Micellar Counterion Binding for Alkylpyridinium Iodides Probed by N-Sulfopropylacridinium Fluorescence Quenching

Tsuyoshi ASAKAWA*, Keisuke IRIYAMA, Akio OHTA and Shigeyoshi MIYAGISHI

*Department of Chemistry and Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kanazawa University
(Kanazawa 920-8667, JAPAN)*

Edited by T. Kato, Tokyo Metr. Univ., and accepted April 12, 2004 (received for review January 29, 2004)

Abstract: Fluorescence quenching using N-sulfopropylacridinium (SPA) makes it possible to determine the degree of micellar counterion binding (β) of alkylpyridinium iodide in aqueous solution. But with quinoline derivatives as a halide-sensitive fluorescence probe, this was not possible. Fluorescence was quenched by iodide ions as indicated by linear Stern-Volmer plots, the slope of which was noted to decrease beyond cmc owing to micellar counterion binding with SPA excitation at 416 nm. The slope was found to significantly increase beyond cmc with SPA excitation at 357 nm. The abrupt quenching was due to absorption bands resulting from charge-transfer interactions of pyridinium and iodide ions. SPA fluorescence was quenched by iodide and bromide ions but virtually unaffected by nitrate or sulfate ions. Selective counterion binding of iodide ions is thus shown to be detectable.

Key words: the degree of micellar counterion binding, fluorescence quenching, N-sulfopropylacridinium, alkylpyridinium iodide, cmc of surfactant mixture

1 緒 言

イオン性界面活性剤の水溶液物性は、疎水基の長さや種類だけでなく対イオンの種類によっても大きく変化する (1)。これは対イオンの種類によって、ミセル会合体表面への結合度が異なるためであり、対イオン結合度はミセルの大きさや形状を支配する。従って、各種対イオンのミセルへの対イオン結合度は、水溶液物性の評価に重要な因子の一つとなる。これまで対イオン結合度は、起電力法、電気伝導度法および NMR 法等により決定されてきた (1-5)。広く用いられているイオン選択性電極の起電力法では、共存イオンの影響や界面活性剤の電極への吸着などによるデータの再現性が問題となることもあり、また、各種イオンに対応した電極を用意する必要がある。電気伝導度法では、界面活性剤濃度依存性から対イオン解離度の指標が評価されているが、共存イオン濃度が高いときや各種イ

オンが共存するとき、対イオン結合度の評価は困難である。

ヨウ化物イオンを対イオンとするカチオン界面活性剤は、一般にクラフト点が高く、臨界ミセル濃度 (CMC) が低い。これは、ヨウ化物イオンの水和半径が小さいためミセル表面のカチオン親水基に近づきやすいこと、アンモニウムと共有結合性を呈するため沈殿を生成しやすいことに対応している。ヨウ化ドデシルピリジニウム (DPI) 水溶液の起電力測定によると、CMC 5.7 mM および対イオン結合度 0.756 が報告されているが、ヨウ化物イオンを対イオンとするカチオン界面活性剤の基本的物性の報告例は少ない (3)。

本研究は、アクリジン誘導体の蛍光に対するハロゲン化物イオンの高感度な消光とそのイオン選択性を利用し、対イオン結合度の簡便な評価法を確立して、界面活性剤混合系および対イオン混合系におけるミセル表面への対イオンの競争的結合に関する知見を得るこ

*Correspondence to: Tsuyoshi ASAKAWA, Department of Chemistry and Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kanazawa University, 2-40-20 Kodatsuno, Kanazawa 920-8667, JAPAN
E-mail: asakawa@t.kanazawa-u.ac.jp

とを目的とする。ドデシルピリジニウム塩は、ヨウ化物イオンと電荷移動相互作用をすることが知られており(6,7)、この吸収バンドの蛍光消光挙動に対する影響を検討した。また、フルオロカーボン鎖を有するピリジニウム塩を合成し、その水溶液物性と炭化水素系界面活性剤との混合系について検討した。本研究では、蛍光強度測定という比較的簡便な方法でCMCを決定し、カチオン性ミセル系における対イオンの結合状態に関する知見を得た。

2 実験

2.1 試料

N-sulfopropylacridinium (SPA) は、Molecular Probe 社より購入したものをそのまま使用した。ピリジニウム塩型界面活性剤は、対応するハロゲン化アルカンをピリジンとアセトニトリル中で2時間還流して得た。エーテル洗浄後、アセトンで3回再結晶して精製した(8)。また、アルキルトリメチルアンモニウム塩は、東京化成工業株式会社から購入したものをアセトンとエタノール混合溶媒で3回再結晶した。

2.2 蛍光測定

二次蒸留水を用いて、 7×10^{-7} M SPA 水溶液を調整後、この水溶液でカチオン界面活性剤や無機塩を溶解させた。日立 F-2000 型分光蛍光光度計を用い、25℃の恒温下において蛍光スペクトルを測定した。界面活性剤や無機塩の添加による蛍光スペクトルのシフトは観測されず、蛍光波長ピークにおける蛍光強度を記録した。

3 結果および考察

3.1 蛍光スペクトルに対する各種イオンの影響

N-Sulfopropylacridinium (SPA) の蛍光消光挙動に関する基礎的な知見を得るため、水溶液中およびその添加塩系について検討した。 7×10^{-7} M SPA 水溶液の励起および蛍光スペクトルを **Fig. 1** に示した。357 nm の吸収極大で励起すると、485 nm を発光ピークとする強い蛍光が観察されるのに対し、416 nm で励起すると蛍光強度が小さくなるが、485 nm を発光ピークとするスペクトルに変化は見られなかった。また、いずれの励起波長でも NaI や NaBr などの消光剤濃度の増加と共に蛍光強度が減少し、蛍光波長のシフトは見られなかった。なお、界面活性剤水溶液系で、ミセル形成によっても蛍光波長シフトは観察されないことを確認した。

SPA の蛍光はハロゲン化物イオンとの分子衝突により消光され、次の Stern-Volmer 式に従うことが知られ

Fig. 1 Excitation and Emission Spectra of SPA in Aqueous Solutions.

ている(9)。

$$I_0/I = 1 + K_{SV} [Q]$$

従って、SPA の蛍光強度 I_0 と消光剤存在下における蛍光強度 I との比を消光剤濃度 $[Q]$ に対してプロットすると、直線の傾きから Stern-Volmer 定数 K_{SV} が得られる。各種無機塩類による蛍光消光を Stern-Volmer プロットした結果を **Fig. 2** に示した。いずれの系も良い直線関係が成立するが、直線の傾きに大きな相違が現れた。NaI と NaBr の K_{SV} はそれぞれ 452, 345 M^{-1} であるのに対し、NaCl の K_{SV} は 11.6 M^{-1} とかなり小さくなっている。また、 $NaNO_3$ と Na_2SO_4 の K_{SV} はそれぞれ 1.9, 0.9 M^{-1} で、ほとんど消光しないといえる。なお、対応するカリウム塩やリチウム塩を用いても同様な結果を確認している。このような SPA の蛍光消光のイオン選択性を利用すれば、ミセル系でアニオンの競争結合に関する知見が期待される。特に、SPA 蛍光に対する塩化物イオンによる消光感度が低く、N-ethoxycarbonyl-methyl-6-methoxyquinolinium bromide (MQAE) などのキノリン誘導体蛍光プローブと相違点があることがわかった(10)。

3.2 SPA 蛍光消光に対する励起波長の影響

次に、ヨウ化物イオンを対イオンとするピリジニウム塩型界面活性剤水溶液系における SPA 蛍光消光挙動を検討した。**Fig. 3** は $C_6F_{13}CH_2CH_2NC_5H_5I$ (HFOPI) および $C_{12}H_{25}NC_5H_5I$ (DPI) 水溶液の Stern-Volmer プロットを示すが、416 nm で励起した場合は CMC で傾きが

Fig. 2 Stern-Volmer Plots for Quenching of SPA Fluorescence by Various Ions.
(●) NaI, (▲) NaBr, (■) NaCl, (○) NaNO₃, (△) Na₂SO₄.

Fig. 3 Effect of Excitation Wavelength on Fluorescence Quenching.
Ex 416 nm (●) HFOPI, (○) DPI,
Ex 357 nm (▲) HFOPI, (△) DPI.

小さくなるのに対し、357 nm で励起した場合は CMC 以上で傾きがかなり大きくなった。この顕著な消光は、ミセル形成に伴いピリジニウム塩とヨウ化物イオンとの電荷移動相互作用によりイオン対が生成し、300 から 400 nm 付近までの幅広い吸収帯が新たに出現するためと考えられる (6,7)。また、CMC 以下での消光挙動は、励起波長に依存しないことから、励起波長 357 nm での CMC 以上における顕著な見かけの消光は、励起光がイオン対の吸収バンドに吸収されるためであると考えられる。一方、励起波長 416 nm のときは、このような吸収バンドの影響がなく、CMC 以上で Stern-Volmer プロットの傾きが小さくなった。これは、既に報告したキノリン誘導体蛍光消光挙動と同様に、ミセル表面へのヨウ化物イオンの結合によりバルク水相中のフリーなヨウ化物イオン濃度が減少するためである (10)。従って、観測される蛍光強度比からフリーなヨウ化物イオン濃度を見積もり、ミセルに対するヨウ化物イオンの対イオン結合度 β が決定できる。また、Stern-Volmer プロットにおける屈曲点から CMC も決定でき、その結果を **Table 1** にまとめた。HFOPI と DPI の K_{SV} は、NaI の 452 M^{-1} にほぼ対応するが、4%程度小さいのはカチオン界面活性剤が完全解離でないこと、ある

Table 1 Stern-Volmer Constant of Surfactant Monomer, CMC and the Degree of Counterion Binding by Fluorescence Quenching Method at 25°C.

Surfactant	K_{SV} / M^{-1}		CMC /mM		β	
	SPA	MQAE	SPA	MQAE	SPA	MQAE
C ₆ H ₁₃ CH ₂ CH ₂ NC ₅ H ₅ I (HFOPI)	435	-	10.7	-	0.70	-
C ₁₂ H ₂₅ NC ₅ H ₅ I (DPI)	432	-	5.3	-	0.77	-
C ₁₂ H ₂₅ NC ₃ H ₅ Br (DPB)	373	380	12.3	12.1	0.73	0.72
C ₁₂ H ₂₅ N(CH ₃) ₃ Br (DTAB)	356	362	15.9	15.4	0.73	0.72
C ₁₄ H ₂₉ N(CH ₃) ₃ Br (TTAB)	371	369	3.9	3.8	0.79	0.78
C ₁₆ H ₃₃ N(CH ₃) ₃ Br (CTAB)	382	373	1.0	1.0	0.80	0.89
C ₁₂ H ₂₅ NC ₅ H ₅ Cl (DPC)	12.9	233	-	16.1	-	0.74
C ₁₂ H ₂₅ N(CH ₃) ₃ Cl (DTAC)	15.1	211	-	24.4	-	0.53

いはカチオン界面活性剤モノマーの存在が両性イオンである SPA とヨウ化物イオンとの分子衝突を阻害していることを示唆する。また、SPA は MQAE と同程度の消光感度をもつこと、長波長側に吸収帯を有する SPA はヨウ化アルキルピリジニウム塩系の CMC や β が決定できることがわかった。SPA 蛍光消光法による DPI の CMC や β は、水溶液の起電力測定による文献値である CMC 5.7 mM および β 0.756 と良い一致を示し(3)、この方法が対イオン結合度の評価に有効であることが確認できた。しかし、MQAE 蛍光プローブは、ヨウ化物イオンとピリジン環との電荷移動相互作用による吸収バンドのため、アルキルピリジニウム塩系の対イオン結合度の評価には適用できなかった。一方、臭化物イオンを対イオンとする界面活性剤では、SPA と MQAE による CMC や β は良い一致を示した。また、塩化物イオンを対イオンとする界面活性剤では、SPA により CMC や β を決定することはできなかった。

3.3 添加塩系における SPA 蛍光消光挙動

励起波長 357 nm における顕著な見かけの消光が、ピリジン環とヨウ化物イオンとのイオン対生成によることをさらに確認するため、各種添加塩系における SPA 蛍光消光の DPI 濃度依存性について検討した。一定濃

度の NaI, NaCl, NaNO₃, Na₂SO₄ 添加塩存在下における SPA 蛍光消光について、DPI 濃度に対して Stern-Volmer プロットした結果を Fig. 4 に示した。なお、10 mM NaCl, NaNO₃, Na₂SO₄ 添加系のプロットは重なっている。NaI 濃度増加とともに良く消光が起こるが、NaCl, NaNO₃ および Na₂SO₄ 添加塩による影響は少ないことがわかった。また、顕著な消光が起こり始める濃度は CMC に対応し、NaI 濃度増加に伴い CMC が低下していることがわかる。CMC 以下では、Stern-Volmer プロットにおいて良い直線関係が成立するが、CMC 以上で顕著な消光が起こり、NaI 濃度増加とともに影響が大きくなった。CMC 以下では、ヨウ化物イオンによる消光により Stern-Volmer プロットに従うのに対し、CMC 以上では、電荷移動相互作用による吸収帯の出現により顕著な見かけの消光が起こると考えられる。また、ピリジン環とのヨウ化物イオン対生成に対する塩化物イオン、硝酸イオンや硫酸イオンによる影響は少ないと言える。

以上の結果より、ヨウ化物イオンのミセルへの結合度を評価するには、電荷移動相互作用による吸収帯の影響のない 416 nm で励起して SPA 蛍光消光挙動を調べる必要があることがわかった。Fig. 5 は、DPI の NaI 添加塩系における Stern-Volmer プロットを示した。

Fig. 4 Apparent Quenching Behavior on DPI Micelle Formation with SPA Excitation at 357nm.
(●) 0 mM NaI, (▲) 5 mM NaI, (■) 10 mM NaI, (▼) 15 mM NaI,
(○) 10 mM NaCl, (△) 10 mM NaNO₃, (□) 10 mM Na₂SO₄.

Fig. 5 Effect of Iodide Concentration on Fluorescence Quenching in DPI Systems with SPA Excitation at 416 nm.
(●) 0 mM NaI, (▲) 5 mM NaI, (■) 10 mM NaI, (▼) 15 mM NaI.

CMC 以下では、良い直線関係が成立し、 K_{SV} はほぼ一定であった。CMC において明確な屈曲点が現れ、NaI 濃度 5, 10, 15 mM と増加とともに CMC が 4.3, 3.6, 2.9 mM と低下した。また、CMC 以上における Stern-Volmer プロットの傾きは、NaI 濃度に依存せず、対イオン結合度は 0.78 ± 0.02 でほぼ一定となった。測定した濃度範囲では、添加塩濃度による対イオン結合度への影響は少ないと評価できる。なお、15 mM NaI 以上の濃度では、25℃において沈殿を生じた。

3.4 混合系における SPA 蛍光消光挙動

次に、フルオロカーボン鎖を有する HFOPI とその混合系について検討した。**Fig. 6** は、HFOPI-DPI 混合系および単独系における蛍光消光挙動を示した。塩化物イオンを対イオンとする DPC では、ほとんど消光が起こらないのに対し、ヨウ化物イオンを対イオンとする HFOPI および DPI では、良く消光が起こっている。CMC 以下での Stern-Volmer プロットの傾きが、HFOPI と DPI で相違がなく、ヨウ化物イオンにより選択的に消光が起こり、フルオロカーボン鎖の影響がないことを示している。一方、 CF_2 基の疎水性が CH_2 基の 1.5 倍程度であることから、 CF_2 基 6 個と CH_2 基 2 個を有する HFOPI は、 CH_2 基 11 個もつ界面活性剤に相当する。従って、HFOPI の CMC が DPI よりも高くなる

Fig. 6 Stern-Volmer Plots for Fluorescence Quenching by Pyridinium Surfactants with SPA Excitation at 416 nm. X_F is the mole fractions of HFOPI in mixtures. (●) HFOPI, (○) DPI, (△) DPC, (▲) X_F 0.8 HFOPI-DPI.

のは妥当と評価できる。また、HFOPI の β 0.70 は DPI の β 0.77 より小さいことがわかった。これは HFOPI の方が疎水基の長さが短いため、小さな球状ミセルを形成するためと予想される。一方、HFOPI-DPI 混合系における HFOPI の仕込みモル分率を X_F とすると、 X_F 0.8 では、Stern-Volmer プロットにおける屈曲点がそれぞれ単独系よりも高濃度側に存在する。屈曲点すなわち混合 CMC が単独系より高くなる現象は、ミセル中で両界面活性剤が混合しにくいことを示している (11)。そこで、混合 CMC の組成依存性を調べ、ミセル中の両界面活性剤の混和性を評価した。

ミセル中での界面活性剤 2 成分間の相互作用の評価には、水中に形成されたミセルを擬似相分離とみなして正則溶液論を適用する方法が良く利用されており、混合 CMC は次式で与えられる (12)。

$$CMC^{1+\beta_m} = CMC_1^{1+\beta_1} x_1 \exp[\omega x_2^2] + CMC_2^{1+\beta_2} x_2 \exp[\omega x_1^2]$$

ここで、 x はミセル組成、 ω は相互作用パラメーター、添え字 1, 2 は界面活性剤成分をそれぞれ示す。なお、混合ミセルの対イオン結合度 β_m は、混合ミセル組成に対して加成性を仮定し、SPA 蛍光消光法により求めた β から計算した。混合 CMC の計算結果を、SPA 蛍光消光法により決定した実測値とともに **Fig. 7** に示した。

Fig. 7 CMC for HFOPI-DPI Mixtures. The plotted points are experimental values.

The solid and dashed lines are the CMC and micellar composition curves predicted by the regular solution theory using interaction parameter $\omega = 2.2$, respectively.

正則溶液論による相互作用パラメーター $\omega = 2.2$ の計算 CMC 曲線は山型を示し、2 種類のミセルの共存を示唆する (12)。すなわち、モル分率 0.25 と 0.75 の間でミセル相分離することを示している。25℃において、相分離に必要な疎水基 CF_2 基の炭素数は 8 個以上であると報告されており、HFOPI-DPI 混合系はその条件を満たしてはいないが、ミセル相分離が示唆される。これはヨウ化物イオンのミセルに対する対イオン結合度が大きいことが影響している可能性がある。

最後に、SPA 蛍光消光のイオン選択性を利用して、塩化物イオンを対イオンとする界面活性剤との混合系について検討し、対イオンの混合ミセルへの競争結合の知見が得られないか試みた。DPI-DTAC および HFOPI-DTAC 混合系における SPA 蛍光消光挙動を検討し、DPI または HFOPI 濃度に対して Stern-Volmer プロットした結果を Fig. 8 に示した。なお、DPI-DTAC 混合系における DPI の仕込みモル分率を X_1 、HFOPI-DTAC 混合系における HFOPI の仕込みモル分率を X_F としている。CMC 以下では、DPI 濃度に対して Stern-Volmer プロットは良い直線関係を示し、DTAC モノマー共存の影響は見られない。また、CMC 以上では、DPI-DTAC 混合系は DPI 単独系 (Fig. 6) と異なる挙動

を示すのに対し、HFOPI-DTAC 混合系は HFOPI 単独系 (Fig. 6) と似た消光挙動を示した。また、Stern-Volmer プロットにおける屈曲点が DTAC のモル分率増加とともに DPI 低濃度側にシフトした。これは、混合ミセルを形成するためである。また、CMC 以上における Stern-Volmer プロットの傾きがほぼゼロであるのは、混合ミセルに対するヨウ化物イオンの結合が強いことを示している。ヨウ化物イオンが混合ミセル表面のドデシルトリメチルアンモニウム親水基と強く相互作用することは、ヨウ化物イオンとピリジン環との電荷移動吸収バンドの消失からも確認できた。一方、HFOPI-DTAC 混合系の $X_F = 0.67$ の消光挙動は HFOPI 単独系とほぼ一致する点や、DTAI の沈殿を生じやすい点から考えると、ミセル中で両界面活性剤が混合しにくいことを示している。すなわち、DPI-DTAC 混合系では、混合ミセルを形成するため沈殿は生じにくいのにに対し、HFOPI-DTAC 混合系では、フッ素系ミセルにドデシルトリメチルアンモニウムが可溶化しにくいいためクラフト点の高い DTAI の沈殿が生じやすい。また、HFOPI の CMC や消光挙動に対して DTAC 添加による影響が少ないことから、ドデシルトリメチルアンモニウムが混合ミセル形成にあまり関与していないことが示唆される。

4 結 論

現在までヨウ化物イオンを対イオンとするミセルの対イオン結合度の報告例は少ないが、SPA 蛍光消光挙動を利用すると、CMC と対イオン結合度が簡便に決定できることが明らかとなった。また、SPA 蛍光消光の特性からヨウ化物イオンの混合ミセルへの優先的な結合が確認でき、短波長側で励起すると電荷移動吸収バンドの存在を推察できることがわかった。また、ヨウ化物を対イオンとする界面活性剤は沈殿を起こしやすい等、イオン選択性電極では界面活性剤の電極への吸着でデータの再現性が問題となることがある。蛍光測定では、そのような問題は回避でき、比較的少量のサンプルでも CMC や対イオン結合度を簡便に評価できる。

Reference

1. K. FUJIO and S. OZEKI, Counterion Binding to Ionic Surfactant Micelles, *J. Jpn Oil Chem. Soc.*, Vol. **49**, 221-229 (2000).
2. T. MAEDA and I. SATAKE, The Micellar Properties of Dodecyltrimethylammonium Chloride as Studied by Ion-Selective Electrodes and Fluorescence Probe Method, *Bull Chem. Soc. Jpn*, Vol. **61**, 1933-1937 (1988).
3. T. INGRAM and M.N. JONES, Membrane Potential Studies on

Fig. 8 Fluorescence Quenching Behavior in Mixtures by Iodide Ions with SPA Excitation at 416 nm. X_1 and X_F are the Mole Fractions of DPI and HFOPI in Mixtures, Respectively.
(○) X_1 0.67, (△) X_1 0.5, (□) X_1 0.4 DPI-DTAC, (●) X_F 0.67 HFOPI-DTAC.

- Surfactant Solutions, *Trans Faraday Soc.*, Vol. **65**, 297-304 (1968).
4. J.M. DEL RIO, C. POMBO, G. PRIETO, V. MOSQUERA and F. SARMIENTO, Effect of Temperature and Alkyl Chain Length on the Micellar Properties of n-Alkyltrimethylammonium Bromides in a Low pH Medium, *J. Colloid Interface Sci.*, Vol. **172**, 137-141 (1995).
 5. M. JANSSEN and R. RYMDEN, Counterion Binding in Aqueous Solutions of Mixed Micellar Aggregates from Self-Diffusion Measurements, *J. Colloid Interface Sci.*, Vol. **119**, 185-193 (1987).
 6. P. MUKERJEE and A. RAY, Charge-Transfer Interactions and the Polarity at the Surface of Micelles of Long-Chain Pyridinium Iodides, *J. Phys. Chem.*, Vol. **70**, 2144-2149 (1966).
 7. P. MUKERJEE and A. RAY, The Specificity of Counterion Adsorption to Micelles of Dodecylpyridinium Iodides and Their Critical Concentrations, *J. Phys. Chem.*, Vol. **70**, 2150-2157 (1966).
 8. T. ASAKAWA, H. HISAMATSU and S. MIYAGISHI, Micellar Pseudophase Separation Regions of 1H,1H,2H,2H-Perfluoroalkylpyridinium Chloride and Hydrocarbon Surfactants by Group Contribution Method, *Langmuir*, Vol. **11**, 478-482 (1995).
 9. J. BIWERSI, B. TULK and A.S. VERKMAN, Long-Wavelength Chloride-Sensitive Fluorescent Indicators, *Anal. Biochem.*, Vol. **219**, 139-143 (1994).
 10. T. ASAKAWA, H. KITANO, A. OHTA and S. MIYAGISHI, Convenient Estimation for Counterion Dissociation of Cationic Micelles Using Chloride-Sensitive Fluorescence Probe, *J. Colloid Interface Sci.*, Vol. **242**, 284-287 (2001).
 11. P. MUKERJEE and A.Y.S. YANG, Nonideality of Mixing of Micelles of Fluorocarbon and Hydrocarbon Surfactants and Evidence of Partial Miscibility from Differential Conductance Data, *J. Phys. Chem.*, Vol. **80**, 1388-1390 (1976).
 12. K. SHINODA and T. NOMURA, Miscibility of Fluorocarbon and Hydrocarbon Surfactants in Micelles and Liquid Mixtures. Basic Studies of Oil Repellent and Fire Extinguishing Agents, *J. Phys. Chem.*, Vol. **70**, 2150-2157 (1966).
-