

## 水溶性ポリマーと染料の相互作用

葛	生		伸
田	中	哲	夫
小	田	康	弘
新	谷	孝	司
兼	重	洋	右

## Interaction between Cationic Dyes and Water-soluble Polymers

Nobu KUZUU  
Tetsuo TANAKA  
Yasuhiro ODA  
Takashi SHINTANI  
Yosuke KANESHIGE

The binding behaviors of cationic dyes towards copolymers of *p*-styrenesulfonic acid/vinyl monomers (2-hydroxyethyl methacrylate, methacrylic acid, acrylamide, and acrylonitrile) have been evaluated quantitatively by the equilibrium dialysis method under the condition of pH 4.2 and 25°C. The binding isotherms obtained suggest a strongly cooperative mode of binding which results from the hydrophobic interaction in a dye/copolymer complex.

## 1. 緒 言

水溶性高分子は、さまざまな系と相互作用をすることが知られている<sup>1)</sup>。天然の水溶性高分子であるタンパク質は、さまざまな低分子と相互作用があり<sup>2,3)</sup> 生理的・薬理的な重要性をもっている。また繊維の染色は、繊維という高分子と染料という低分子の間の相互作用を利用したものである。これらの現象は非常に複雑である。そこでこれらの現象に対するモデル系としての合成高分子と染料の相互作用に関する研究が多数報告されている<sup>1,3-8)</sup>。

水溶性高分子と低分子の相互作用の応用としては、薬剤などの担体<sup>9)</sup>、コロイドの凝集剤<sup>10)</sup>などが考えられている。

最近われわれは、染料を高分子に結合させることにより染料を安定化させたり、本来不溶なものに可溶化する

技術を開発した<sup>11,12)</sup>。本研究は、これらの系に関する基本的な知見を得るため、*p*-スチレンスルホン酸ナトリウム (NaSS) の共重合体とカチオン染料との相互作用を、透析平衡法によりしらべたものである。

## 2. 実 験

本研究に用いたポリマーを Table I に示す。重合は当社の特許に準拠する方法で行なった。モノマーと開始剤水溶液を3時間かけて滴下したのち、さらに2時間反応を行なった。反応温度は、NaSS/AN (AN:アクリロニトリル、以下略号は Table I 参照) 系では 70°C、その他の系では 90°C である。開始剤は過硫酸アンモニウムを用い、NaSS/MAA 系ではモノマーに対して 2 wt%、NaSS/AN 系では 4 wt%、その他の系については 8 wt% を用いた。なお、Table I の共重合組成は、重合率がいずれも 99% 程度に達しているため、仕込みのモノ

Table I NaSS copolymers

Copolymer	Monomers	Composition	
		weight ratio	molar ratio
P-I	NaSS/HEMA	2/8	14/86
P-II	NaSS/HEMA	5/5	39/61
P-III	NaSS/HEMA	8/2	72/28
P-IV	NaSS/HEMA	10/0	100/0
P-V	NaSS/MAA	2/8	10/90
P-VI	NaSS/AM	2/8	8/92
P-VII	NaSS/AN	8/2	51/49

NaSS: Sodium *p*-Stylenesulfonic acid

HEMA: 2-Hydroxyethylmethacrylate

MAA: Methacrylic acid

AM: Acrylamide

AN: Acrylonitrile

Table II Cationic Dyes

Dye	C. I. No.
Y-I	C. I. Basic Yellow 36
Y-II	C. I. Basic Yellow 40
Y-III	C. I. Basic Yellow 28
Y-IV	C. I. Basic Yellow 13
R-I	C. I. Basic Red 14
R-II	C. I. Basic Red 46:1
R-III	C. I. Basic Violet 27
R-IV	C. I. Basic Red 1
B-I	C. I. Basic Blne 3
B-II	C. I. Basic Blne 41
B-III	C. I. Basic Blne 77

マー比率をそのまま用いた。

重合したポリマー水溶液は、セロハンチューブ (20/30 inch for dialysis, U. C. C 製) に封入し、流水中に3日間浸し、不純物、未反応モノマーを除去した。

本研究に用いたカチオン染料を Table II に示す。染料は、例えばエタノールに溶解後、ボウ硝などのエタノール不溶な不純物を濾過により除くなどの方法で精製して用いた。染料および水溶液の濃度は、あらかじめモル吸光係数を求めておき、吸光度から求めた。吸光度は日立分光光度計 Model 200-20 を用いて測定した。

実験はすべて 25°C で 0.05 M クエン酸緩衝液中で行なった。

### 3. 結果および考察

各種カチオン染料の NaSS/HEMA 系のポリマー (P-I) に対する結合等温線を Fig. 1 に示す。横軸は遊離染

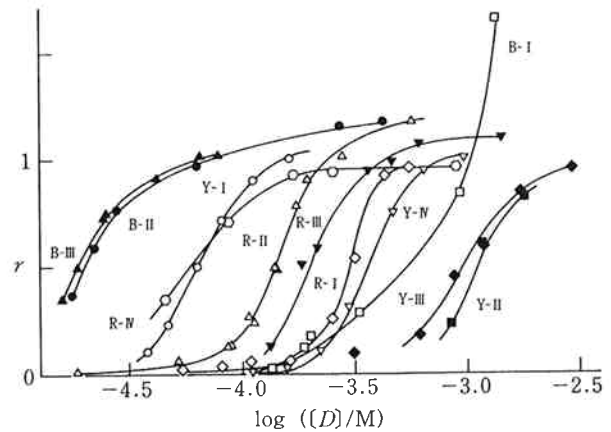


Fig. 1 Binding of cationic dyes by P-I in 0.05 M citric acid buffer pH 4.2 at 25°C.

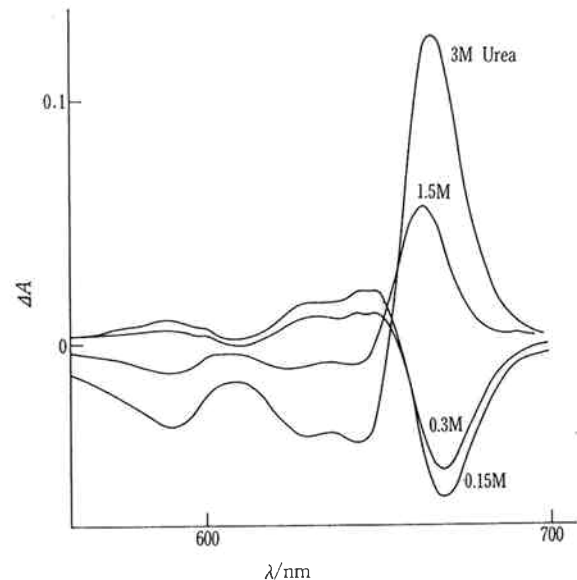


Fig. 2 Effect of addition of urea to the difference spectra of aqueous solution of B-I.

料濃度  $[D]$ , 縦軸はポリマーのスルホン酸基に対する染料の結合率  $r$  である。各染料の結合等温線は、B-I をのぞいてシグモイド形の曲線で、染料濃度が充分高くなると、 $r$  はほぼ 1 に近づく。このことは、染料とポリマー中のスルホン酸基が 1 : 1 のコンプレックスを形成することを示している。結合のはじまる濃度は、 $10^{-3}$  M から  $10^{-5}$  M にわたり染料の種類によって大きく異なる。

B-I の結合等温線はシグモイド形にならない。これは染料同士のスタッキング<sup>3)</sup>が生じているために、一つのスルホン酸基に対して複数の染料が結合することによるものと考えられる。このことを証明するために、B-I

の水溶液に対する尿素の添加効果をしらべた。尿素分子は、染料分子を包接することにより、スタッキングを解消することが知られている<sup>13)</sup>。

Fig. 2 は B-I 水溶液に尿素を添加した系の無添加系に対する差スペクトルである。尿素の濃度が低いとき (0.3 M, 0.15 M) と高いとき (3 M, 1.5 M) で反転がみられるが、明らかに2つの状態が存在していることがわかる。Fig. 3 は、P-I に対する B-I の結合等温線に対する尿素添加効果を示したものである。尿素の添加量が少なきには、結合率がほとんど変わらないのに対して、添加量が多くなると、尿素の添加量とともに結合率が減

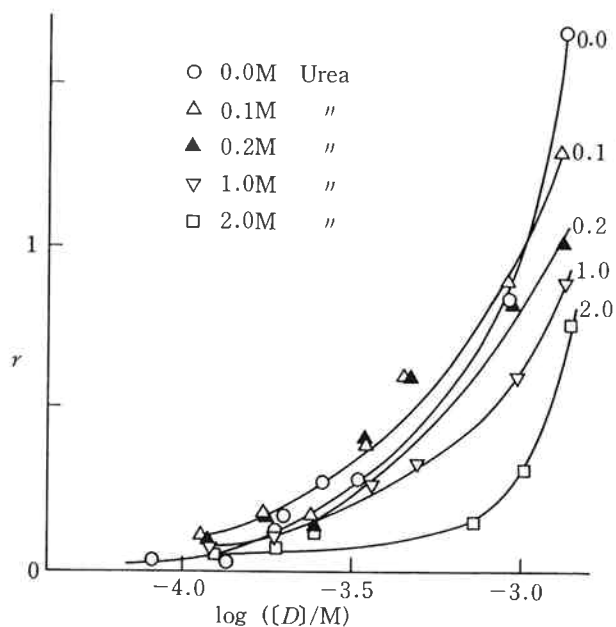


Fig. 3 Effect of addition of urea to the binding isotherms of B-I by P-I in 0.05 M citric acid buffer pH 4.2 at 25°C.

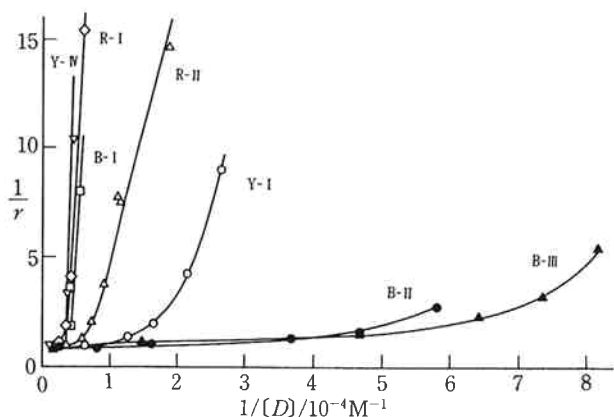


Fig. 4 Klotz plot of the same data as in Fig. 1.

少する。

以上のことから B-I に関して、

- 1) B-I は水溶液中でスタッキングしている。
- 2) B-I は水溶液中でスタッキングした状態でポリマーに結合する。
- 3) 尿素を充分多量 ( $\geq 1M$ ) に添加すれば、スタッキング防止の効果がみられるが、添加量が少なきには、効果がみられないかむしろ促進する。

ことがわかった。スタッキング防止に過剰の尿素が必要なのは、染料分子を包接するのに多量の尿素が必要なためと考えられる。

Fig. 4 は、Fig. 1 と同じデータを  $1/r$  対  $1/[D]$  でプロット (Klotz プロット<sup>1)</sup>) したものである。多くの染料のポリマーに対する結合に関して、結合等温線が Klotz の式(1)に従うことが知られている<sup>1)</sup>。

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{nK[D]} + \frac{1}{n} \quad (1)$$

このような系の結合等温線は、Klotz プロットで直線となる。(1)式は Langmuir の吸着式と同等である。すなわち、染料が高分子に結合するに際して、各染料は独立に結合することを示している。しかしながら本系では、Fig. 4 に示すように、 $1/r$  が  $1/[D]$  の増大とともに急激に増大している。このことは、高分子に対する染料の結合が、単にカチオン染料とポリマーのスルホン酸基間の静電相互作用のみならず、ポリマーに結合した染料間に何らかの相互作用が働いていることを示している<sup>4,8)</sup>。すなわち、染料はポリマーに“共同的”に結合する。このことをはつきりさせるために、Fig. 5 に示すようなモデルに対する理論結合等温線と実験結果を比較してみることにする。

今、 $M$  個の結合部位をもつ高分子に、 $N$  個の染料が結合しているとする。このとき結合率は(2)式で与えられる。

$$r = \frac{N}{M} \quad (2)$$

染料が一つの結合部位に結合したときの結合エネルギーを  $\epsilon$ 、隣接する結合部位に結合した染料同士の相互作用のエネルギーを  $w$  とする。このモデルは、統計力学でよく知られている Ising モデル<sup>13)</sup> に相当し、結合等温

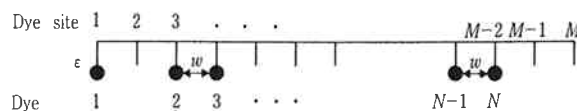


Fig. 5 Model of the cooperative binding.

線は(3)式で与えられる。

$$\frac{1}{K[D]} = \frac{e^{-w/k_B T} \sqrt{1-4r(1-r)(1-e^{-w/k_B T})} + 1 - 2r}{\sqrt{1-4r(1-r)(1-e^{-w/k_B T})} - 1 + 2r} \quad (3)$$

ただし、 $K \equiv \text{const} \cdot e^{-\epsilon/k_B T}$  は染料のポリマーに対する固有結合定数、 $k_B T$  は (ボルツマン定数) × (絶対温度) である。(3)式は、McGhee と Hippel によって導かれた吸着等温式の<sup>15)</sup>、特別な場合である。(4)式をいくつかの  $w/k_B T$  の値に対して Klotz プロットしたのが Fig. 6 である。Fig. 4 ときわめてよく似た形をしている。

Fig. 7 は、Y-I の P-I に対する等温結合線と(3)式を

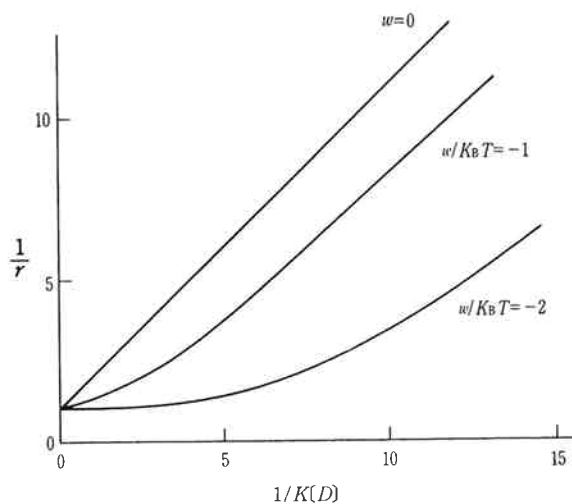


Fig. 6 Binding isotherms based on eq. (3).

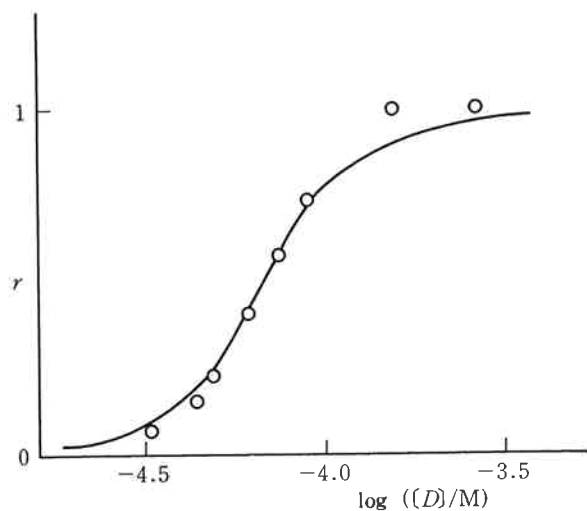


Fig. 7 Comparison of eq. (3) and binding of Y-I removed ZnCl<sub>2</sub> by P-I at pH 4.2 and 25°C. Full curve is the theoretical curve of eq. (3) with  $w/k_B T = -2.34$  and  $K = 1.65 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ .

比較したものである。 $K$  および  $w/k_B T$  の値は、(3)式の辺々の対数をとった式を  $r=1/2$  のまわりで、 $r$  の一次のオーダーまでテーラー展開した式(4)を  $r=1/2$  付近の直線部分の実験データにフィッティングすることにより決定した。

$$\ln K[D] = -\frac{w}{k_B T} + 4e^{w/2k_B T} \left( r - \frac{1}{2} \right) \quad (4)$$

Y-I/P-I 系では Ising モデルの場合よりも結合率の変化は急激におこる。このことは、実際の系においては Ising モデルの場合よりも強い共同的結合が行なわれていることを示している。これは、隣接結合部位に結合した染料間のみならず、高分子鎖上でより離れた結合部位に結合した染料間でも相互作用が働いていることによるものと考えられる。

なお、Fig. 7 の実験において、Y-I は ZnCl<sub>2</sub> を複塩として含むため、これを除去して用いた。ZnCl<sub>2</sub> を除去した場合と、しない場合の、Y-I の P-I に対する結合等温線を比較したのが Fig. 8 である。ZnCl<sub>2</sub> がある場合は、Zn 分子に染料分子が配位するために ZnCl<sub>2</sub> が存在しない場合にくらべて染料の結合の共同性はゆるやかになる。

次に共同的結合の行なわれる原因について考察する。共同的結合は、B-I にみられるようにポリマーに結合した染料間でスタッキングをおこしていることによる場合と、コンプレックス内でその他何らかの相互作用が働いている場合が考えられる。Fig. 9 は NaSS/HEMA の比率を変えたポリマーに対する Y-I の結合等温線を示したものである。いずれも共同的結合がみられる。NaSS ホモポリマー (P-IV) では、約 8 割程度の結合部位に染料が結合している。これは、NaSS の分率を高くすると、染料間の立体障害のため、全ての結合部位には

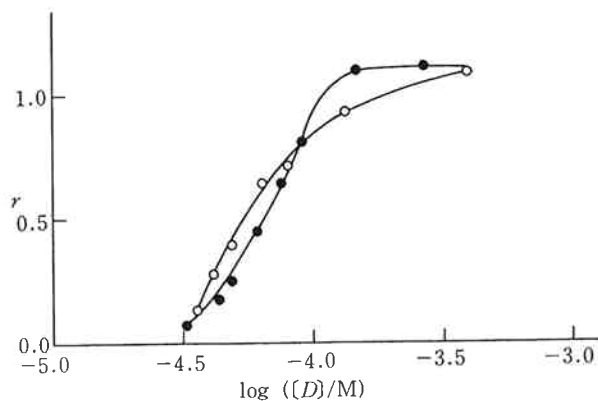


Fig. 8 Comparison of binding of Y-I removed (●), and unremoved (○) ZnCl<sub>2</sub> by P-I at pH 4.2 and 25°C.

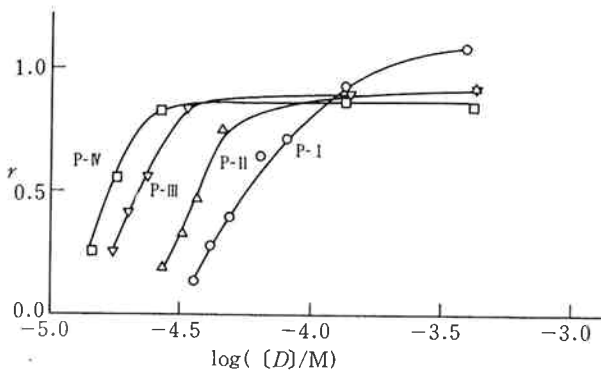


Fig. 9 Binding of Y-I by NaSS/HEMA copolymers P-I (○), P-II (△), P-III (▽), and P-IV (□) at pH 4.2 and 25°C.

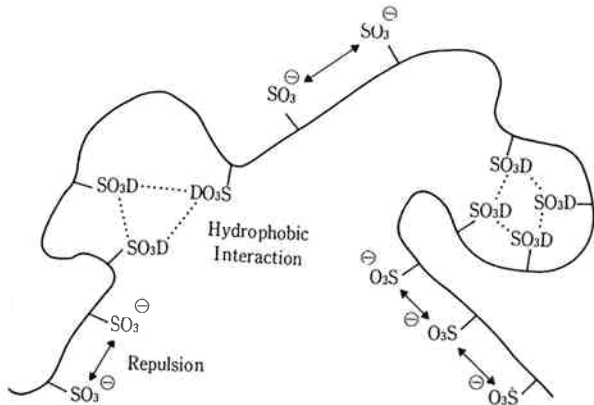


Fig. 10 Schematic illustration of the mechanism of the cooperative binding.

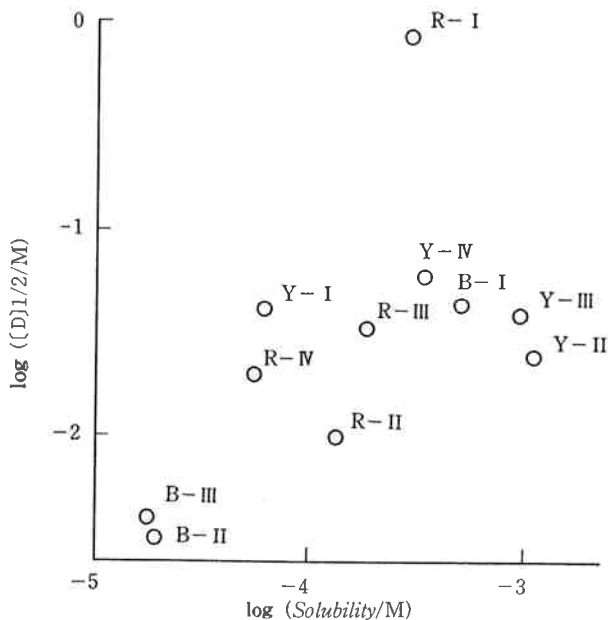


Fig. 11 Plot of the strength of binding of cationic dyes by P-I v. s. the solubility of the dyes.

染料が結合できなくなることによると考えられる。もしも共同的結合がスタッキングによるものとする、隣接結合部位間の主鎖にそった距離が離れるにつれてスタッキングをおこしにくくなり、結合の共同性が弱くなるはずである。しかしながら、本系ではその逆の傾向がみられる。そこで次のような図式が考えられる (Fig. 10)。

もしも結合部位に染料が結合していなければ、この部分は極性が強く親水性であるため、結合部位同士は反発しあう。しかしながらもしもこの部分に染料が結合すると、極性が低くなり、水中では染料が結合した部分同士が会合 (疎水結合) する。この疎水結合による自由エネルギーの減少が  $w$  に相当する。

Fig. 11 は、Fig. 1 において  $r$  が  $1/2$  となる遊離染料濃度  $[D]_{1/2}$  を染料の溶解度に対してプロットしたものである。両者には正の相関がみられる。このことも、分

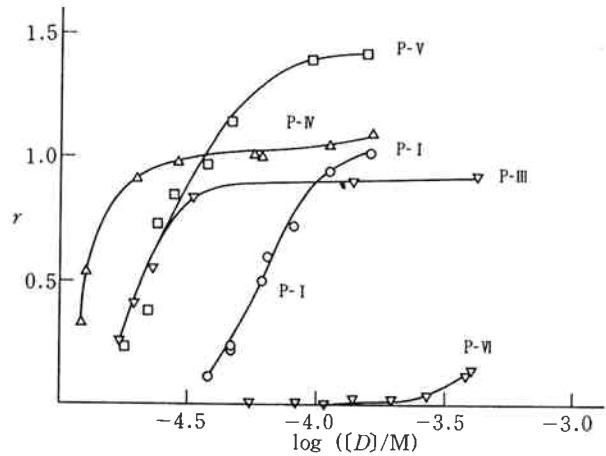


Fig. 12 Binding of Y-I by various copolymers P-I, P-III, P-V, P-VI, and P-VII at pH 4.2 and 25°C.

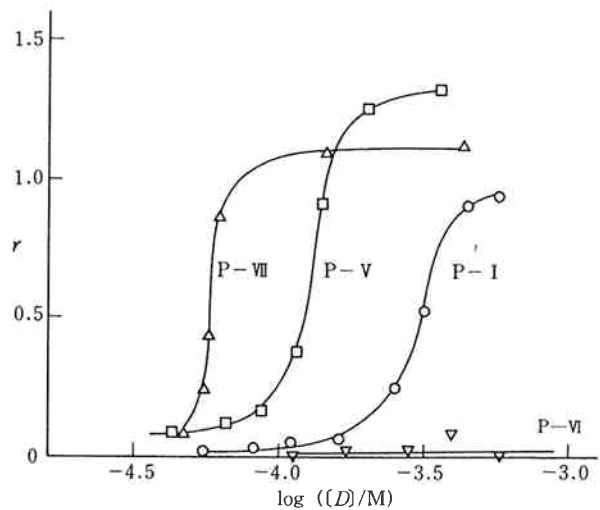


Fig. 13 Binding of B-I by various copolymers P-I, P-V, P-VI, and P-VI at pH 4.2 and 25°C.

子内疎水結合が共同的結合の原因であることを示唆している。また、結合率  $r$  が0.7~0.8に達するとコンプレックスは不溶化し、沈殿する。これも分子内疎水結合に関係していると考えられる。

Fig. 12, 13 はそれぞれ Y-I および R-I の各種ポリマー (P-I; NaSS/HEMA=2/8 wt. rat., P-V; NaSS/MAA=2/8 wt. rat., P-VI; NaSS/AM=2/8 wt. rat., P-VII; NaSS/AN=8/2 wt. rat.) に対する結合等温線である。結合等温線はいずれもの染料についても同様の傾向を示している。NaSS/AN (P-VII) は最も強く染料と結合し、低濃度から結合がはじまる。NaSS/AN 系は NaSS の分率が低いと水に不溶となるため、NaSS/AN=8/2 wt. rat.=51/49 mol. rat. のものを用いた。参考のため、Fig. 12 中に NaSS/HEMA=8/2 wt. rat.=72/28 mol. rat. のポリマー (P-III) に対する結合等温線を示した。Fig. 9 にみられるように、NaSS の割合が増えるにつれて、染料は低濃度から結合するようになる。P-III は NaSS/AN 系 (P-VII) よりも NaSS の割合が多いにもかかわらず、結合はより高濃度からはじまる。このことから NaSS/AN 系は、NaSS/HEMA 系よりも、染料の結合が強いことがわかる。NaSS-MAA 系 (P-V) では、MAA のカルボキシル基にも染料が結合するため、(全てのスルホン酸基に染料が結合したとき  $r=1$  とする) 見かけの結合率が1よりも大きくなっている。しかしながら、染料が結合するのは全カルボキシル基の4%程度にすぎない。NaSS/AM 系 (P-VI) 系では、少なくとも実験を行なった濃度範囲で、ほとんど染料の結合がみとめられなかった。

#### 4. 結 語

各種カチオン染料の NaSS/HEMA 共重合体に対する結合等温線を透析平衡法により求めた。その結果、

- 1) ポリマーのスルホン酸基とカチオン染料は1:1に結合する。
- 2) B-I は水中でスタッキングをしており、スタッキングした状態でポリマーに結合する。
- 3) ポリマーに対する染料の結合は、“共同的”に行なわれる。
- 4) 共同的相互作用は、コンプレックス内の疎水結合

に起因する。そのため、コンプレックスは水に不溶となる。

ことが明らかになった。また各種ポリマーとカチオン染料の相互作用について次のことがわかった。

- 1) NaSS/AN 系は NaSS/HEMA 系に比べ、染料に対して強い相互作用を及ぼす。
- 2) NaSS/MAA 系では、カルボキシル基にも染料が結合する。しかしながら、染料の結合するカルボキシル基は全体の4%程度にすぎない。
- 3) NaSS/AM 系に対する染料の結合は、きわめて弱い。

#### 文 献

- 1) 高岸 徹; 繊維と工業, 5, 256 (1972)
- 2) I. M. Klotz; *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.* 14, 97 (1950)
- 3) 高岸 徹; 繊維加工, 28, 72(1976), 28, 125(1976)
- 4) V. Vitagliano, L. Costantio, and A. Zaguri; *J. Phys. Chem.*, 77, 204 (1973)
- 5) T. Takagishi, and N. Kuroki; *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, 11, 1889 (1973)
- 6) T. Takagishi, H. Kozuka, and N. Kuroki; *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, 21, 447 (1983)
- 7) T. Takagishi, K. Yoshikawa, N. Kuroki, H. Kozuka, and M. Mitsuishi; *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, 22, 185(1984)
- 8) S. Pak, Y. Ando, J. Koshikawa, and T. Iijima; *J. Macromol. Sci.-Phys.*, B23, 85 (1984)
- 9) M. L. Fishman, and F. R. Eirich; *J. Phys. Chem.*, 75, 3135 (1971)
- 10) Y. Nosaka, A. Kira, and M. Imamura; *J. Phys. Chem.*, 85, 1353 (1981)
- 11) 葛生, 新谷, 坂中; 東曹研究報告 29, 191 (1985)
- 12) 東洋曹達; 日特開 昭60-011542
- 13) I. M. Klotz and K. Shikama; *Arch. Biochem. Biophys.*, 123, 551 (1968)
- 14) 例えば W. J. Moore “Physical Chemistry”, Prentice-Hall, INC., N. J., 1962
- 15) J. D. McGhee and P. H. von Hippel; *J. Mol. Biol.*, 86, 409 (1974)