起一重項状態 S_1 間の相互作用により S_1 状態は二つに分裂し、吸収スペクトルでは Q バンド第一バンドの長波長側に肩吸収を生じる¹⁶⁾¹⁸⁾。分裂した S_1 の下位の準位は励起三重項状態 T_1 に近接しているため、 S_1 から T_1 への系間交差が助長されて S_1 から S_0 への発光による遷移確率は減少すると考えられる。無極性溶媒系への界面活性剤の添加により Chl 類の Q バンド第一バンドの肩吸収は消失し、 ϕ_f は増大した (Fig. 2 及

Table 3 Volumes of solvated chlorophylls in nonaqueous solutions of nonionic surfactants (22°C)

Solvent	$10^{-4} \eta^a / \text{N s m}^{-2}$	Chl <i>a</i>		Chl <i>b</i>		Phe <i>a</i>		Phe <i>b</i>	
		$\phi_{\text{IN}}^{b)}$	$V^c / 10^{-26} \text{ m}^3$	ϕ_{IN}	$V / 10^{-26} \text{ m}^3$	ϕ_{IN}	$V / 10^{-26} \text{ m}^3$	ϕ_{IN}	$V / 10^{-26} \text{ m}^3$
Hexane	2.948	0.074	0.199	0.057	0.307	0.233	1.30	0.074	3.36
+ PONPE-2	3.006	0.390	10.2	0.140	2.12	0.192	0.413	0.085	2.93
+ PONPE-5	3.013	0.489	38.8	0.136	57.2	0.189	2.16	0.082	2.47
Acetone	2.981	0.386	0.782	0.121	3.85	0.156	6.99	0.070	5.10
+ PONPE-2	2.997	0.388	1.69	0.121	3.45	0.136	3.53	0.080	2.16
+ PONPE-5	3.032	0.320	1.44	0.113	1.87	0.143	3.81	0.070	1.41

a) relative viscosity of solution vs. water at 22°C; b) fluorescence quantum yield (oxygen was removed with nitrogen at 22°C); c) volume of solvated molecule based upon Perrin-Weber's equation; Concentration of surfactant: 0.01 mol dm⁻³.

Perrin-Weber's equation: $\left(\frac{1}{P} - \frac{1}{3}\right) = \left(\frac{1}{P_0} - \frac{1}{3}\right) \left(1 + \frac{k_B T}{\eta V \tau}\right)$

P : degree of polarization, P_0 : degree of polarization at maximum viscosity of solution, k_B : Boltzmann's constant (N m K^{-1}), T : absolute temperature (K); η : viscosity of solution (N s m^{-2}), τ : fluorescence lifetime (s), V : volume of solvated molecule (m^3)

Fig. 5 Energy levels of monomer and dimer of chlorophyll (Ref. 18)

R: $-\text{CH}_3$; Chl a, $-\text{CHO}$; Chl b, ISC: intersystem crossing

び 3, Table 3 参照). 従って二量体化した Chl 分子は Fig. 6 に示すような界面活性剤分子との相互作用により解離し, かつ分子運動が抑制されて蛍光の発光効率が増加傾向を示すことが示唆された.

以上の結果は Chl 類の分離濃縮や HPLC 分析などへの応用が期待されるが, その詳細は改めて報告する.

(1993 年 10 月, 日本分析化学会)
(第 42 年会において一部発表)

文 献

- 1) 芳竹良彰, 垣内喜久子, 合田四郎, 山崎秀夫, 重松恒信, 西川泰治: 日化, **1987**, 678.
- 2) P. G. Kalkowski, J. Sucher: *J. Chromatogr.*, **213**, 349 (1981).
- 3) J. J. Santana, M. Gunshefski, J. D. Winefordner: *Talanta*, **39**, 195 (1992).

Fig. 6 Structural models of chlorophyll in hexane(A) and hexane-PONPE system(B)

(A) R = $-\text{CH}_3$; Chl a; $-\text{CHO}$; Chl b

- 4) W. J. Horvath, C. W. Hute: *Talanta*, **39**, 487 (1992).
- 5) 河合範夫, 森重清利, 西川泰治: 日本分析化学会第 42 年会講演要旨集, p. 522 (1993).
- 6) 藤田 穆: “化学実験学・基本操作編”, p. 255 (1940), (河出書房).
- 7) A. I. Vogel, W. C. Cresswell, G. H. Jeffery, J. Leicester: *J. Chem. Soc.*, **1952**, 514.
- 8) E. L. Warrick: *J. Am. Chem. Soc.*, **68**, 2455 (1946).
- 9) K. Iriyama, N. Ogura, A. Takamiya: *J. Biochem.*, **76**, 901 (1974).
- 10) 五十嵐泰蔵: “新版界面活性剤ハンドブック”, 吉田時行, 進藤信一, 大垣忠義, 山中樹好共編, p. 139 (1991), (工学図書).
- 11) 小田良平: 帝人タイムス, **22**, No. 9, 10 (1952).
- 12) 篠田耕三: 日化, **89**, 435 (1968).
- 13) H. Kunieda, K. Shinoda: *J. Colloid Interface Sci.*, **107**, 107 (1985).
- 14) J. N. Demas, G. A. Crosby: *J. Phys. Chem.*, **75**, 991 (1971).
- 15) 御橋廣真: “蛍光測定—生物科学への応用”, 木下一彦, 御橋廣真共編, p. 19 (1983), (学会出版センター).
- 16) R. Livingston, W. F. Watson, J. McArdle: *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 1542 (1949).
- 17) K. Ballschmiter, J. J. Katz: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 2661 (1969).
- 18) S. S. Brody, M. Brody: *Biochim. Biophys. Acta*, **54**, 495 (1961).
- 19) C. Kratky, J. D. Dunty: *J. Mol. Biol.*, **113**, 431 (1977).

Visible absorption and fluorescence properties of chlorophyll *a* and *b* and pheophytin *a* and *b* in the nonionic surfactant-nonaqueous solvent system. Norio KAWAI and Kiyotoshi MORISHIGE (Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Kinki University, 3-4-1, Kowakae, Higashiosaka-shi, Osaka 577)

Absorption and fluorescence properties of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, pheophytin *a* and pheophytin *b* in nonaqueous solutions containing a nonionic surfactant, polyoxyethylene mono-p-nonylphenylether [$n=2$] {an average of ethylene oxide (EO) units: $n=2$ } (PONPE-2) or PONPE-5 ($n=5$), were examined, respectively. The interaction between chlorophyll and surfactant was evaluated using two parameters; polarizability and inorganicity/organicity ratio. Molar absorptivities and fluorescence quantum yields of chlorophyll *a* and *b* in hexane increased with the addition of the surfactants. However, those of chlorophyll *a* and *b* in acetone and dichloromethane and of pheophytin *a* and *b* in acetone, dichloromethane, carbon tetrachloride and hexane remained constant, regardless of the presence or absence of the surfactants in the solution. Volumes of solvated molecule of chlorophyll *a* and *b* in hexane calculated using Perrin-Weber's equation increased on account of their interaction with the surfactants. Consequently, it became apparent that the magnesium atom of the chlorophyll interacted with oxygen atoms of the EO chain of the surfactants.

(Received July 8, 1994)

Keyword phrases

chlorophyll; non-ionic surfactant; volume of solvated molecule; inorganicity/organicity ratio; ethylene oxide chain.