X線小角散乱法による 高分子溶液の研究

Debye によって始められた光散乱の高分子溶液への応用は分子量の大きさの決定などできわめて有力な方法となり、今やその研究に欠かせぬものとなった。しかし溶液中の高分子の微細な形態まで知ろうとするとこの方法も決して十分でなく他の研究方法を必要とする。波長のきわめて短いX線小角散乱を用いるとこの欠点を補うことが可能であり、Kirste の立体規則性 PMMA の研究はこのことをよく示している。わが国でも安定したX線装置の開発とともに高分子溶液のX線小角散乱による研究がしだいに注目されるようになってきた。これから標題の研究の概要を述べるが、筆者はもともと鎖状高分子溶液の光散乱の実験に携わっていたので、その発展としてX線小角散乱をとらえたがために、興味ある文献に限られ、その点この総説を書くのに適当でない。特に読者がいちばん興味深いと思われる生体高分子関係での文献の見落としが多いと思う。その点読者の寛容を得たいと思うとともにご指摘いただければ幸である。

三 宅 康 博*

1. 緒 言

高分子溶液の研究で高分子の形状を知することは、それが剛体状粒子、屈曲性鎖状高分子にかかわらずきわめて重要なことである。特に後者の形状の知見は高分子溶液の研究の大きな課題の一つである。この形状を知るには普通高分子の全体の回転半径と関係ある物理量を測定し理論に従って形状を決める。それには光散乱、固有粘度などの測定が行なわれる。高分子全体の回転半径の大きさを決めることはもちろん重要であるが、剛体状粒子では全体の回転半径のみでなく、各軸の回りの回転半径の大きさを知ることが形状を正確に知る上で必要であり、また鎖状高分子でも構成要素の分布についての知見を得ることはきわめて重要である。このような知見を得るにはどのような測定を行なったらよいであろうか。高分子溶液の研究で通常用いられる測定方法は今や定まった観があり、それより得られる知見も光散乱の Zimm プロットにみるごとく定まってくる。しかし光散乱でもきわめて分子量の高い高分子を用い、高角度での散乱強度を正確に測定すると形状の違いばかりでなく鎖状高分子のセグメントの分布などについての知見も得ることが可能であるが、この種の研究¹⁾はきわめて限られる。したが

ってこの問題を研究するには、通常用いられる以外の測定手段を必要とする。このためには光学的方法が望ましく光散乱が波長の関係で限られるとすると次にはX線散乱が考慮されることになる。

X線散乱の高分子への応用は、固体の分野ではきわめて一般的であるが、溶液関係の研究はその理論内容よりみて豊富な知見が得られるにもかかわらず研究者はきわめて少ない。ここでは高分子溶液のX線散乱による形状の決定の方法を主に述べる。したがって繊維の長周期を決定する不連続な鋭い干渉を示すX線回折²⁾、熱振動による固体密度の揺動のようなX線散漫散乱の研究³⁾などにはふれない。すなわちX線小角散乱といわれるものであり、その扱いは高分子溶液の光散乱とは散乱の源が異なるのみで数学的に同じであり⁴⁾、X線散乱に慣例となっている角度のとり方などに注意すると光散乱に熟知している方は容易に理解することができ、その応用も光散乱のそれをおおっていることがわかる。X線小角散乱による高分子溶液の研究については、すでにいくつかの邦文の文献⁵⁾もあるのであわせ参照されたい。

2. X 線 散 乱

光散乱は、系の小部分に屈折率の相違があると生ずるが、X線散乱は系の小部分に電子密度の相違があると生ずる。大部分の高分子溶液で溶媒と溶液との可視光による屈折率の相違はきわめて小さく、またX線による屈折率はほとんどの物質できわめて1に近い。それゆえ、数

* Yasuhiro Miyake 北海道大学（理学部 高分子学科・060 札幌市北8条西5丁目）助教授・理博
Investigation of Highpolymers Solution by X-ray Small Angle Scattering

式的には両散乱の角度依存性は同じであると考えられ、角度分布に関する限り波長が 10^3 の程度異なっているが、お互の考え方は交換できる⁴⁾。したがって光散乱とX線散乱の両式は、高分子溶液の無限希釈では次の式で表わされる。

$$I(\theta) = KI_0 MP(\theta)(1 + \cos^2 \theta) c / 2 r_1^2 \quad (1)$$

$$K = 4 \pi^2 n_0^2 (\partial n / \partial c)^2 / N_A \lambda^4 \quad (\text{光散乱の場合})$$

$$K = (e^4 / m_e^2 c^4) Z_e^2 N_A = 7.9 \times 10^{-26} Z_e^2 N_A$$

(X線散乱の場合)

$I(\theta)$ は散乱強度、 I_0 は入射光強度、 M は分子量、 $P(\theta)$ は角度分布関数、 c は濃度、 r_1 は試料より測定点までの距離、 θ は入射方向と散乱方向の角度を表わす。 n_0 は溶媒の屈折率、 $(\partial n / \partial c)$ は溶液の屈折率の変化の割合、 N_A はアボガドロ数、 λ は使用した波長を示す。また e, m_e は電子の荷電と質量、 c^* は光速、 Z_e はグラムあたりの過剰の電子数である。X線散乱では角度

—: $\cos \beta = 0.9$, ...: $\cos \beta = 0.8$, β : 原子価角の補角
第1図 鎖状高分子の散乱関数^{1a)}

三宅康博氏 昭和28年北海道大学理学部物理学科卒業、昭和32年同大学院終了、同年、同大物理学科勤務、昭和39年同大高分子学科勤務。専門は高分子溶液実験、著書に高分子工学講座4巻中分子形態の測定法(地人書館)、趣味は、趣味というほど高級なものをもっていないが、FMでクラシックをきくのが好き、その他散歩も好である。

のとり方を光散乱のときの2倍にとるのが慣例であるので $(1 + \cos^2 \theta)$ は $(1 + \cos^2 2\theta)$ となる。小角散乱ではこの値は2に近く、また原子散乱因子 f はすべて定数は考えてよい⁹⁾。この散乱の式より溶質の形をきめるには角度分布関数 $P(\theta)$ を考慮するとよい。 $P(\theta)$ は θ のみならず λ と高分子の大きさ r の関数である。今 $S = (4\pi/\lambda) \sin \theta$, $Sr = X$ とすると $P(\theta)$ は本来 X の関数であるので可視光とX線とは λ が 10^3 の程度変わるので X の値が大きく変わり、それに対応して $P(\theta)$, すなわち $P(X)$ の挙動もより明白になる。 X を大きくするには r を大きくして $P(X)$ の挙動を見ることもできる。光散乱ではこの方法を用いる¹⁾。第1図は鎖状高分子の $P(X)$ と X との関係を示している。縦軸は $P(X)X^2$ を、横軸には X をとっており、 z は Kuhn の統計的要素の数である。 z が大きいものは屈曲性が大きく、 $z=40$ で台地の部分が現われ、 $X=2$ で曲線は上昇している。この台地は排除体積と密接な関係⁷⁾ があり、光散乱測定ではきわめて大きな高分子を用いてもやっとこの部分に達する程度であり、これ以上の X の部分の知見はわからない。一方X線散乱ではきわめて小さい角度まで測定できるUスリット⁸⁾ を用いると通常光散乱で測定する X の範囲から光散乱で達せられない X の大きな値までの $P(X)$ の知見を得ることが可能である。このことはX線散乱からは高分子の微細な点までわかることを意味する。次にX線散乱より分子量を、ついで散乱角度より形状についての知見を得る方法を述べよう。

3. 分子量

X線散乱強度 $I(0)$ の絶対測定を行ない Z_e がわかると M がわかる。溶液で、 $\bar{v}_1$ を溶質の部分比容、 ρ_2 を溶媒の電子密度、 Z_1 を溶質のグラムあたりのモル電子数とすると $Z_e = Z_1 - \bar{v}_1 \rho_2$ であり $(\cos^2 2\theta + 1)/2 \approx 1$ とおくと

$$M = 2.10 \times 10 \times I(0) r_1^2 / I_0 (Z_1 - \bar{v}_1 \rho_2)^2 c \quad (2)$$

となり分子量が決定できる^{8), 9), 10)}。X線散乱では溶質1個の質量のみならず棒状粒子の単位長あたりの質量、薄い板状粒子の単位面積あたりの質量もわかる。Kratky⁹⁾ によると棒状粒子の単位長 ($1 \text{ \AA}$) あたりの質量は $\theta \rightarrow 0$ に外挿した断面積因子より計算され

$$M/\bar{A} = 2.73 \times 10 \times \{I(2\theta)\}_{\theta=0} r_1 / I_0 (Z_1 - \bar{v}_1 \rho_2)^2 c \quad (3)$$

となる。板状粒子の単位面積 ($1 \text{ \AA}^2$) あたりの質量は

$$M/\bar{A}^2 = 5.56 \times 10 \times \{I(2\theta)^2\}_{\theta=0} / I_0 (Z_1 - \bar{v}_1 \rho_2)^2 c \quad (4)$$

となる。 λ の値として $\text{CuK}\alpha$ を用いている。(3)式を用いると高分子の会合の度合も推定できる¹¹⁾。硝酸セルロースを良溶媒と貧溶媒とに溶かして測定した結果は、後者の系でクラスターができていていることが示されている。

第1表 高分子の形と回転半径の関係^{9),14)}

高 分 子		R_g^2
鎖 状	平均2乗半径 $\langle s^2 \rangle$	$\langle s^2 \rangle$
球 状	半径 D	$(3/5) D^2$
棒 状	長さ L	$(L^2/12)$
楕 円 状	半軸 a, b	$(a^2+b^2)/4$
中空球	半径 r_1, r_2	$(3/5)(r_1^5-r_2^5)/(r_1^3-r_2^3)$
回転楕円体	半軸 a, b, c	$(a^2+b^2+c^2)/5$
プリズム	三稜 A, B, C	$(A^2+B^2+C^2)/12$
楕 円 筒	半軸 a, b , 高さ h	$\{a^2+b^2+(h^2/3)\}/4$
中空円筒	半径 r_1, r_2 , 高さ h	$(r_1^2+r_2^2)/2+h^2/12$

第2図 γ -グロブリンの Guinier プロット¹⁸⁾
横軸は1次光よりの距離の15.6倍にとってある

4. 高分子(粒子)の形状の決定法

X線散乱より分子の形状をきめる方法として $P(\theta)$ を $\sin^2 \theta$ の関数としてプロットしその初期勾配より高分子全体の回転半径 R_g を求める Guinier の方法¹²⁾, Porod によって提出された Q なる不変量を用いる Invariant 法¹⁸⁾および実測曲線と理論曲線とを比較する方法などがある。Guinier の方法とは $X=Sr$ が小さい $\sin \theta \approx \theta$ では粒子の形に関係せずよい近似で散乱強度は次式のガウス型

$$I(\theta) = I_0 \exp(-KR_g^2 \theta^2), \quad K = 16 \pi^2 / 3 \lambda^2 \quad (5)$$

で表わせるので、この式の数値をとって $\ln I(\theta)$ を θ^2 でプロットするとその勾配より R_g^2 がわかる。Guinier のプロットから求まるのは R_g のみで形はわからない。 R_g と粒子の形との関係は第1表に示しておいたが、表より R_g のみで形がわかるのは、鎖状・球状・棒状のみで、しかもなんらかの方法でいずれの形に属するかを知らねばならない。それには θ の大きな値での $I(\theta)$ が形に強くよるので光散乱の時と同じく理論・実験両曲線とを比べるか R_g の分子量依存性を考える。しかし他の場合では R_g 以外の量を測定しないと正確な形を決定することができない。今無限に長い棒状粒子を考えてみる。

Kratky と Porod^{15),16)} とによると、この場合散乱強度 $I(\theta)$ は長さによる散乱強度 I_l と切断面の散乱強度 I_q との積

$$I(\theta) = I_l \times I_q \quad (6)$$

で表わせる。長さの散乱関数 $P_l(\theta)$ は棒状のそれで、 u の大きな値では

$$P_l(\theta) = \frac{1}{\mu} \int_0^{2u} \frac{\sin x}{x} dx - \left(\frac{\sin u}{u} \right)^2 \rightarrow \frac{\pi}{u} \quad (7)$$

$$u = (2 \pi L / \lambda) \sin \theta$$

となるから $\sin \theta \approx \theta$ とすると I_l は $1/\theta$ に比例する¹⁷⁾。切断面の散乱関数は(5)式と同じくガウス型で表わせるので

$$I(\theta) \sim \frac{1}{\theta} I_q \sim \frac{1}{\theta} \exp\{-K' R_q^2 \theta^2\}, \quad K' = 16 \pi^2 / 2 \lambda^2 \quad (8)$$

となる。 R_q は切断面の回転半径である。対数をとって

$$\ln(I \cdot \theta) = \ln(I \cdot \theta)_0 - K' R_q^2 \theta^2 \quad (9)$$

とすると $\ln(I \cdot \theta)$ と θ^2 とのプロットの勾配より R_q を求めることができる。第2図は γ -グロブリン水溶液の小角散乱のプロットである¹⁸⁾。第2図(a)より $R_g = 70 \text{ \AA}$ が第2図(b)より $R_q = 15 \text{ \AA}$ がそれぞれ初期勾配より求ま

る。第2図(b)で X の小さい値でプロットが下るのは長さが有限のためであり、この部分より R_g が出てくるのである。第1表によると $h^2 = 12(R_g^2 - R_q^2) = 12\{R_g^2 - (a^2 + b^2)/4\}$ となるから、上の値を入ると $h = 236 \text{ \AA}$ となる。軸比 a, b を決定するには理論実験の両曲線の比較を必要とするが、その結果、軸比が1:3の $a = 19 \text{ \AA}$, $b = 57 \text{ \AA}$ という値を得ることができる。これらの値から分子量を求めると 1.57×10^5 となるが、これは超遠心法より求めた 1.56×10^5 ときわめてよく一致する。厚さに比べて十分広く薄い板状粒子についても同じ扱いができる。このときも散乱強度 $I(\theta)$ は(6)式と同じく無限に薄い板状粒子の散乱強度 I_p と厚さの部分の I_d とからなりたち、板状粒子の散乱関数¹⁹⁾を、半径を a とすると u の大きな値で

$$P_p(\theta) = \frac{2}{u^2} \left(1 - \frac{J_1(2u)}{u} \right) \rightarrow \frac{2}{u^2} \quad (10)$$

$$u = (4 \pi a / \lambda) \sin \theta, \quad J_1: \text{一次のベッセル関数}$$

となるから I_p は $1/\theta^2$ に比例し I_d について guinier の近似式を用いると

$$I(\theta) = I_p I_d \sim \frac{1}{\theta^2} \times I_d \sim \frac{1}{\theta^2} \exp\{-K'' R_d^2 \theta^2\} \quad (11)$$

$M_w=2040$, 濃度 $c=9.73, 12.8, 19.45, 28.5,$
 $38.0 \times 10^{-3} \text{g/cm}^3$
 $\sin \theta=9.05, 9.75, 11.3, 13.2, 15.2, 17.2,$
 $19.3, 21.4, 23.6 \times 10^{-3}$

第3図 PMMA-アセトン溶液のX線小角散乱のZimmプロット^{20a)}

遠心機処理による沈降部分の試料

第4図 野生のキュウリのモザイクビールのX線散乱強度²³⁾

$$K'' = 16 \pi^2 / \lambda^2$$

となる。 R_d は厚さについての回転半径であって前と同じく対数をとって $\ln(I \cdot \theta^2) \sim \theta^2$ のプロットから R_d が分かる。Guinierの方法は濃度が十分低く分子間の相互作用が無視できるときに成立するのであるが、この相互作用が無視できないときは光散乱のZimmプロットのごとく濃度を零に外挿する必要がある。Kirste²⁰⁾らは重合度の低いポリメチルメタクリレート (PMMA) のアセトン溶液のX線散乱をKratkyの回転盤の方法²¹⁾で絶対測定し、Zimmプロットにより R_g を決定した。第3図はこのプロットであり広がりにはきわめて小さく、このようなポリマーの広がりもX線を使用すると決定できることを示した。次にInvariantの方法を述べよう。Porod¹⁹⁾によると

第5図 α_2 -マクログロブリン-NaCl (0.85%) 水溶液 ($c=0.5\%$) の散乱曲線²⁵⁾

$$Q = \int_0^\infty I \cdot \theta^2 d\theta \quad (12)$$

で与えられる量は系の分散相の全体積のみに依存し個々の粒子の体積には関係しない不変量である。濃度が一定のとき $\theta \rightarrow 0$ での散乱強度 I_0' は分子量に比例する。したがって粒子の密度が一定であると I_0' はその体積 V に比例することになるので I_0'/Q は V の尺度となる。いま $\tan 2\theta = m/a$, $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ (CuK α) とすると

$$V = (I_0'/Q) (\lambda a)^2 / 4 \pi = 0.290 a^3 (I_0'/Q) \text{ \AA}^3 \quad (13)$$

で与えられる⁹⁾。同じ関係式が棒状粒子の切断面 q と $\theta \rightarrow 0$ での $(I \cdot m)_0$ との間に、薄い板状粒子の厚さ d と $(I \cdot m^2)_0$ との間に成立する⁹⁾。

$$q = \frac{(I \cdot m)_0}{Q} \cdot \frac{(\lambda a)^2}{2 \pi} = 0.378 a^2 (I \cdot m)_0 / Q \text{ \AA}^2 \quad (14)$$

$$d = \left(\frac{I \cdot m^2}{Q} \right)_0 \left(\frac{\lambda a}{2} \right) = 0.770 a (I \cdot m^2)_0 / Q \text{ \AA} \quad (15)$$

これらの式より V , q , d がわかるので、長さ、半径などが求められる。Invariant法を用いるには比較的高角度の散乱強度のすその方まで正確に測定する必要があるが、反面、この領域では電子密度の揺動の効果²²⁾が現われるのでこの考察も必要となる。最後に理論散乱曲線と実験散乱曲線との比較による方法を述べよう。これは大きい角度での散乱曲線は散乱粒子の形状に著しくよるので実験値と理論値とを比較し、もっともよく一致したものをもってその形と決める。第4図は野生のキュウリのモザイクビールのX線散乱の測定結果²³⁾である。点線はGuinierのプロットより求めた半径 $140 \text{ \AA}$ の球形の散乱関数²⁴⁾を表わしている。 θ の大きな値での一致はよくないが、小さな値での一致はきわめてよい。このことは粒子が一樣な密度の完全球形をしているのではないので、小角部分では球形近似でよいが、分解能の上ってくる高角部分では一樣な密度の完全球形よりのずれが著しいことを示している。またフーリエ変換法により電子密度も求められているが、それによると中心部に約 $40 \text{ \AA}$ の広

がりの電子密度の減少が見られる。第5図は α_2 -マクログロブリンの0.5%の希薄溶液のX線散乱の測定結果²⁵⁾である。(a)の理論曲線は回転円筒体(b)のは円筒についてのものである。実験値はともに軸比1の理論曲線と一致して、いずれの形であるかわからない。 θ の大きい値での第2の極値の位置より(a)では半径81.4 Åの球形、(b)では高さ、直径ともに141 Åの値が得られる。Guinierのプロットより $R_g=63.5\text{Å}$ が得られるが、これらの値を用いての計算値はともに63.7 Åとなり、きわめてよく一致する。しかし Invariant 法を用いてその体積を求めると $2.20 \times 10^6 \text{Å}^3$ となり、上の値で体積を計算すると球状では $2.26 \times 10^6 \text{Å}^3$ 、円筒状では $2.20 \times 10^6 \text{Å}^3$ となるので、形は多分軸比1の円筒状と推定される。このようにX線散乱の高分子溶液への適用は高分子の形状の決定にすこぶる強力な手段となるが、生体高分子の研究で溶液中でどの程度水和しているかが重要な場合に高分子の大きさを通じてその研究も可能である。通例の水和の度合の研究方法では粒子の外側についた水和がわかるのであって内部の状態はわからない。X線散乱の強度は溶質溶媒の電子密度の差 Z_e^2 に比例するので、もし溶媒の電子密度を変えて $Z_e=0$ になるようにすると熱力学的考察とともに双方についての知見を得ることが可能である。この方法による牛の肝臓よりとったカタラーゼの水和の研究²⁶⁾では内部の水和を推定している。次にX線散乱を用いて行なわれたいくつかの研究をみてみよう。

5. 鎖状高分子

鎖状高分子の散乱関数は第1図に示されているように Z, X とともにきわめて異なった挙動を示す^{1), 27)}。 θ の小さい範囲では散乱関数 $P(\theta)$ は

$$P(\theta) = \frac{2}{u^2} (e^{-u} - 1 + u) \quad (16)$$

$$u = (8\pi^2 n b^2 / 3 \lambda^2) \sin^2 \theta$$

第6図 硝酸セルロース(重合度2300)-アセトン溶液のX線散乱強度³⁰⁾

で表わせる^{24), 28)}が、これは高分子の全体についてのものであり、これより大きな θ の範囲では高分子の比較的大きな部分より生ずる散乱関数を示し(16)式の漸近式である

$$P(\theta) = \frac{2}{u} - \frac{2}{u^2} \quad (17)$$

の関数形で表わせる^{28), 29)}。したがってこの部分の $I(\theta)$ は $\tan \theta \sim \theta$ とすると $1/\theta^2$ に比例する。さらに θ が大きくなると鎖の統計的要素に対応する散乱関数が現われるが、これは棒状の散乱関数である(7)式に対応し $I(\theta)$ はこの範囲では $1/\theta$ に比例する。この結果 $P(\theta) \cdot \theta^2$ を θ でプロットすると第1図のように θ の小さい値では θ とともに上昇を示し次に台地となり、さらに θ の大きな値では θ に比例する直線となる(第1図では θ のかわりに X でプロットしてある)。この図で台地と直線との交点の横座標 θ^* は鎖状高分子の統計上重要な persistence length $a^{27), 30)}$ と関係があり、Kratky^{27a)} らは $X^* = (4\pi a / \lambda) \sin \theta^* = 0.62$, Porod³¹⁾ は $X^* = 1.91$, Peterline¹⁾ は $X^* = 2.0$ と求めた。また Heine, Kratky Roppert³²⁾ は $X^* = 2.3$ と計算した。鎖状高分子の構造因子についての知見は a の値よりわかるので、この関係式は重要である。しかし θ^* にどの値を用いたらよいかは光散乱粘度などより求めた広がりとの定量的比較が十分行なわれていない現状ではわからない。また上に述べた値はすべて θ 溶媒中でのもので一般の溶液ではこのような台地が得られるかどうか明白でなく排除体積を考慮した Peterline³³⁾, Benoit^{1b)} らの散乱関数では Heine, Kratky, Roppert³²⁾ と同じく台地の部分はゆっくり θ とともに上昇する傾向を示している。Koyama³⁴⁾ の最近の計算では台地が存在する。Heine³⁵⁾ も排除体積を考慮して $P(X)$ を計算したが、重合度が小さいためか ($N=25$) 台地について明白な知見を得るに至っていない。しかしX線散乱が一般の溶液で a を直接提出する可能性を含んでいるので、この分野での今後の研究が一段と期待される。第6図は Kratky³⁶⁾ らによる硝酸セルロースとアセトンの溶液のX線散乱曲線を示している。この図によると散乱曲線が濃度 c とともに変化することがわかり、2% 溶液では台地の部分がかなり明白に現われている。比較的分子量の小さい硝酸セルロース(重合度78~145)のアセトン溶液および貧溶媒中での測定では窒素含有量が11%より12%になるに従い、前者の系では a が52 Åより58 Åに、後者の系では41 Åより50 Åに変わり、硝酸化度がセルロースの形態に微妙に関係していることが報告されている¹¹⁾。さらに立体規則性鎖状高分子の溶液中での形態、ならびに低い分子量のものの広がり、第2ビリアル係数などの研究がある。Kirste³⁷⁾ は形態の研究に分子量約27万で規則度(tacticity)がともに約96%のアイソタクチック(Iso.と略)とシンジオタクチック

第7図 PMMA 溶液の X 線小角散乱の強度^{37a)}

矢印は Heine, Kratky, Roppert³²⁾ の計算による変曲点を示す

第8図 コイル，ヘリックス散乱曲線の重畳曲線^{37f)}

第9図 Synd. PMMA のベンゼン溶液の散乱強度とモデルの散乱関数との比較^{37a)}

ク(Synd. と略)のポリメチルメタクリレート(PMMA)を用い第7図のようなX線散乱の測定結果を得た。濃度を0に外挿していないが溶媒が同じでも立体規則性が異なると全く異なる散乱曲線を生ずる。Synd. PMMAでは極値が周期的に現われ台地の部分がみられない。Iso. PMMAでは曲線は比較的 第1図に似ている。Kirsteはこの相違を説明するのに、初め固体の Synd. PMMA がヘリックスを形成する³⁸⁾ので溶液中でもヘリックス状をとっていると考え、ヘリックスの散乱関数を求め、これとランダムコイル状の散乱関数との重畳によって説明した^{37a), f)}、第8図がそれであって理論・実験の一致はかなりよい。次いで彼は、散乱関数が点のつながりからでなく有限の大きさをもつ粒子のつながりとしたときどのように改善されるかを研究した^{37c), d)}後 persistence lengthを一定にして原子価角 α と回転角 φ を変えて散乱曲線を求めた。このモデルでは鎖が一定の曲率をもったコイル状になりやすく、これに対して curvature の persistence と名付け^{37a)}今までのものを direction の persistence と呼んだ。したがって、求めた散乱関数では角度の大きい領域で周期性が現われる。ベンゼン中での散乱強度と比べたのが第9図であり、両者の一致はきわめてよい。この系で Synd. PMMA がとりやすい曲率半径 r_c は $6.7\text{\AA}$ であって、固体の Synd. PMMA をX線的に見たときのヘリックスの曲率半径に相当する。固体のその周期は $21.1\text{\AA}$ であるが、その軸半径 r_a は上の値では $3.35\text{\AA}$ となり、いずれも妥当な値となる。第10図は Iso. PMMA の理論・実験の両曲線の比較である。曲線(I)は自由回転であって定性的には Iso. PMMA の挙動を説明している。曲線(II)は $\alpha=1.24$ (正四面体)でトランスの配位をとりやすいもの、曲線(III)は同じ α で *l-gauche* の配位をとりやすいものである。実験値は曲線(II), (III)の

I: 自由回転の鎖, II: トランスの位置をとりやすい鎖,
III: ゴーシュの位置をとりやすい鎖

第 10 図 Iso. PMMA のベンゼン溶液の散乱強度とモデルの散乱曲線との比較^{37a)}

間に位置していて正確にいずれの曲線ときめれない。

$X^*=2.3$ の値を用いて a を求めるとアセトン、ベンゼンでは $8.4 \text{ \AA}$, θ 溶媒では $7.2 \text{ \AA}$ となる。また第 10 図を画くさい座標の移動因子より求めると前者の系では平均して $6.9 \text{ \AA}$ となり、実験誤差を考慮したとしても前者の系では平均 $7.7 \text{ \AA}$, θ 溶媒では平均 $6.6 \text{ \AA}$ ぐらいと推定でき、前者の系より θ 溶媒へと a の値が減少している。Kirste はこの一連の研究を通じて新しい知見を提供したが、実験は有限濃度 (2%) で行なわれているのに反し、散乱関数はすべて 1 個の独立した高分子のものであって分子間の考慮はなく、濃度の外挿の問題にはならぬ。Kratky³⁸⁾ はセルロースの研究で散乱強度が濃度とともに変わること示し、また和田のポリスチレン溶液の X 線散乱の研究³⁹⁾ でも $c \rightarrow 0$ の外挿がないことを指摘している。Kirste の研究が広がりを求めるようなきわめて小角度での測定ではないにしろ、Luzzati のポリベンジルグルタマート (PBLG) の溶液の研究⁴⁰⁾ で $c \rightarrow 0$ の外挿が重要であったことを考えると、この問題を等閑に付することはできないように思われる。他方 Brady⁴¹⁾ は 50% ヨウ素化された Iso. とアタック (At) のポリスチレン (PS) の 0.25% ベンゼン溶液とヨウ素化トルエンのベンゼン溶液との広角での X 線散乱 (この場合小角散乱の仮定はなりたない) を測定比較し、双方の散乱強度に規則性が現われず、高分子を特長づける統計的セグメントの長さはきわめて短いと述べている。さらに光散乱による高分子溶液の研究と同じく X 線小角散乱を用いた Kirste らの研究^{20b), 42)} では分子量の低いものから、かなり大きな At. と Synd. の PMMA (dimar trimer から $M=51$ 万まで) のアセトン、アセトニトリル溶液および PS ($M=5850 \sim 125000$) のトルエン、ヘキシル m -キシレン溶液の散乱強度を測定し、Zimm プロットと Guinier プロットとより $\langle r_g^2 \rangle$ と

第 2 ビリアル係数 A_2 とを求めた。

双方で求めた $\langle r_g^2 \rangle$ の値は前者の方が若干大きい。PMMA の広がり $\langle r_g^2 \rangle$ は θ 溶媒中では低い分子量まで M に比例する。アセトン溶液中では M が 3 万以下のものでは θ 溶媒中のそれと一致するが、それより大きいものは M に比例しない。PS では θ 溶媒中では低い分子量まで同じく M に比例するが、トルエン中では 1 万以下のものでは M に比例するが、 θ 溶媒中のものとは一致せず、大きな M では PMMA と同じく M に比例しなくなる。 A_2 は、PMMA のアセトン溶液では M が 1 万以下で Casassa⁴³⁾ の式より偏倚するが PS のトルエン溶液では低い分子量まで Casassa の式に合っている。なおこの他に、分子量分布の狭い PS ($M_n=147,000 \cdot M_w/M_n=1.04$) のシクロヘキサン溶液を用いて臨界タンパク光の研究⁴⁴⁾ も行なわれている。Debye の理論⁴⁵⁾ に従って解析されているが、光散乱の研究結果⁴⁶⁾ と一致すると報告されている。

6. 剛体性粒子

6-1. ポリペプチド

この高分子で重要なのはヘリックス溶媒中で α -ヘリックスになっているかどうかということとヘリックス-コイル転移でのその形態である。前者は Doty⁴⁷⁾ らの PBLG の研究以来光散乱によりその形態の研究⁴⁸⁾ が行なわれているが、分子量分布の影響のため明白な結論に達していないが、X 線散乱による研究は Luzzati⁴⁹⁾ によって行なわれた。彼の初めの研究^{40a)} では PBLG はピリジンの濃厚溶液中では α -ヘリックスに似ているが、希薄溶液 (1~5%) 中および m -クレゾール溶液では 3_{10} ヘリックスを形成し、単位長あたりの質量も α -ヘリックスのそれよりも 30% も小さく、この結果は光散乱の研究^{48a)} と一致すると述べた。しかし続報^{40b)} でさらに精密な測定を行ない、濃度 c を 0 に外挿した結果、PBLG は溶液中で α -ヘリックスを形成していると述べている。また Brady⁴⁹⁾ はポリ-3,5-ジブromタイロンを用いて X 線の広角散乱の研究を行なったが、これは熱運動を伴う Br-Br 間の相対位置とその X 線散乱への寄与とをモデルによって考察し、ヘリックス-コイル転移でその寄与が消失することを測定によって示した。溶液中で β 構造を形成しているといわれている系についての X 線散乱の研究は、まだなされていないようである。

6-2. DNA と RNA など

X 線小角散乱の解析よりみると DNA は長く伸びた棒状粒子であるが、分子量が $10^7 \sim 10^8$ と大きく、このため粒子全体についての知見を得るのに θ を極端に小さくする必要がある。したがって断面積についての知見よりその形状を推定する。Luzzati^{50), 51)} の研究結果によると、DNA の Na 塩の 15~60% の水溶液はゲルを形成

A/C は単位長あたりの電子数(質量)に相当する
第 11 図 ポリ A の pH による構造の変化⁵⁶⁾

するが、このゲルは液晶であって二次元格子上に棒をヘキサゴナルに等間隔に配列したものである。DNA の濃度と格子の大きさより求めた単位長あたりの質量は、その濃度や塩濃度によらず一定で Watson ら⁵²⁾のモデルと一致する。1~6% の様な DNA 希薄溶液で単位長あたりの質量、棒のまわりの回転半径を求めると、液晶中と同じく Watson らの値とほぼ一致する。NaCl, NaBr を加えて電子密度を変えて水和を求めると DNA の質量の約 70% が水の層となって DNA に結合し、この結合水がイオンの侵入を妨げている。Kratky ら⁹⁾ も同じく DNA の一段と薄い水溶液 (0.1~0.2%) で実験を行ない、軸のまわりの回転半径として $R_g = 8.4 \text{ \AA}$ を得た。またこの値は DNA を抽出した物質によらず同じであって、Watson らのモデルが妥当であるとしている。最近 Kirste⁵³⁾ は一段と小角の部分の散乱強度を測定したが、それによると棒状より屈曲性の形態へと変わって行くようである。

次に RNA の研究をみてみよう。流体力学的測定では DNA が剛体的棒状であるのに反し RNA はむしろ屈曲性のある鎖状高分子である。紫外吸収では両方とも同じ二次構造を示す⁵⁴⁾。RNA の構造はこのように測定方法によって異なる知見を得るが、3°C における 1~4% の溶液の X 線散乱の研究⁵⁵⁾では RNA は棒状のセグメントの両端を順次結んだごくわずかの屈曲性を示す構造であって、棒状セグメントの単位長あたりの質量棒のまわりの回転半径は DNA と同じであって二重ラセンの構造をとっていることを示唆している。このセグメントの長さは 100~150 Å であって、棒状の部分は全体の 90% を占めていて無秩序の部分は少ない。この結果 RNA は全体として密な形態をとっていると考えられる。ポリアデニル酸 (ポリ A) の溶液 (C: 0.56~2.15%, pH: 5~7.2) の研究⁵⁶⁾ではポリマーは棒状を示しているが、pH 6 の近傍で構造に転移を生ずる。測定結果は第 11 図に

U スリット, カバーはとってある (理学電機製)

示されているが、酸の方では Rich, Davies, Crick, Watson⁵⁷⁾ による配向した繊維で見られる二重ラセン構造のものと類似しており、塩基側では単位長あたりの質量は DNA のその約 1/2 である。ポリ A の構造として pH 6 の両側でともに垂直に塩基を積重ね、その一對の間には水素結合以外の結合をもっていると考えられている。ポリウリジル酸 (ポリ U) は 3°C で測定⁵⁸⁾されているが、ポリ A の塩基側と同じ構造をしているが屈曲性も示すと推定している。

7. 測 定

溶液の X 線散乱強度の測定は普通の X 線小角散乱測定と大きな違いはない。用いられている X 線発生装置としてはきわめて精度の高い密閉管型を使用している所^{57f)}と強力な回転対陰極型を使用している所²⁸⁾とがある。またスリット系、単色化の方法、記録などについてもいくつかある。スリットには幅がきわめて狭く高さが大きいものやピンホールスリット系²⁰⁾などがあるがきわめて小角を測定するために特別に開発された U スリット^{8), 58)}がある。これによると約 16,000 Å の大きさまで測定⁵⁹⁾できる。単色化については結晶を用いる方法^{50), 51), 55)}とバランスフィルターの方法⁶⁰⁾とがあるが、まだ確立された方法がないようである。

いずれにしても溶液の X 線小角散乱強度の測定は構造解析より一段と精度高く要求される。散乱強度の絶対測定に便利な標準ポリエチレンもある⁶¹⁾。完全な装置はまだないが、ほぼ満足できる装置は入手でき、また研究方法も一応確立されている。わが国でのこの方面の研究はまだ始まったばかりの状態であるが、海外での、特に欧州での研究は精力的に行なわれており、Kratky の解説論文にある参考論文は 200 編以上を数えることができ、またドイツの U スリットのカタログにはすでに 200 台以上各国に納入したと実績を誇っている。これらはすべて溶液の研究に使われているとは思われないが、高分子溶液の研究でも光散乱同様広く用いられるときが来るであろう。

以上不十分ではあるが解説を終る。幸にしてX線散乱については良書が多く、また同じ課題の解説論文もいくつかあるが、そのうち生体高分子関係では文献9)の参考論文を、鎖状高分子関係では11), 37a)の参考論文を参照されるようつけ加えておく。

文 献

- 1a) A. Peterline: *J. Polymer Sci.*, **47**, 403 (1960)
- b) C. Loucheux, G. Weil, H. Benoit: *J. Chem. Phys.*, **55**, 540 (1958)
- c) H. Benoit, M. Goldstein: *J. Chem. Phys.*, **21**, 947 (1953); A. Ishihara: *J. Chem. Phys.*, **40**, 1137 (1964)
- d) 三宅康博, 中田允夫, 和泉義信: 日本物理学会 23 回年会 (1968); 第 17 回高分子討論会 (1968)
- 2) たとえば O. Kratky: *J. Polymer Sci.*, **3**, 195 (1948) およびこの引用文献
- 3) たとえば G. Porod: *Fortschr. Hochpolymeren-Forsch.*, **Bd2**, 263 (1961); R. Hoseman: *Polymer*, **3**, 349 (1962)
- 4) G. Oster: *Rec. trav. chim.*, **68**, 1123 (1949); 斎藤信彦: 高分子物理学 (改訂版) p.16. 裳華房
- 5) 角戸正夫: 生物物理, **8**, 22 (1968); 和田英一: 蛋白質核酸酵素, **13**, 751 (1968); 角戸正夫, 笠井暢民: 高分子X線回折, (1968) 丸善; 和田英一, 岡野光治: 生物物理学講座 5, p. 209, 三宅康博: 高分子工学講座 4, p.259
- 6) 仁田 勇編: X線結晶学, 下, 丸善
- 7) S. Heine: *Makromol. Chem.*, **71**, 86 (1964)
- 8) O. Kratky: *Z. Electrochem.*, **58**, 49 (1954)
- 9) O. Kratky: *Progress in Biophysics*, **13**, 105 (1963)
- 10) *Die physik der Hochpolymeren*, **Bd2**, 513
- 11) O. Kratky: *Pure & Appl. Chem.*, **12**, 483 (1966)
- 12) A. Guinier: *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.*, **204**, 1115 (1937)
- 13) G. Porod: *Kolloid Z.*, **124**, 83; **125**, 51 (1951)
- 14) C. Tanford: *Physical Chemistry of Macromolecules*, p.306 John Wiley & Sons, Inc.
- 15) O. Kratky, G. Porod: *Acta Physica Austriaca*, **2**, 133 (1948)
- 16) G. Porod: *Acta Physica Austriaca*, **2**, 255 (1948)
- 17) M.E. Reichmanns: *Can. J. Chem.*, **37**, 489 (1959); P. Doty, R.F. Steiner: *J. Chem. Phys.*, **18**, 1211 (1950); A. Holtzer: *J. Polymer Sci.*, **17**, 432 (1955); E.O. Casassa: *J. Chem. Phys.*, **23**, 596 (1955)
- 18) O. Kratky, G. Porod, A. Sekora, B. Paletta: *J. Polymer Sci.*, **16**, 163 (1955)
- 19) たとえば斎藤信彦: 高分子物理学, 185
- 20a) R. G. Kirste, W. Wunderlich: *Polymer Letters*, **3**, 851 (1965)
- b) R. G. Kirste, W. Wunderlich: *Z. Phys. Chem. N.F.*, **58**, 133 (1968)
- 21) O. Kratky: *Ang. Chem.*, **72**, 467 (1960)
- 22a) V. Luzzati, J. Witz, A. Nicolaeff: *J. Mol. Biol.*, **3**, 367 (1961)
- b) V. Luzzati: *X-ray Optics and X-Ray Microanalysis*, 133 ed. H. H. Pattee, V.E. Cosslett, A. Engström, Academic Press
- 23) J.W. Anderegg, P.H. Geil, W.W. Beeman, P. Kaesberg: *Biophys. J.*, **1**, 657 (1961)
- 24) P. Debye: *J. Phys. & Colloid-Chem.*, **51**, 18 (1947)
- 25) O. Kratky, W. Krentz: *Z. Electrochem.*, **64**, 880 (1960)
- 26) A.G. Malmon: *Biochim. Biophys. Acta*, **26**, 233 (1957)
- 27a) O. Kratky, G. Porod: *Rec. Trav. Chim.*, **68**, 1106 (1949)
- b) A. Peterlin: *J. Polymer Sci.*, **10**, 425 (1953)
- 28) B.H. Zimm: *J. Chem. Phys.*, **16**, 1093 (1948)
- 29) H. Benoit: *J. Polymer Sci.*, **11**, 507 (1953); H. Benoit, A.M. Holtzer, P. Doty: *J. Phys. Chem.*, **58**, 624 (1954)
- 30) G. Porod: *Monatsch. Chem.*, **80**, 251 (1949)
- 31) G. Porod: *J. Polymer Sci.*, **10**, 157 (1953)
- 32) S. Heine, O. Kratky, J. Roppert: *Makromol. Chem.*, **56**, 150 (1962)
- 33a) A. Peterline: *J. Chem. Phys.*, **23**, 2464 (1955)
- b) A.J. Hyde, J.H. Ryan, F. T. Wall: *J. Polymer Sci.*, **33**, 129 (1958)
- 34) R. Koyama: *J. Phys. Soc. Japan*, **26**, 493 (1969)
- 35) S. Heine: *Makromol. Chem.*, **71**, 86 (1964)
- 36) O. Kratky, H. Sembach: *Makromol. Chem.*, **18/19**, 463 (1956)
- 37a) Brumberger Ed.: *Small-Angle X-Ray Scattering*, 33, Gordon & Breach
- b) R.G. Kirste, O. Kratky: *Z. Phys. Chem. N.F.*, **31**, 363 (1962)
- c) R.G. Kirste: *Z. Phys. Chem. N.F.*, **36**, 265 (1963)
- d) R.G. Kirste: *Z. Phys. Chem. N.F.*, **42**, 351

- (1964)
- e) R.G. Kirste: *Z. Phys. Chem. N.F.*, **42**, 358 (1964)
- f) W. Wunderlich, R.G. Kirste: *Ber. Bunsen. Phys. Chem.*, **68**, 648 (1964)
- g) R.G. Kirste, W. Wunderlich: *Makromol. Chem.*, **73**, 240 (1964)
- h) R.G. Kirste: *Makromol. Chem.*, **101**, 91 (1967)
- 38) J.D. Stroupe, R.E. Hughes: *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 2341 (1958)
- 39) E. Wada, K. Okano: *Repts. Progr. Polymer Phys. Japan*, **6**, 1 (1963); **7**, 19 (1964); **8**, 15 (1965)
- 40 a) V. Luzzati, M. Cesari, G. Spach, F. Masson, J.M. Vincent: *J. Mol. Biol.*, **3**, 566 (1961)
- b) P. Saludjian, V. Luzzati: *J. Mol. Biol.*, **15**, 681 (1966)
- 41) G.W. Brady, R. Salovey: *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 3499 (1964)
- 42) R.G. Kirste, G. Wild: *Makromol. Chem.*, **121**, 174 (1969)
- 43) E.F. Casassa: *J. Chem. Phys.*, **31**, 800 (1959)
- 44) B. Chu: *J. Chem. Phys.*, **42**, 426 (1965)
- 45) P. Debye: *J. Chem. Phys.*, **31**, 680 (1964)
- 46) P. Debye, H. Coll, D. Woermann: *J. Chem. Phys.*, **32**, 939; **33**, 1746 (1960)
- 47) P. Doty, A. Wada, J.T. Yang: *J. Polymer Sci.*, **23**, 851 (1957); P. Doty, J.H. Bradbury, A.M. Holtzer: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 947 (1956)
- 48 a) P. Moha, G. Weil, H. Benoit: *J. Chem. Phys.*, **61**, 1239 (1964)
- b) B.R. Jennings, H.G. Jerrand: *J. Phys. Chem.*, **69**, 2817 (1965)
- c) H. Fujita, A. Teramoto, K. Okita, T. Yamashita, S. Ikeda: *Biopolymers*, **4**, 769 (1966)
- 49 a) G. W. Brady, R. Salovey, J.M. Reddy: *Biopolymers*, **3**, 573 (1965)
- b) G.W. Brady, R. Salovey: *Biopolymers*, **5**, 331 (1967)
- 50) V. Luzzati: *Acta Cryst.*, **13**, 939 (1960)
- 51) V. Luzzati, A. Nicolaieff: *J. Mol. Biol.*, **1**, 127 (1959); V. Luzzati, A. Nicolaieff, F. Masson: *J. Mol. Biol.*, **3**, 185 (1961)
- 52) M.H.F. Wilkins, A.R. Stokes, H.R. Wilson: *Nature*, **171**, 738 (1953); J.D. Watson, F.H. C. Crick: *Nature*, **171**, 734, 964 (1953); *Proc. Roy. Soc.*, **A 223**, 80 (1954)
- 53) R.G. Kirste, R.C. Oberthür: *Makromol. Chem.*, **127**, 301 (1969)
- 54) J.S. Coeter, R.A. Brown: *Science*, **124**, 1077 (1956); V.Z. Littau, H. Eisenberg: *Biochim. Biophys. Acta.*, **32**, 320 (1959); A.S. Spirin: *J. Mol. Biol.*, **2**, 436 (1960); H. Boedker: *J. Mol. Biol.*, **2**, 171 (1960)
- 55 a) S.N. Timasheff, J. Witz, V. Luzzati: *Biophys. J.*, **1**, 525 (1961)
- b) J. Witz, L. Hirth, V. Luzzati: *J. Mol. Biol.*, **11**, 613 (1965)
- 56) J. Witz, V. Luzzati: *J. Mol. Biol.*, **11**, 620 (1965)
- 57) A. Rich, D.R. Davies, F.H.C. Crick, J.D. Watson: *J. Mol. Biol.*, **3**, 71 (1961)
- 58) O. Kratky: *Z. Electrochem.*, **62**, 66 (1958)
- 59) S. Kratky, K. Schuazkopf-Schier: *Mh. Chem.*, **94**, 714 (1963)
- 60) S. Heine, O. Kratky, G. Porod, P.J. Schnitz: *Makromol. Chem.*, **44~46**, 682 (1961); O. Kratky: *Nachrichten der Akademie der Wissenschaften in Gottingen*, II. Mathematisch-physikalische Klasse, Richard-Zsigmondy-Symposium, No. 6 (1966)
- 61) O. Kratky, I. Pilz, P.J. Schmitz: *J. Colloid Int Scien.*, **21**, 24 (1966)