脂質二分子膜を介したイオン移動反応 - イオン移動ボルタンメトリーに立脚した理解 -

白井 理*, 吉田裕美†, 木原壮林††

Ion Transport across a Bilayer Lipid Membrane
- An Interpretation Based on Ion Transfer Voltammetry -

Osamu SHIRAI*, Yumi YOSHIDA† and Sorin KIHARA††

Received August 28, 1998; Accepted September 10, 1998

The electrochemical studies on the ion transport from one aqueous (W1) to another (W2) across a bilayer lipid membrane (BLM) are reviewed. The membrane transport includes ion transfers at W1/BLM and BLM/W2 interfaces and diffusion of ions within the BLM. The membrane potential, hitherto, has been treated as the resultant of the interfacial potentials represented by Donnan potential and the diffusion potential expressed by Henderson or Goldman equations. In case of evaluation of the characteristics of ion permeation, diffusion process has been regarded as significant. The authors found based on the voltammogram for ion transport through a membrane, however, that various phenomena observed with the ion transport were elucidated by taking into account the conjugated ion transfers at W1/BLM and BLM/W2 interfaces. The relation between the shapes of voltammograms and properties of added ions, coexisting ions and lipids composing BLMs was also clarified.

1 緒言

膜を介した2水相間でのイオン移動は、神経伝達、呼吸、代謝など生体内反応の基礎であり、また、センシングなどの分析法にも活用されている。したがって、膜系でのイオン透過過程の正確な把握は、生化学

や分析化学の発展に不可欠である。

イオンが膜 (M) を介して一方の水相 (W1) から他方 (W2) へ透過するとき、イオンは、W1、M、W2の3相とW1/M、M/W2の2界面を横切る。したがって、イオンの膜透過に関わる現象の解明にあたっては、これらの相および界面でのイオン移動反応を正確に把握しておかなければならない。

従来の多くの研究報告や教科書では、イオンの膜透過は膜内部でのイオン輸送によって律速されるとされ、イオン透過機構と密接に関わる膜電位は、Goldman 式 (Goldman-Hodgkin-Katz 式) や Henderson 式のように、膜内でのイオン輸送過程に支配される拡散電位を基調として表現されてきた¹⁻⁵⁾。しかし、イオンの物性と膜透過の選択性との関係や、膜透過に及ぼす共存イオンの影響を膜内でのイオン輸送過程のみによって理解することは困難であり、水相/

日本原子力研究所大洗研究所 (〒311-1394 茨城県東茨城郡大洗町) Department of Nuclear Energy System, Japan Atomic Energy Research Institute (Oarai-machi, Higashiibaraki-gun, Ibaraki-ken 311-1394, Japan)

† 日本原子力研究所東海研究所 (〒311-1195 茨城県那珂郡東海村) Advanced Science Research Center, Japan Atomic Energy Research Institute (Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 311-1195, Japan)

†† 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科 (〒606-8585 京都府京都市左京区松ヶ崎) Department of Chemistry, Kyoto Institute of Technology (Sakyo-ku, Kyoto 606-8585, Japan)

Keywords; Voltammetry; Ion transport; Bilayer lipid membrane; Liquid membrane; Hydrophobicity

膜相界面でのイオン移動反応の寄与も大きいと考えられる。一方、主に脂質とタンパク質から構成されている生体膜での選択的なイオン透過は、イオンチャネルやゲートなどを形成するタンパク質の働きを仮定して解釈されているが^{1,2,6)}、タンパク質などを含まない脂質のみで形成された膜、脂質二分子膜 (BLM)、においてもイオン透過が選択的であることが知られている^{1,7)}。

BLM は、 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- などの親水性イオンの膜透過においては障壁として働くが^{8,9)}、疎水性イオンの場合には、その水相中濃度が希薄 ($10^{-6} \sim 10^{-8}$ M) であっても容易に BLM を透過することが報告されている¹⁰⁻¹²⁾。

BLM を介したイオン移動は、液液界面でのイオン移動に次の二点で類似している。i) 異種イオンの移動特性の差³⁾と ii) イオン移動速度定数と液液界面でのイオン移動速度定数について¹⁴⁾である。しかし、イオン透過を実現させるための水相/有機相界面電位と BLM や有機液膜での膜電位とは大きく異なり、また、液液界面でのイオン移動を示す界面電位差-イオン移動電流曲線 (液液界面イオン移動ボルタモグラム) と膜での膜電位-膜電流曲線 (膜透過イオン移動ボルタモグラム) も大きく異なるなどの相違点がある。そこで、Koryta らは、2 つの界面を持つ有機液膜でのイオン透過と液液界面でのイオン移動とを関係付けようと試みたが、定量的な関係を見出すには至っていない¹⁵⁾。一方、著者らは、有機液膜中に電極を挿入し、イオンの膜透過反応と 2 つの水相/膜界面でのイオン移動反応を同時に計測し、イオンの膜透過反応と水相/膜界面でのイオン移動反応の関係を実験的に解明した^{16,17)}。その結果、膜が十分な電解質を含むときには、膜透過反応は 2 つの界面でのイオン移動反応を組み合わせたものであることが分かった。また、BLM などの超薄膜でのイオン透過過程も大筋に置いて液膜でのそれに類似していることも明らかにしている^{17,18)}。この結果は、Girault らによって追試され支持されている¹⁹⁾。なお、同様な考え方で Horváth と

Horvai も PVC 膜でのイオン透過を扱っている²⁰⁾。

本総説では、イオンの膜透過反応の研究の歴史を辿り、膜電位と膜透過反応の従来の考え方を総説するとともに著者らの研究成果を紹介する。

2 膜透過反応の電気化学的研究

イオンの膜透過反応の電気化学的研究の大部分は膜電位に関わるものであり、膜電位は、Fig. 1 に示すようにイオンの水相/膜界面でのイオン移動反応と膜内でのイオンの輸送を反映すると考えられてきた。

本章では、膜内での輸送過程が膜電位決定の主要因とする従来の研究とその問題点を概説する。一つはイオンの単純拡散を想定して膜電位を表現しようとするものであり、他は膜内サイトとイオンの結合の速度によって膜内輸送が支配されるとして膜電位を表現しようとするものである。

Fig. 1 Potential profile in membrane system

2.1 界面電位と拡散電位

2.1.1 界面電位

水相/膜界面での界面電位差は、Donnan 電位でしばしば表現されてきた^{21,22)}。すなわち、イオン交換膜のような固定電荷を持つ膜でのカチオンによって決定される界面電位差 ($\Delta\phi$) は、膜内の固定電荷密度 (X) と副イオンおよび対イオンの水相中の濃度

(C_o)、カチオンの分配比 (k_+) とカチオンの膜相中の活量係数 (γ_+) によって決定されると考えられ、次式のように表されている(水相中のイオンの活量係数は 1 とする)。

$$\Delta\phi_{Don}(w_1 \rightarrow M) = -\frac{RT}{F} \ln \frac{\gamma_+}{k_+ C_o} \left[\sqrt{\left(\frac{X}{2}\right)^2 + C_o^2} + \frac{X}{2} \right] \quad (1)$$

ここで、 k_+ は水相および膜相でのカチオンの標準化学ポテンシャル (μ_{+w}^0 , μ_{+M}^0) を用いて、 $\exp\{-(\mu_{+M}^0 - \mu_{+w}^0)/RT\}$ と表される。

固定電荷密度がイオン濃度より高い場合、膜電位は二つの界面での Donnan 電位のとで表される。なお、膜電位や膜電流が外部より印加された場合には、各々の界面でも平衡からずれると考えられるが、現状ではその評価は行われていない。

2.2.2 拡散電位

イオンのような荷電粒子が電位勾配のもとで拡散によって膜相を横切って移動するとき、その流速 (J_i) は次の Nernst-Planck 式によって表される²¹⁻²⁴⁾。

$$J_i = -u_i c_i \left[RT \left(\frac{d \ln c_i}{dx} \right) + z_i F \left(\frac{d\phi}{dx} \right) \right] \quad (2)$$

この式は、膜の中の成分 i の濃度が c_i 、移動度が u_i 、膜内の電位勾配が ϕ である場合の成分 i の膜内での流速を表す。式 (2) の両辺に積分因子 $\exp(z_i F \phi / RT)$ をかけて、 J_i が一定 (定常状態) で、拡散係数 D_i ($D_i = RTu_i$) が膜内で一定であるという条件を入れると、膜の厚さ全体にわたって積分が可能となり、次式を得る (粒子の位置 x は 1 から 2 までとし、 c_i および ϕ の上付は位置を意味する)。

$$J_i \int_1^2 \exp\left(\frac{z_i F \phi}{RT}\right) dx = -D_i \left[c_i^2 \exp\left(\frac{z_i F \Delta\phi}{RT}\right) - c_i^1 \right] \quad (3)$$

ここで $\Delta\phi = \phi^2 - \phi^1$ である。これを積分形の Nernst-Planck の式ともいう。但し、式 (3) は左辺に積分項を含んでいるため完全な解ではない。この積分を解くには、 ϕ が x のどのような関数であるかが決定されなければならない。そこで、膜内の電位勾配が一定という条件で解いたものが Goldman 式であり^{3,4)}、膜内のイオンの濃度勾配が一定であると仮定して解いたものが Henderson 式である⁵⁾。なお、膜表面のイオン濃度が同じであれば、Henderson 式で表現される膜電位も Goldman 式でのそれとほぼ同じ値を示す²⁴⁾。

2.2.3 膜電位と膜透過

式 (4) で表現される Goldman-Hodgkin-Katz 式は生体膜 (BLM を含む) を介した細胞内外の電位差とイオン透過選択性の関係を説明する際によく利用されるが、Donnan 平衡電位で表現した界面電位と膜内の電位勾配が一定とした Goldman 式で表現される膜内拡散電位を組み合わせたものである^{21,23,24)}。

$$E = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{\sum_c P_+ c_+^1 + \sum_a P_- c_-^2}{\sum_c P_+ c_+^2 + \sum_a P_- c_-^1} \right) \quad (4)$$

ここで、 P はイオンの透過係数、 c はイオン濃度である。上付きの 1 は膜の外側、2 は膜の内側を表す。イオンの電荷は全て一価としている。また、 Σ は移動量の和を意味し、下付の a および c はそれぞれアニオンおよびカチオンを指す。生体膜では透過性を持つ主なイオンは K^+ , Na^+ , Cl^- である²¹から、式 (4) は、

$$E = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_{Na} c_{Na}^1 + P_K c_K^1 + P_{Cl} c_{Cl}^2}{P_{Na} c_{Na}^2 + P_K c_K^2 + P_{Cl} c_{Cl}^1} \right) \quad (5)$$

となる。

各イオンの透過係数はイオンチャネルの開閉によって変化する。したがって、膜電

位は別の電位決定イオンの両水相間の濃度比を反映した単純な Nernst 式と同様になる。なお、透過係数 P_i は次式で表される。

$$P_i = \frac{D_i}{\Delta x} = \frac{RTu\beta_i}{\Delta x} \quad (6)$$

ここで、 β_i は成分 i の分配比、 Δx は膜厚である。電位依存性イオンチャネルなど印加電位に応じた P_i の変化は、現在のところ、単にチャネル開孔時のチャネルの孔径とイオンの大きさの関係のみで議論されている。

上記の取扱いでは、水相/膜界面の電位差は常に一定であり、しかも2つの界面で生ずる電位差は逆向きであるため、互いに打ち消し合って界面電位差を表わす項は見掛け上消失する。したがって、膜電位を印加した場合でも、二つの水相/膜界面では常に平衡状態であり界面電位差は変化せず、膜内拡散による輸送反応が変化すると見なすことになる。

なお、Teorell あるいは Meyer と Sievers は、固定電荷膜を用いた場合の膜電位を、界面電位として Donnan 平衡電位、膜内拡散電位として膜内でのイオン濃度勾配が一定として解いた Henderson 式を用いて表現している^{22,23)}。これも、Goldman-Hodgkin-Katz 式で表される膜電位と同様に、膜内拡散を重視した解釈である。

一方、著者らは、液膜を介したイオン透過反応のボルタモグラムの解析から、膜中に十分な電解質が存在する場合は2つの水相/膜界面でのイオン移動反応を組み合わせることによって容易に解析できることを報告している^{16,17)}。また、吉田らは、液膜型イオン選択性電極において、イオンの選択性は界面イオン移動反応で決定されると仮定し、電位発生機構や共存イオンの働きを定量的に解明している²⁵⁾。

2.2 反応速度論を考慮した膜透過

膜電位の解釈には、2.1 で述べた単純拡散理論だけでなく、反応速度論も適用されている^{23,26,26)}。

生体膜や BLM を構成する脂質の表面はしばしば負電荷を帯びている。また、疎水性基と親水性基の間にあるカルボニル基や水酸基によって電荷の偏りが生じるため、界面近傍にはイオンの吸着部位が存在する。そこで、2 つの水相/膜界面の近傍にある吸着部位間での交換反応（このとき拡散粒子が膜内の通路のどこかで相互に干渉し合う）によって膜電位を説明しようと試みられている。

Fig. 2 Energy distribution of the non-continuous diffusion model in the membrane phase

一般的には、膜を介して W1 側から W2 側に至るまでに、膜内にいくつかのポテンシャルエネルギーの障壁が直列に並んでいる、すなわち、エネルギーレベルでみるとピークと谷が交互に並んでいるとする (Fig. 2 参照)。粒子が膜内を移動して行くには、これらの障壁を越えてゆかねばならないが、その速度は Boltzmann の分布則から導かれる。粒子が j 谷から jk ピークを越えて k 谷に進む時の速度定数 (k_{jk}) は

$$k_{jk} = K \left(\frac{kT}{h} \right) \exp \left(\frac{-\Delta G_{jk}}{RT} \right) \quad (7)$$

で表される。この式で、 ΔG_{jk} は j 谷から jk

ピークまで達するのに必要最小限のエネルギーであり、 k は Boltzmann 定数、 h は Planck 定数である。 K は透過係数といわれ、ピークに達した粒子が k 谷に進む確率であり、ほとんどの場合は 1 に等しい。

式 (7) を、 i 成分が膜を透過して W1 側の溶液から W2 側の溶液へ出ていくという単純な二重障壁モデルに適用すると、W1 側の溶液から膜内へ向かう i 成分の流れの速度定数は次式で表される。

$$v_i^{1m} = k_{1m} c_i^1 \lambda - k_{m1} c_i^m \lambda \quad (8)$$

ここで、 λ はピーク間の距離、 c_i^1 は W1 側の溶液中の i 成分の濃度、 c_i^m は膜内の i 成分の濃度である。同様に i 成分が膜内から W2 側の溶液へ出ていく速度は

$$v_i^{m2} = k_{m2} c_i^m \lambda - k_{2m} c_i^2 \lambda \quad (9)$$

と表される。ここで、 c_i^2 は W2 側の溶液中の i 成分の濃度である。W1 側の溶液から W2 側の溶液への i 成分の拡散が定常状態に達したときは、 c_i^m は一定になるので $v_i^{1m} = v_i^{m2} = J_i$ となる。また、膜内の二つの障壁のピークが同じ高さの場合は、 $k_{1m} = k_{m1}$ 、 $k_{m1} = k_{m2}$ であるので流速は以下の式で表される。

$$J_i = \left(\frac{k_{1m} \lambda}{2} \right) (c_i^1 - c_i^2) \quad (10)$$

ここで述べた理論は、反応速度論によるアプローチの一例であるが、膜内の微細構造と透過粒子との関係を考慮しながら解析する際に有効であると考えられ、疎水性イオンの脂質二分子膜透過反応の解析やイオンチャネルによる透過反応の解析などに適用されている^{6,23,26,27}。

なお、膜が無限に多くの連続したエネルギー障壁を持っている場合には、速度論による解析も Nernst-Planck 式から誘導する式と類似したものになり、さらに、それらの

エネルギー障壁の高さが全て等しいとすると Goldman-Hodgkin-Katz 式を導くこともできる²³。

3 イオン移動ボルタンメトリーによる膜透過反応の解析

過去 20 年間に急速に進歩した液液界面イオン移動ボルタンメトリー (Voltammetry for Ion Transfer at the Interface between Two Immiscible Electrolyte Solutions: VITIES) は、水相/有機相界面でのイオン移動反応を界面電位差 (界面イオン移動エネルギーに相当) と電流 (イオン移動量に相当) の関係曲線として観測する手法である^{28,32}。同法によれば、単イオンの界面移動を共存イオンのそれと区別して正確に評価でき、イオン移動反応の動的な理解も可能であるので、イオンの定量分析、イオノホアや界面活性剤とイオンの錯形成によって促進あるいは阻害されたイオン移動の理解、界面構造およびそれへの界面吸着剤の影響の解析、イオンと溶媒の相互作用の見積り、界面電位差の振動機構の解明および溶媒抽出機構についての研究などの広い分野で応用されている。

一方、ボルタンメトリー的な手法と概念はイオンの膜透過反応の解析にも有用と考えられ、外部より印加した膜電位を走査しながら、イオンの膜透過によって生じる電流 (膜電流) を測定して得られた膜電位-膜電流曲線 (膜透過ボルタモグラム) に立脚して、イオンの膜透過特性を把握しようとした研究も多い^{15,33,34}。しかし、イオンが膜 (M) を介して一方の水相 (W1) から他方 (W2) へ移動するとき、イオンは 2 つの水相/膜界面 (W1/M、W2/M) と膜相を横切る。膜透過ボルタモグラムはこれらの界面および相でのイオン移動反応の総合によって生じることになり、その解析は容易でなく、膜透過ボルタモグラムのみから結論的で有用な情報を引き出すのは困難である。

著者らは、膜透過ボルタモグラムの活用のためには、2 界面および膜中でのイオン移動反応の各々と膜透過ボルタモグラムと

の関係の定量的な理解が重要であると考え、有機液膜を用いて、膜透過ボルタモグラムと 2 界面での界面イオン移動ボルタモグラムを同時に測定し、その比較を行った^{16,17)}。

本章では、ボルタモグラムに立脚したイオンの膜透過反応の解析結果と、それに基づいた脂質二分子膜を介したイオン透過機構の解釈について述べる。

3.1 イオンの膜透過と界面移動の相関

著者らは、標記相関を明らかにするために、膜組成を任意に調製でき、膜内にも電極を容易に挿入し得る液膜系を採用し、基礎的検討を行った^{16, 17)}。ここで用いた膜系を式 (11) に示す。液膜としては、ニトロベンゼン溶液 (NB) を用い、厚さは 1 cm とした。2 水相 (W1, W2) には膜電位 (E_{w1-w2}) を印加するための参照電極 (RE1, RE2)、膜電流 (I_{w1-w2}) を測定するための対極 (CE1, CE2) が設置されている。また、膜 (M) 中界面近傍にも RE3, RE4 の 2 本の参照電極が設置されているが、これらは W1/M および M/W2 界面電位差 ($E_{w1/M}$, $E_{M/W2}$) の測定に用いられた。

$2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$	0.02 M	
K_2SO_4	DB18C6	
0.1 M	0.1 M	0.1 M (11)
MgSO_4	$\text{CV}^+ \cdot \text{TPhB}^-$	MgSO_4
[W1]	[NB-M]	[W2]

液膜を介したイオン透過ボルタモグラム (Voltammogram for Ion Transport Through a Membrane: VITTM と略す) は、 E_{w1-w2} を走査しながら I_{w1-w2} を測定することによって得た。一方、VITTM の測定中に $E_{w1/M}$, $E_{M/W2}$ の変化を I_{w1-w2} の関数としてモニターして界面でのイオン移動ボルタモグラムを得た。

Fig. 3 曲線 1, 2, 3 は、式 (11) のセル系で測定した VITTM と W1/M, M/W2 界面でのイオン移動ボルタモグラムである。

VITTM および W1/M 界面でのボルタモグラムには正および負のピークが生じ、M/W2 界面でのボルタモグラムにはピークは生じない。W1 が K_2SO_4 を含まない場合には、Fig. 3 曲線 1', 2', 3' で示すようにピークは生じない。各相中のイオン濃度を変えて測定した結果、曲線 2 の正の電流ピーク、最後上昇および最後下降は、それぞれ、dibenzo-18-crown-6 (DB18C6) によって促進された K^+ の W1 から M への移動、 TPhB^- の M から W1 への移動および Crystalviolet ion (CV^+) の M から W1 への移動によるもの、負電流ピークは、 E_{w1-w2} の正電位方向への走査によって M へ移動した K^+ が、 E_{w1-w2} の負電位方向への走査によって逆向きに移動するために生じたものの、曲線 3 の最後上昇および最後下降は、それぞれ CV^+ の M から W2 への移動および TPhB^- の M から W2 への移動によるものであることが分かった。

Fig. 3 Voltammograms for ion transfer across a liquid membrane, M, (curves 1 and 1'), at the W1/M interface (curves 2 and 2') and at the M/W2 interface (curves 3 and 3'). Compositions of W1, LM and W2; $2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$ K_2SO_4 and 0.1 M MgSO_4 in W1, 0.02 M DB18C6 and 0.1 M $\text{CV}^+ \cdot \text{TPhB}^-$ in LM, 0.1 M MgSO_4 in W2.

曲線 1 (VITTM) と 曲線 2 および 3 (W1/LM および LM/W2 界面でのイオン移動ボルタモグラム) を比較すると、VITTM は次の特徴を持つことが明らかである。i) 曲線 1 の電位窓は、曲線 2 あるいは 3 の電位窓の約 2 倍の広さである。ii) 曲線 1 に正および負のピークが現われる電位領域は、曲線 2 におけるそれとは異なる。iii) 曲線 1 の正、負のピーク、最後上昇、最後下降の傾きは、曲線 2 および 3 のそれらに比べて小さい。

曲線 1 で生じている反応を解明するために、W1/M および M/W2 界面を横切る電流は膜電流 (I_{W1-W2}) に等しいことを念頭において、曲線 1、2、3 で任意の I_{W1-W2} を与える電位差 (E_{W1-W2} , $E_{W1/M}$, $E_{M/W2}$) の関係を調べたところ、いかなる I_{W1-W2} においても式 (12) の関係が成立することを見いだした。

$$E_{W1-W2} = E_{W1/M} + E_{M/W2} + I_{W1-W2}R \quad (12)$$

ここで、 R は W1、M および W2 中の溶液抵抗の和であり、 $I_{W1-W2}R$ は系全体での電位降下である。しかし、通常は、膜抵抗に比べて水相中の抵抗は無視できるほど小さいので、 $I_{W1-W2}R$ は膜内でのイオンの拡散によって生じる電位降下と見なすことができる。W1、M、W2 の全てが高濃度のイオンを含む場合には、溶液抵抗は小さくなり、 $I_{W1-W2}R$ の E_{W1-W2} への寄与は無視できるので、式 (12) は式 (13) のように書き換えられる。

$$E_{W1-W2} = E_{W1/M} + E_{M/W2} \quad (13)$$

式 (13) は、膜系が十分な電解質を含むとき、膜電位は界面でのイオン移動反応に依存する 2 つの界面電位差によってほぼ決定されることを示唆する。なお、膜電位の議論でしばしば採用される Henderson 式あるいは Goldman 式 (Goldman-Hodgkin-Katz 式) などの膜電位を膜内の拡散電位で表す式で

は、結局のところ界面電位差を一定としており、界面電位差の重要性が十分に認識されていない。

式 (13) の関係に立脚すると、Fig. 3 の VITTM の特徴を、容易に理解できる。例えば、曲線 1 に A で示す E_{W1-W2} は、曲線 2 に B で示す $E_{W1/M}$ と曲線 3 に C で示す $E_{M/W2}$ を足し合わせたものであり、曲線 1 の正の電流ピークは、DB18C6 に促進された K^+ の W1 から M への移動 (曲線 2 の正の電流ピーク) と CV^+ の M から W2 への移動 (曲線 3 の最後上昇) が複合して生じたものであることが分かる。これが、曲線 1 の正の電流ピークの現れる電位差 (膜電位) 領域と曲線 2 のそれとは異なる理由である。同様に、曲線 1 の負の電流ピークは、 K^+ の M から W1 への移動 (曲線 2 の負の電流ピーク) と CV^+ の W2 から M への移動 (曲線 3 の負の電流ピーク) によって構成される。また、曲線 1 の最後上昇は、 $TPhB^-$ の M から W1 への移動 (曲線 2 の最後上昇) と CV^+ の M から W2 への移動 (曲線 3 の最後上昇) を含み、曲線 1 の最後下降は、 CV^+ の M から W1 への移動 (曲線 2 の最後下降) と $TPhB^-$ の M から W2 への移動 (曲線 3 の最後下降) を含む。このように、イオンの膜透過は W1/M、M/W2 界面でのイオン移動反応が式 (13) の関係によって複合されたものであるので VITTM は広い電位窓をもつことになる。曲線 1 における電流ピーク、最後上昇、最後下降の傾きが小さい理由のひとつは、膜抵抗 [式 (12) 中の R] によるオーム降下にある。しかし、これらの傾きは、膜抵抗の補正を行った後でも、曲線 2 および 3 のものよりゆるやかである。それは、曲線 1 における傾きが、式 (13) の関係によって曲線 2 の傾きと曲線 3 の傾きの和となるからである。

ここでは、膜透過における界面イオン移動反応の重要性のみをとりあげたが、通常分離などで使用される液膜や有機溶媒含浸膜などでは膜抵抗が大きく、膜内の電位降下が無視できない場合も多々ある。この

ような膜系で定膜電位電解を行うと、電解の進行にともなう電流の減少に連動して電位降下も減少するために、界面電位差が変化し、界面イオン移動反応も影響を受けることになる。

なお、Horváth と Horvai も、本研究と同様に、膜透過における界面反応の重要性を指摘している²⁰⁾。彼らは、支持電解質を含む PVC 膜を介した 2 水相間で測定した VITTM が移動イオンの濃度や各相のイオン組成を変えることにより変化する様子を基に界面イオン移動反応の役割を述べている。

以上のように、イオンの膜透過反応は、本質的に 2 つの水相/膜界面でのイオン移動反応によって制御される。このように考えると、例えば、次のような膜透過に及ぼす共存イオンの効果を容易に説明できる。

式 (11) の膜系で K^+ を $W1$ から $W2$ へ移動させるには $+0.5$ V (Fig. 3 曲線 1 のピーク電位) 程度の E_{W1-W2} を印加しなければならない。しかし、 $W2$ に 10^{-2} M $MgBr_2$ を添加すると、 $+0.3$ V 程度の E_{W1-W2} を印加しても、 K^+ は $W1$ から $W2$ へ移動する。これは、 $M/W2$ 界面でのイオン移動反応が CV^+ の M から $W2$ への移動に代わって、それより約 0.2 V 容易に生じる Br^- の $W2$ から M への移動となり、 $E_{M/W2}$ が約 0.2 V 減少するため、式 (13) の関係から E_{W1-W2} も約 0.2 V 減少することに起因する。

3.2 超薄膜 - 脂質二分子膜 - でのイオン透過反応

3.2.1 脂質二分子膜を介したイオン透過の研究

Dipicrylamine (DPA^-) や Tetraphenylborate ($TPhB^-$) などの疎水性イオンを BLM 系に添加した際に、2 水相間に電位差を印加するとイオン移動を示す電流が観察されることを Liberman と Topaly が報告して以来^{10,11)}、BLM を介したイオン移動反応に関する数多くのボルタンメトリ的な研究が疎水性イオン存在下で行われてきた。

Le Blanc や De Levie と Seidah は、ピーク

電流は疎水性イオンが希薄なときには、疎水性イオンの拡散に律速され、高濃度ときには、BLM 中に濃縮した疎水性イオンの電荷による反発によって規制されると考えている^{35,36)}。しかし、彼らのように疎水性イオンの W から BLM への移動による拡散電流とすると、水相中の疎水性イオン濃度から予想される電流値より大きくなりすぎて説明できない。そこで、Kutnik と Tien は、疎水性イオンが BLM へ自発的に濃縮すると仮定し、VITTM の解析に薄層電極の理論を適用した³⁷⁾ が、Bender と Tien が後に指摘しているように、この考えでは正および負電流のピーク間電位差は説明できるにしても、 E_{W1-W2} の走査速度に対するピーク電流の依存性を解釈できない^{38,39)}。また、Kutnik と Tien は、疎水的な色素イオンを添加した場合のボルタモグラムの波形を分類し、色素イオンの酸化還元による電子移動と色素イオンの移動のカップリングで説明しようとしている⁴⁰⁾。なお、これらのいずれの研究においても電流ピークに含まれる反応は添加した疎水性イオン自体の移動であると考えている。

3.2.2 液膜系と脂質二分子膜系でのイオン移動反応の比較

Fig. 4 曲線 1 は、式 (14) のような BLM 系において、 E_{W1-W2} を $-0.1 \sim +0.1$ V の電位領域で走査して記録したボルタモグラムである。用いた BLM は Phosphatidylcholine (PC) と Cholesterol (Ch) (1:1) によって構成されるもの (PC+Ch と略記) である。

$W1$ および $W2$ が 0.1 M $MgSO_4$ のみを含む系で測定した曲線 1 にはピークは観察されなかった。しかし、 $W1$ または $W2$ に 5×10^{-7} M の $Mg^{2+} \cdot (DPA^-)_2$ を添加した場合には、曲線 2 に示すように原点に対称な正および負のかかなり大きなピークが現わ

れた。ピーク電流は 5×10^{-8} から 2×10^{-5} M の範囲で DPA^- 濃度に比例したが、 2×10^{-5} M 以上では一定値に近づいた。また、水相中の MgSO_4 濃度を大きくするとピーク電流も増加した。水相中の電解質 MgSO_4 を K_2SO_4 や Na_2SO_4 に代えるとピーク電流は MgSO_4 の場合より大きくなった。また、ピーク電流は、0.01 から 0.1 V s^{-1} の範囲において、 $E_{\text{W1-W2}}$ の走査速度の平方根に比例した。一方、W1 または W2 に 10^{-6} M の DPA^- の代わりに 10^{-6} M の TPhB^- を添加したときには、曲線 3 に示すようにボルタモグラムの波形は同じであったがピーク波高は減少した。

Fig. 4 Voltammograms for ion transfer across a BLM composed of PC and Ch. Curve 1; 0.1 M MgSO_4 in both W1 and W2. Curves 2 and 3; as curve 1, but in the presence of 10^{-6} M DPA^- in W1 (curve 2) and 10^{-6} M TPhB^- in W1 (curve 3).

著者らは、BLM 系での大きなピーク電流を説明するために、著者らは、BLM 作製中およびボルタモグラム測定準備中に疎水性イオン DPA^- が対イオンとして Mg^{2+} を伴って BLM 中に自発的に濃縮 (10^{-3} M 程度まで) されたと仮定した。そこで、この BLM 系の組成と類似した組成を持つ式 (15) のような液膜系を作製し、

液膜系での VITTM (Fig. 5 曲線 1) を測定し、式 (14) の一方の水相に 10^{-6} M の DPA^- を添加した BLM 系で測定した VITTM (Fig. 4 曲線 2) とを比較した。液膜系では、 10^{-3} M の Mg^{2+} を Bisdiphenylphosphinylethane (BDPPE) 錯体として膜中に添加してある。

Fig. 5 曲線 1 は、原点に対称な正、負のピークを持ち、 $E_{\text{W1-W2}}$ が $-0.1 \sim +0.1 \text{ V}$ の部分は、Fig. 4 曲線 2 と類似している。これは BLM へ $\text{Mg}^{2+} \cdot (\text{DPA}^-)_2$ が自発的に濃縮するとした仮定が妥当であることを意味し、また、BLM 系で得られた電流ピークの成因となるイオン移動反応も液膜でのそれと類似していることを示す。すなわち、膜が十分な電解質を含む場合、BLM のような超薄膜を介したイオン移動反応でさえ、液膜のような厚い膜を介したそれと同様に、主として 2 つの水相/膜界面でのイオン移動反応によって決定されること、換言すれば、液膜系での VITTM に関する情報は、BLM 系での VITTM の解析にも極めて有用であることを示唆している。そこで、Fig. 5 曲線 1 に含まれるイオン移動反応を参照したところ、BLM 系での VITTM で観察された正電流ピークは Mg^{2+} の W1 から BLM への移動と BLM 中に DPA^- の対イオンとして分配された Mg^{2+} の BLM から W2 への移動により構成され、負電流ピークは Mg^{2+} の W2 から BLM への移動と BLM 中に分配された Mg^{2+} の BLM から W1 への移動により構成されていると推定された。

Fig. 5 Voltammograms the same as those in Fig. 3. Compositions of W1, LM and W2; 5×10^{-7} M $\text{Mg}^{2+} \cdot (\text{DPA}^-)_2$ and 0.1 M MgSO_4 in W1, 5×10^{-5} M $\text{Mg}^{2+} \cdot (\text{DPA}^-)_2$, 10^{-3} M BDPPE and 0.1 M $\text{CV}^+ \cdot \text{TPhB}^-$ in LM, 0.1 M MgSO_4 in W2.

この機構を採用すると、BLM の VITTM の特徴を容易に理解できる。i) VITTM の正電流および負電流のピークは、同じイオン移動反応を含むため、これらのピークは原点に対して互いに対称に現れる。ii) BLM 中の $\text{Mg}^{2+} \cdot (\text{DPA}^-)_2$ の濃度は Mg^{2+} と DPA^- の W/BLM 間での分配比によって決定され、ピーク電流の大きさは BLM 中の $\text{Mg}^{2+} \cdot (\text{DPA}^-)_2$ の濃度に支配されるので、結局、ピーク高は W 中の DPA^- 濃度に比例する。iii) K^+ や Na^+ は Mg^{2+} より疎水的であり、 Mg^{2+} より BLM への分配比が大きいので、 Mg^{2+} の代わりに K^+ や Na^+ を用いた場合には、ピーク高が大きくなる。

なお、従来、極微量の疎水性イオン添加時のイオンの BLM 透過反応は、疎水性イオンの BLM への濃縮と疎水性イオンの 2 水相間での移動によって説明されてきたが、この考え方では、イオン移動電流の大きさやボルタモグラムの波形が、添加した疎水性イオンの種類および濃度だけでなく共存する親水性イオンの種類および濃度に

も依存することを説明できない。

3.2.3 イオンの疎水性と脂質二分子膜透過特性

Table 1 に、各種イオンの水相から NB あるいは 1, 2-ジクロロエタン (DCE) への標準移行自由エネルギー (ΔG_{tr}^0) をまとめている。

Table 1 Standard Gibbs free energies for transfers, ΔG_{tr}^0 , of various ions from aqueous, W, to nitrobenzene, NB, or 1, 2-dichloroethane, DCE.

Ion	W/NB	W/DCE	Category
	$\Delta G_{tr}^0 / \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$\Delta G_{tr}^0 / \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	
DPA^-	-39.4		<i>b</i>
TPhB^-	-35.9	-35.1	<i>b</i>
Pic^-	-4.6		<i>d</i>
ClO_4^-	8.0	17.2	<i>a</i>
Br^-	28.4	38.5	<i>a</i>
Cl^-	31.4	46.4	<i>a</i>
SO_4^{2-}	>67.3		<i>a</i>
EV^+	<i>ca.</i> -44*		<i>b</i>
CV^+	-39.5		<i>b</i>
TPhAs^+	-35.9	-35.1	<i>c</i>
TPenA^+	-35.1	-34.7	<i>c</i>
TBA^+	-24.0	-21.8	<i>c</i>
TPrA^+	-10.0	-8.8	<i>a</i>
TEA^+	-5.7	4.2	<i>a</i>
TMA^+	3.4	17.6	<i>a</i>
K^+	23.4		<i>a</i>
Na^+	34.2		<i>a</i>
Mg^{2+}	69.6		<i>a</i>

* S. Kihara and O. Shirai, unpublished work

TBA^+ : tetrabutylammonium ion, TPrA^+ : tetrapropylammonium ion, TEA^+ : tetraethylammonium ion, TMA^+ : tetramethylammonium ion.

Table 2 Peak currents in voltammograms of type B observed with the BLM composed of PC-Ch.

Supporting electrolyte in W1 and W2	Peak current density / $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ Ion added in W1 (10^{-6} M)		
	DPA ⁻	TPhB ⁻	CV ⁺
0.1 M MgSO_4	0.20 $\pm$ 0.03	0.10 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.01
1 M MgSO_4	0.23 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.01
0.1 M K_2SO_4	0.60 $\pm$ 0.10	0.25 $\pm$ 0.03	0.04 $\pm$ 0.01
0.1 M Na_2SO_4	0.22 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.01
0.1 M MgBr_2	0.21 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.01
0.1 M MgCl_2	0.20 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.02	<i>ca.</i> 0
0.2 M KCl	0.62 $\pm$ 0.10	0.23 $\pm$ 0.03	<i>ca.</i> 0
0.2 M NaCl	0.19 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.02	<i>ca.</i> 0

この ΔG_{tr}^0 はイオンの親水性・疎水性の目安となる。前述のように、BLM でのイオン透過においては、添加イオンが対イオンと共に BLM 中に自発濃縮される過程が重要であるが、イオンの濃縮性は添加イオンおよび対イオンの疎水性度と濃度に依存する。以下、式 (15) の BLM 系の一方の水相 (W1) に疎水性の異なるイオンを添加して VITTM を測定した結果について考察する。

VITTM は添加イオンの疎水性および濃度を反映して異なったものとなり、以下の 4 つのタイプに分類できる。

タイプ A ; 水相が親水的な塩のみを含む場合

親水性のアニオンおよびカチオン (Table 1 に a を付記) よりなる塩のみを含む W1 および W2 を用いた場合の VITTM には、Fig. 4 曲線 1 のように、イオン移動を示すピークあるいは電流が現われない。 MgSO_4 の代わりに K_2SO_4 、 Na_2SO_4 、 MgCl_2 、KCl あるいは NaCl を W1 および W2 に加えた場合でも同様な VITTM であった。

W1、W2 が極めて親水性の高いイオンのみを含むので印加膜電位範囲 (-0.1 ~ +0.1 V) ではイオンの W から BLM への移動は生じないこと、また、これらのイオンは BLM 中に分配しにくいので、BLM はイオンをほとんど含まないので、印加膜電位が

オーム降下に費やされることが、イオン移動が観察されない理由である。

タイプ B ; 一方の水相 (W1) が微量の極めて疎水的なイオン含む場合

前述の DPA⁻ 添加時の VITTM (Fig. 4 曲線 2) が典型例であり、高濃度の親水性塩を含む 2 水相の一方 (W1) に、Table 1 で b を付記したイオンを添加した場合 (10^{-6} M 程度) に観察される。なお、両水相に疎水性イオンを添加したときには、同様な波形で、ピーク電流がやや大きい VITTM が得られた。

Table 2 には、W1 に 10^{-6} M の各種疎水性イオンを添加したときのピーク高をまとめている。親水性塩の種類・濃度が一定であれば添加イオンの疎水性が高いほど、添加した疎水性イオンの種類・濃度が一定であれば共存親水性イオン (対イオンとして BLM へ分配する) の親水性が低いほど、当該イオンと対イオンは膜へ高濃縮されるので、ピーク高も大きくなる。タイプ B の VITTM の発現機構については既に述べた。

タイプ C ; 一方の水相がかなり疎水的なイオンを含む場合

このタイプに属する VITTM は、2 水相 (高濃度の親水性塩を含む) の一方 (W1) に、Table 1 に c を付記したイオンを 10^{-4} ~ 10^{-3} M 程度添加した場合に得られ (例; Fig. 6 曲線 1)、正電流と負電流の大きさが

異なる。なお、同イオンを両水相に添加すれば原点に対称なボルタモグラムとなる (Fig. 6 曲線 2)。

タイプ C のイオン透過も、添加イオンが対イオン (共存する親水性イオン) と共に膜へ分配するために生じるが、添加イオンの疎水性が低いために、かなり高濃度のイオンを添加しないかぎり、膜中のイオン濃度は十分とならず、VITTM も観察されない。この場合、水相中に添加したイオンの濃度が高いために、添加イオンの水相から BLM への移動による電流も無視できなくなるので、対イオンの BLM から W1、W2 への移動による電流と添加イオンの W1 から BLM への移動による電流を併せたものが VITTM に観察されることになる。

Fig. 6 Voltammograms for ion transfer across a BLM composed of PC and Ch. Curve 1; 10^{-4} M TPenA⁺ in W1 and 0.1 M MgSO₄ in both W1 and W2. Curve 2; as curve 1, but in the presence of 10^{-4} M TPenA⁺ in W1 and W2.

式 (16) は、タイプ C の BLM 系の一例として、Tetrapentylammonium ion (TPenA⁺) を添加イオンとした場合を、NB 液膜系によって模擬したものである。NB-M には支持電解質 (0.1 M CV⁺ · TPhB⁻) を加えてある。

10^{-4} M	10^{-4} M	
TPenA ⁺	TPenA ⁺	
0.1 M	0.1 M	0.1 M (16)
MgSO ₄	CV ⁺ · TPhB ⁻	MgSO ₄
[W1]	[NB-M]	[W2]

Fig. 7 Voltammograms for ion transfer across a liquid membrane, LM, (curve 1), at the W1/LM interface (curve 2) and at the LM/W2 interface (curve 3). Compositions of W1, LM and W2; 5×10^{-5} M (TPenA⁺)₂ · SO₄²⁻ and 0.1 M MgSO₄ in W1, 5×10^{-5} M (TPenA⁺)₂ · SO₄²⁻ and 0.1 M CV⁺ · TPhB⁻ in LM, 0.1 M MgSO₄ in W

式 (16) の液膜系で測定したボルタモグラムが Fig. 7 曲線 1、2 および 3 である。曲線 1 の -0.1 ~ +0.1 V 部分には、大きさの異なる正および負の電流が観察される。曲線 2、3 に示した W1/M 界面、M/W2 界面で得られた界面イオン移動ボルタモグラムとの比較により、曲線 1 の正電流は、TPenA⁺ の W1 から M への移動と SO₄²⁻ の M から W1 への移動および SO₄²⁻ の W2 から M への移動の複合反応によって生じたものであり、負電流は、SO₄²⁻ の W1 から M への移動および SO₄²⁻ の M から W2 への移動の複合反応によって生じたものであることが分かった。

Fig. 7 曲線 1 の -0.1 ~ +0.1 V 部分は Fig. 6 曲線 1 と類似している。したがって、Fig. 6 の BLM 系でも Fig. 7 の液膜系と同様なイオン移動反応が生じているものと考えられる。

Table 3. Currents at $E_{W1-W2} = +0.1$ V and -0.1 V, $I(+)$ and $I(-)$, observed in voltammograms of type C with W1 and W2 containing 0.1 M of various magnesium salt.

Salt in W1 and W2	Current density / $\mu A \cdot cm^{-2}$ Ion added in W1 (10^{-5} M)					
	TPhAs ⁺		TPenA ⁺		TBA ⁺	
	$I(+)$	$I(-)$	$I(+)$	$I(-)$	$I(+)$	$I(-)$
0.1 M $MgSO_4$	0.09 ± 0.02	-0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01	-0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01	-0.01 ± 0.005
0.1 M $MgBr_2$	0.15 ± 0.03	-0.11 ± 0.02	0.06 ± 0.02	-0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	-0.02 ± 0.01
0.1 M $MgCl_2$	<i>ca.</i> 0	<i>ca.</i> 0	<i>ca.</i> 0	<i>ca.</i> 0	<i>ca.</i> 0	<i>ca.</i> 0

Table 3 には、 10^{-5} M の各種のカチオンを添加したとき得られるピーク高と水相中の共存親水性アニオン種との関係をまとめている。親水性イオンの違いによる波高の差は、疎水性イオンの対イオンとして膜中に分配する親水性イオンの W/NB 間移行エネルギーに対応している。

TPhB⁻、Tetraphenylarsonium ion (TPhAs⁺) および TPenA⁺ の W/NB 間 ΔG_u^0 はほぼ等しいと報告されている。にもかかわらず、TPhB⁻ を添加した場合に得られる BLM 系での VITTM はタイプ B となり、TPhAs⁺ および TPenA⁺ でのそれはタイプ C となる。この違いは、BLM を構成する脂質中の官能基（水酸基やカルボニル基など）の効果によると考えられる。すなわち、これらの官能基は添加アニオンの対イオンとして BLM に分配する親水性カチオンと相互作用し、親水性カチオンを BLM 中に安定化させる。一方、添加カチオンの対イオンとして分配する親水性アニオンとの相互作用は弱い。したがって、イオンがアニオンである場合には BLM 中には高濃度のイオンが濃縮されることになる。

タイプ D ; 一方の水相がやや疎水的なイオンを含む場合

高濃度の親水性塩を含む 2 水相のうちの一方 (W1) に、Table 1 で d を付記したイオンを 10^{-3} M 以上の濃度になるまで添加した場合に得られる VITTM であり (Fig. 8 曲

線 1)、最後上昇あるいは最後下降のようなイオン移動電流が観察される。両水相にイオンを添加した場合には最後上昇、最後下降が共に原点に対称な位置に観察される (Fig. 8 曲線 2)。

Fig. 8 Voltammograms for ion transfer across a BLM composed of PC and Ch. Curve 1; 10^{-3} M Pic⁻ in W1 and 0.1 M $MgSO_4$ in both W1 and W2. Curve 2; as curve 1, but in the presence of 10^{-3} M Pic⁻ in W1 and W2.

タイプ D の VITTM が得られる場合も、添加イオンが対イオン（共存する親水性イオン）と共に膜へ分配して透過反応が生じると考えられるが、タイプ C のときに比べて添加イオンの疎水性がさらに弱いため

にイオンの膜への濃縮性はかなり小さく、 10^{-3} M 以上のイオンを添加しなければ BLM 中のイオン濃度が十分とまらない。

タイプ D の場合、水相中の添加イオン濃度が膜中イオン濃度よりはるかに高いため、VITTM には添加イオンの水相から BLM への移動のみが観察され、BLM から水相へのイオン移動電流は顕著には観察されない。

以上、イオンの疎水性の度合いによって、VITTM の波形を分類し得ることを明らかにした。しかし、この分類には測定条件が重要である。例えば、Lieberman および Topaly あるいは Le Blanc が指摘するように、タイプ B に属する DPA⁻ や TPhB⁻ などのイオンでも、一方の水相への添加イオン濃度がピーク高が濃度に比例しなくなるほど高濃度 (2×10^{-6} M 以上) になると、VITTM の波形はタイプ C に属するものになる^{10,11)}。これは、添加した疎水性イオンの水相中濃度が高いため、疎水性イオン自体の水相から膜相への移動反応が無視できなくなるためである。また、タイプ B に属するイオンをさらに高濃度に添加した場合 (10^{-3} M 以上) やタイプ C に属するイオンを 10^{-3} M 以上に添加した場合には、VITTM はタイプ D に属するものになる。

Flewelling と Hubbell および Honig らは、疎水性イオンを添加した場合のイオン透過性とイオンの疎水性度に比例関係があることから、イオンの脂質二分子膜での透過性には水相と膜相間のイオンの溶媒和エネルギーの差の大きさが重要と考えた^{1,41,42)}。しかし、この考え方では、一方の界面でのイオンの水相から BLM 相への移動のし易さは評価できるが、他方の界面で BLM 相から水相へ移動することは考えていない。換言すれば、水相から BLM 相へ移動しやすいイオンは、BLM 相から水相へは移動しにくいイオンであることを念頭に置かねばならない。また、単イオンのみで膜中に分配することは電気的中性則にも反しているので不充分であると考えられる。

3.2.4 脂質二分子膜の種類とイオンの透過特性

構成脂質の異なる BLM を介した VITTM を測定すれば、その波形から、BLM 物性およびイオンの性質と膜透過反応の関係を考察し得る。

タイプ B のボルタモグラムのピーク高はイオンの膜への濃縮性を反映しているので、それを基に各種 BLM へのイオンの濃縮性・透過特性を比較できる。

Table 4. Peak currents in voltammograms observed with BLMs of various compositions. W1 contained 0.1 M MgSO₄ and 10^{-6} M of an additive.

Lipid composing BLM	Peak current density / $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$				
	Ion added in W1 (10^{-6} M)				
	DPA ⁻	TPhB ⁻	EV ⁺	CV ⁺	TPhAs ⁺
DOPC	0.40±0.05	0.10±0.01	0.12±0.03	0.07±0.02	(C)
PS	0.20±0.02	0.10±0.01	0.11±0.02	0.06±0.01	(C)
PE	0.09±0.01	(D)	(C)	(D)	(D)
DOPC+Ch	0.50±0.10	0.14±0.02	0.09±0.02	0.05±0.01	(C)
PC+Ch	0.20±0.03	0.10±0.02	0.07±0.02	0.04±0.01	(C)
PS+Ch	0.09±0.01	(D)	0.25±0.04	0.15±0.02	(C)
PE+Ch	0.15±0.03	0.06±0.01	(C)	(D)	(D)
Sph+Ch	0.18±0.03	0.07±0.01	(C)	(D)	(D)

Table 4 には、各種の組成の BLM を用い、0.1 M MgSO_4 を含む W1、W2 のうちの一方(W1)に 10^{-6} M の CV^+ 、 TPhAs^+ 、 DPA^- あるいは TPhB^- を添加して得られた VITTM (ほとんどはタイプ B) に生じるピーク高から計算したピーク電流密度をまとめてある。記号 C および D は、 10^{-6} M の疎水性イオンを添加したときにはイオン移動電流は観察されなかったが、 $10^{-4} \sim 10^{-3}$ M 程度の濃度になるまで疎水性イオンを添加した場合には、タイプ C あるいは D のボルタモグラムが観察されたことを示す。すなわち、これらの BLM は疎水性イオンであるにもかかわらず濃縮されにくいことを示す。

Table 4 から以下の特徴が読み取れる。i) 膜構成脂質の種類によらず添加アニオンあるいは添加カチオンの疎水性が高いほどピーク電流密度は大きい。ii) TPhB^- と TPhAs^+ 、 DPA^- と CV^+ はそれぞれ同程度の疎水性をもつが、 TPhB^- 、 DPA^- を W1 に添加した場合のピーク電流密度の方が TPhAs^+ 、 CV^+ を添加した場合のそれより大きい。iii) dioleoylphosphatidylcholine (DOPC) あるいは phosphatidylserine (PS) で作成した BLM の代わりに Ch を含む BLM ($\text{DOPC}+\text{Ch}$ あるいは $\text{PS}+\text{Ch}$) を用いると、 TPhB^- 、 DPA^- を添加したときのピーク電流密度は大きくなり、 CV^+ を添加したときのそれは小さくなる。phosphatidylethanolamine (PE) で構成された BLM の代わりに $\text{PE}+\text{Ch}$ を用いると、添加イオンが TPhB^- 、 TPhAs^+ 、 DPA^- 、 CV^+ のいずれであってもピーク電流密度は大きくなる。

各種 BLM で観察された VITTM の i) ~ iii) の特徴は、BLM 構成脂質と親水性イオンとの相互作用の観点から次のように説明できる。i) 添加イオンが小さな ΔG_{tr}^0 をもち、BLM へ移動しやすければ、電気的中性則を保存するために、対イオンである共存親水性イオンの BLM への移動量も大きくなり、結局、膜中親水性イオン濃度に依存するピーク電流が大きくなる。ii) 脂質には、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{C}=\text{O}$ などの官能基が存在する

が、これらの官能基は親水性カチオンと近距離相互作用(錯生成)をし、親水性イオンを膜中に安定化する(ΔG_{tr}^0 を小さくする)。

一方、親水性アニオンも上記官能基と相互作用するがその度合は小さい。このような官能基の効果によって、親水性カチオンを引き連れて BLM に移動する疎水性アニオンを W1 に添加したときの方が、親水性アニオンを引き連れて移動する疎水性カチオンを W1 に添加した場合より、イオンの BLM への分配(濃縮性)が大きくなる。したがって、疎水性アニオンを添加したときの方が疎水性カチオンを添加したときより大きなピーク電流となる。iii) BLM に Ch を共存させると、Ch の持つ $-\text{OH}$ の配位によって親水性イオンの分配比が大きくなるので一般には大きなピークとなると考えられる。また、Ch が高濃度に共存すると BLM の構造性も変化するのでこの効果も加わる。とくに、PE は高い構造性を持つので、PE で構成される BLM にかさ高い疎水性イオンを移動させるには大きなエネルギーを要する。それは、BLM 中にかさ高い疎水性イオンを挿入するための空孔を形成することが困難であるからである。したがって、このような BLM 中にはかさ高いイオンは分配しにくく、その対イオンである親水性イオンも分配しにくいため、ピーク電流は小さくなる。しかし、ここに Ch を添加すると構造性が低くなるため、かさ高い疎水性イオンの分配も大きくなり、対イオンである親水性イオンの分配も大きくなる。Ch は、このような 2 つの効果によって、ピーク電流を大きくすると考えられる。

各種 BLM でのピーク電流密度(BLM への添加イオンの濃縮性に依存する)とイオンの BLM 透過性の関係については多数の研究が行われてきた^{37, 43)}。これらの研究では、W/BLM 界面に配向した脂質分子の官能基(水酸基、カルボニル基など)によって生じる双極子ポテンシャル(膜内部が正電位となる)を仮定し、これに起因して疎水性イオンが膜へ高濃縮されるとしている。しかし、いずれの研究においても、電氣的

中性則を保持するために対イオンとして BLM へ分配する親水性イオンの役割を無視しているため、W1、W2 中の親水性イオンの種類や濃度とピーク電流密度の関係を理解するには至っていない。また、これらの研究に従って、一方の W/BLM 界面で疎水性イオンが BLM から W への移動が生じると考えたとしても、他方の界面でのイオン移動反応は理解できない（膜系では一方の界面でイオン移動電流が流れれば、他方の界面でも同じ大きさの電流が流れるはずである）。

4 結言

本稿では、ボルタンメトリ的概念と測定法がイオンの膜透過過程の解析に極めて有用であることを実例をもって示した。また、水相および膜が十分な電解質を含む場合の膜透過反応、膜電位は主として2つの水相/膜界面でのイオン移動反応によって決定されるという視点を強調した。ここで述べた考え方は、定膜電位下での電解において一方の界面でのイオン移動反応が他方のそれに及ぼす効果の理解、定膜電位電解によるイオンの分離条件の選択、膜電位および膜電流の振動機構の解析、界面での酸化還元に伴う電子移動反応の解析など、分析化学、生化学、生理学分野における多数の膜現象の理解の一助となると考えている。とくに、生理学でしばしば議論されている受動輸送、能動輸送、共輸送および対向輸送などは、非平衡熱力学に基づいたカップリングなどを仮定しなくとも、2つの界面で生じる反応を考えれば容易に説明できることを指摘しておきたい。

一方、液膜でのイオン透過機構は、膜系が十分な電解質を含む限り超薄膜である BLM 系にも共通し、液膜でのイオン移動過程の解析結果は BLM でのその理解の基礎となることも強調した。

今後、液液分配、錯形成、ボルタンメトリなど分析化学で蓄積された知見、概念が活用され、生体膜現象の解析が進展することを望んでいる。

本総説の基礎となる研究にあたり、有益

なご助言、ご激励を頂いた京都大学化学研究所松井正和教授、花井哲也名誉教授、浅見耕司助教授および日本原子力研究所鈴木康文新型燃料燃焼研究室室長に厚く感謝いたします。

引用文献

- 1) 西島正弘他共訳: “生体膜: 分子構造と機能”, (1990), (シュプリンガー・フェアラーク東京); R. B. Gennis: “Bio-membranes; Molecular Structure and Function”, (1989), (Springer-Verlag, New York).
- 2) 嶋林三郎, 寺田 弘, 岡林博文編: “生体コロイド I: 基礎と実際”, (1990), (広川).
- 3) G. E. Goldman: *J. Gen. Physiol.*, **27**, 37 (1943).
- 4) A. L. Hodgkin, B. Katz: *J. Physiol.*, **108**, 37 (1949).
- 5) P. Henderson: *Z. Physik. Chem.*, **59**, 118 (1907).
- 6) B. Hille, W. Schwarz, *J. Gen. Physiol.*, **72**, 409 (1978).
- 7) U. Hopfer, A. L. Lehninger, W. J. Lennarz, *J. Membrane Biol.*, **2**, 41 (1970).
- 8) P. Krysinski, H. T. Tien, *Prog. Surf. Sci.*, **23**, 317 (1986).
- 9) V. K. Miyamoto, T. E. Thompson, *J. Colloid Interf. Sci.*, **25**, 16 (1967).
- 10) E. A. Liberman, V. P. Topaly: *Biochim. Biophys. Acta*, **163**, 125 (1968).
- 11) Y. A. Liberman, V. P. Topaly: *Biofizika*, **14**, 452 (1969).
- 12) R. De Levie: *J. Electroanal. Chem.*, **69**, 265 (1976).
- 13) H. L. Rosano, P. Duby, J. H. Schulman, *J. Phys. Chem.*, **65**, 1704 (1961).
- 14) J. T. Davies, *J. Phys. Chem.*, **54**, 185 (1950).
- 15) J. Koryta, M. Brezina, A. Hofmanova, D. Homolka, Le Q. Hung, W. Khalil, V. Marecek, Z. Samec, S. K. Sen, P. Van'ýsek, J. Weber, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **7**, 61

- (1980).
- 16) O. Shirai, S. Kihara, M. Suzuki, K. Ogura, M. Matsui: *Anal. Sci.*, **7** (supplement), 607 (1991).
- 17) O. Shirai, S. Kihara, Y. Yoshida, M. Matsui: *J. Electroanal. Chem.*, **389**, 61 (1995).
- 18) O. Shirai, S. Kihara, Y. Yoshida, M. Matsui: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 3151 (1995)
- 19) H. H. Girault, private communication.
- 20) V. Horvath, G. Horvai, *Anal. Chim. Acta*, **273**, 145 (1993).
- 21) 花井哲也: “膜とイオン; 物質移動の理論と計算”, (1978), (化学同人).
- 22) N. Lakshminarayanaiah: “Equations of Membrane Biophysics”, (1984), (Academic Press, Florida).
- 23) 鈴木泰三、星猛、鈴木裕一共訳: “生体膜輸送の基礎”, (1982), (東京化学同人); S. G. Schultz: “Basic Principles of Membrane Transport”, (1980), (Cambridge University Press, Cambridge).
- 24) 中垣正幸: “膜物理化学”, (1987), (喜多見書房)
- 25) Y. Yoshida, M. Matsui, O. Shirai, K. Maeda, S. Kihara, *Anal. Chim. Acta*, in press
- 26) B. Ketterer, B. Neumcke, P. Lauger, J. Membrane Biol., **5**, 225 (1971).
- 27) P. Lauger, R. Benz, G. Stark, E. Bamberg, P. C. Jordan, A. Fahr, W. Brock, *Q. Rev. Biophys.*, **14**, 513 (1981).
- 28) H. H. Girault, D. J. Schiffrin: “Electro-analytical Chemistry” Edited by A. J. Bard, Vol. 15, 1 (1989), (Marcel Dekker, New York).
- 29) H. H. Girault: “Modern Aspects of Electrochemistry” Edited by J. O'M. Bockris, B. E. Conway, R. E. White, Vol. 25, 1 (1993), (Plenum Press, New York).
- 30) M. Senda, T. Kakiuchi, T. Osakai: *Electrochim. Acta*, **36**, 253 (1991).
- 31) S. Kihara, K. Maeda: *Prog. Surf. Sci.*, **47** (1/2), 1 (1994).
- 32) 吉田善行, 木原壮林: *ぶんせき (Bunseki)*, 1987, 472.
- 33) J. Koryta, *Electrochim. Acta*, **21**, 419 (1987).
- 34) Z. Samec, A. Trojánec, P. Van'ysek, J. *Electroanal. Chem.*, **332**, 349 (1992).
- 35) O. H. LeBlanc, Jr.: *Biochim. Biophys. Acta*, **193**, 350 (1969).
- 36) R. De Levie, N. G. Seidah: *J. Membr. Biol.*, **16**, 1 (1974).
- 37) J. Kutnik, H. T. Tien: *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **16**, 435 (1986).
- 38) C. J. Bender, H. T. Tien: *Anal. Chim. Acta*, **198**, 259 (1987).
- 39) C. J. Bender: *Chem. Soc. Rev.*, **17**, 317 (1988).
- 40) H. T. Tien, J. Kutnik, *Photobiochem. Photobiophys.*, **7**, 319 (1984).
- 41) R. F. Flewelling, W. L. Hubbell: *Biophys. J.*, **49**, 541 (1986).
- 42) B. H. Honig, W. L. Hubbell, R. F. Flewelling, *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.*, **15**, 163 (1986).
- 43) H. T. Tien: *Prog. Surf. Sci.*, **19**, 169 (1985).