

Title	アミノ酸の含水溶媒中における酸性の強さと滴定
Sub Title	Acidity and potentiometric titration of some amino acids in aqueous organic solvent
Author	鹿島, 哲(Kashima, Tetsu) 小出, 裕子(Koide, Yuko) 市場, 恵子(Ichiba, Keiko) 酒井, 由美(Sakai, Yumi) 谷原, 範子(Tanihara, Noriko) 河村, 倫子(Kawamura, Michiko)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1987
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.32 (1987.) ,p.1- 16
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	原報
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000032-0001

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

アミノ酸の含水溶媒中における酸性の強さと滴定*

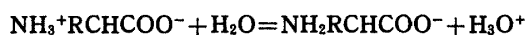
鹿島 哲, 小出裕子, 市場恵子, 酒井由美, 谷原範子, 河村倫子

Acidity and potentiometric titration of some amino acids in aqueous organic solvent

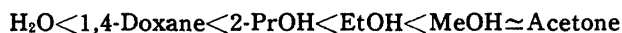
Tetsu KASHIMA, Yuko KOIDE, Keiko ICHIBA, Yumi SAKAI,
Noriko TANIHARA and Michiko KAWAMURA

Ten neutral α -amino acids, namely glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, methionine, phenylalanin, tryptophan, serine and threonine and also β -alanine in aqueous methanol, ethanol, 2-propanol, acetone or 1,4-dioxane as solvent are titrated potentiometrically with 1M carbonate-free sodium hydroxide in atmosphere of nitrogen at 25°C. Metrohm's titroprocessor E634 with glass electrode EA109, silver-silver chloride electrode EA427 and salt bridge containing 3M LiCl in 50w/w% ethanol is used and records emf of the titrated solution vs. volume of the titrant and the titration curves. Acidity of the amino acid in aqueous organic solvent is determined with the emf of half neutralization point of the titration. The emf difference of the titration is compared each other with the emf between one half and three half neutralization points.

It is found that acidity of an amino acid varies inversely the weight percent of water in the solvent by calculation with the personal computer employing method of least squares. This is because amino acid in the solvent exists as zwitter ion, not neutral molecule, and the acidity is based on the oxonium ion in the aqueous organic solvent and the solvation effect of the organic solvent molecule to the amino acid.



In 50 w/w% organic solvent, the strength of an amino acid increases the next order.



In aqueous acetone, the strongest acidity of the amino acids arises by the solvation effect with acetone, and especially strong acidity of threonine and also serine presents by the hydrogen bond between the hydroxide group of the molecule and acetone, and also the inductive effect of methyl group of the molecule and the steric hindrance. The solvation effect of 1,4-dioxane is the smallest, because the solvent molecule is nonpolar.

Emf difference of the titration in methanol, ethanol, 2-propanol, 1,4-dioxane, or acetone increases in this order, because the basicity region of aqueous organic solvents and pKs increases about in this order and also the acidity of the solvent decreases in that order except that of 1,4-dioxane.

* この一部は日本薬学会, 第107年会 (1967年4月) で発表.

1. まえがき

非水溶媒あるいは含水溶媒中における有機物質の酸塩基性については、多数の報告があるが¹⁾、アミノ酸についてはあまりありません。また、いわゆる中性アミノ酸は分子全体としては中性ですが、他の中性物質とは違って分子内で荷電している酸性と塩基性の2種の官能基を持っていて、アミノ酸は水溶液中は勿論含水溶媒中でも双性イオンとして存在するので、²⁾溶媒中における解離では少なくとも見かけ上はイオンの正負および数に変動がありません。それは他の中性物質の解離と大いに違う点です。

そこで、水と自由に混じりあう溶媒のうち典型的なものとして、メタノール、エタノール、2-プロパノール、アセトンおよび1,4-ジオキサンを選び、³⁾その含水溶媒中で中性アミノ酸を水酸化ナトリウムで滴定し、ガラス電極を指示電極に用いた記録式滴定装置で、加えた標準液の液量にたいする電位の値と電位差滴定曲線およびその微分曲線を測定しました。⁴⁾⁵⁾ 溶媒中におけるアミノ酸の酸性を示すものとして二分の一当量点の電位を用い、その電位と溶媒の比誘電率またはアミノ酸の pK_a との相関を求めましたが、それはよい成績が得られませんでした。しかし、アミノ酸の酸性と含水溶媒中の水の重量パーセントとの相関を最小自乗法を使ってパーソナルコンピュータで計算したところ、水の含量が 50 w/w% に低下するまでは良い相関性が得られたので報告します。

2. 実験

2.1 試薬

2.1.1 試料

Glycine, L- α -Alanine, L-Valine, L-Leucine, L-Isoleucine, L-Metionine, L-Phenylalanine, L-Tryptophan, L-Serine, L-Threonine.

以上は宝興産株式会社製、特級品。

β -Alanine, 日本理化学薬品株式会社製、特級品。

試料はメノウの乳鉢で微細な粉末にし、シリカゲルをいれたデシケーター中で 24 時間以上乾燥。

試料溶液、試料のアミノ酸を各含水溶媒に溶かし、重量法で 0.02 mol/kg の溶液 50 g を用時調製。

2.1.2 溶媒

純水、イオン交換法で精製した水を1時間煮沸して二酸化炭素を除去したもの。

Ethanol, 一級試薬を分別蒸留した 78°C の留分 (96.5 w/w%)。

Methanol, 2-Propanol および Acetone : 以上はメルク社製、分光分析用 (99.7 w/w%) をそのまま使用。

1,4-Dioxane, 和光純薬工業株式会社製、非水滴定用 (99.7 w/w%) をそのまま使用。

含水溶媒、前記の溶媒を使って、水とメタノール、エタノール、2-プロパノール、アセトンあるいは1,4-ジオキサンとの混合モル比を 32/1, 16/1, 8/1, 4/1, 2/1, 1/1, 1/2 および 1/4 と替えた含水溶媒を用時つくって使用。

2.1.3 滴定用標準液

1 M 水酸化ナトリウム：メルク社製 NaOH (99%) の 50% 水溶液を 80°C で数時間加熱して二酸化炭素を沈殿させた上澄液を秤りとして 1 M 溶液をつくり、標準試薬のフタル酸水素カリウムを用いて標定した標準液をソーダ石灰吸収管をつけた滴定用試薬瓶に入れて使用。

1 M 過塩素酸：特級試薬 (70%) を純水で希釈し標準試薬の炭酸ナトリウムで標定。

2.2 実験装置

滴定記録装置：Metrohm 社製 Titroprocessor E 634 に Dosimat E 635, Stirrer E 649 を接続して使用。電動ビュレットの全容量 5 ml, 最小目盛 1 μ l。

滴定容器：Metrohm 社製ウォータージャケット付き滴定容器 EA 876-20 (20 ml 用) または EA 876-50 (50 ml 用) を使用。

指示電極：Metrohm 社製，ガラス電極 EA 109。

比較電極：Metrohm 社製，銀・塩化銀電極 EA 427，内部溶液および塩橋として 3 M 塩化リチウム 50% エタノール溶液を使用。

電子定温槽：池田科学株式会社製，25.0°C。

電子天秤：Sartorius 社製，1264 MP，秤量 3000 g，感量 10 mg。

1265 MP，秤量 400 g，感量 1 mg。

Mettler 社製，HL 52，秤量 160 g，感量 0.01 mg。

いずれも付属品の記録装置を用いて試料の重量をプリントした。

重量ビュレット：10, 30 または 50 ml 容積で，三角フラスコに共通すり合わせで直立できるようにしたもの。

比誘電率測定装置：安藤電気株式会社製広帯域誘電体損測定器 TR-1c 型に，同社製 WBG-9 型発振器および同社製 BDA-9 型平衡点検出器を接続して使用。

測定用セルは液体用 LE-21 型電極 (1 ml, $\epsilon=1-10$) および LE-22 型用電極 (8 ml, $\epsilon=10$ 以上) を使用。

2.3 実験方法

各含水溶媒を用いた 0.02 mol/kg アミノ酸試料溶液 50 g を重量法で滴定容器に秤り取り，ガラス導入管から窒素ガスを通じ，マグネチックスターラーを用い一定速度でかき混ぜながら 25°C で，1 M 水酸化ナトリウム標準液を試料溶液の中に挿入した毛細管から加えていった。ピストンビュレットおよび滴定容器の周囲には定温槽から 25.0°C の水を流し，標準液および試料溶液の温度を一定に保った。標準液の量とそのときの起電力および電位差滴定曲線とその一次微分曲線をタイトロプロセッサで記録した。滴定速度は電位の変化が 3.0 mv/min になるように保つプログラムで行なった。

滴定の当量点は起電力の変化の極大点， $\Delta E/\Delta V$ として測定値から計算で求め，滴定曲線上にスター印，* で示され同時に記録される標準液の ml 値と，そのときの mv 値は参考とするに止めた。二分の一当量点および二分の三当量点の起電力は，その点付近の起電力とそのときの標準液の液量に基づいて比例計算で求めた。測定される起電力値の変動に基づき誤差を避けるため， α -アラニンを毎日測定之初めに滴定し，その二分の一当量点の起電力値を基準にして他の測定値を補正した。また，種々の含水量における測定値を最小自乗法を使ってパーソナルコンピュータに入れて計算⁶⁾したデータから，50 w/w% 含水溶媒中における起電力値を記録させた (Fig. 1 & 2)。

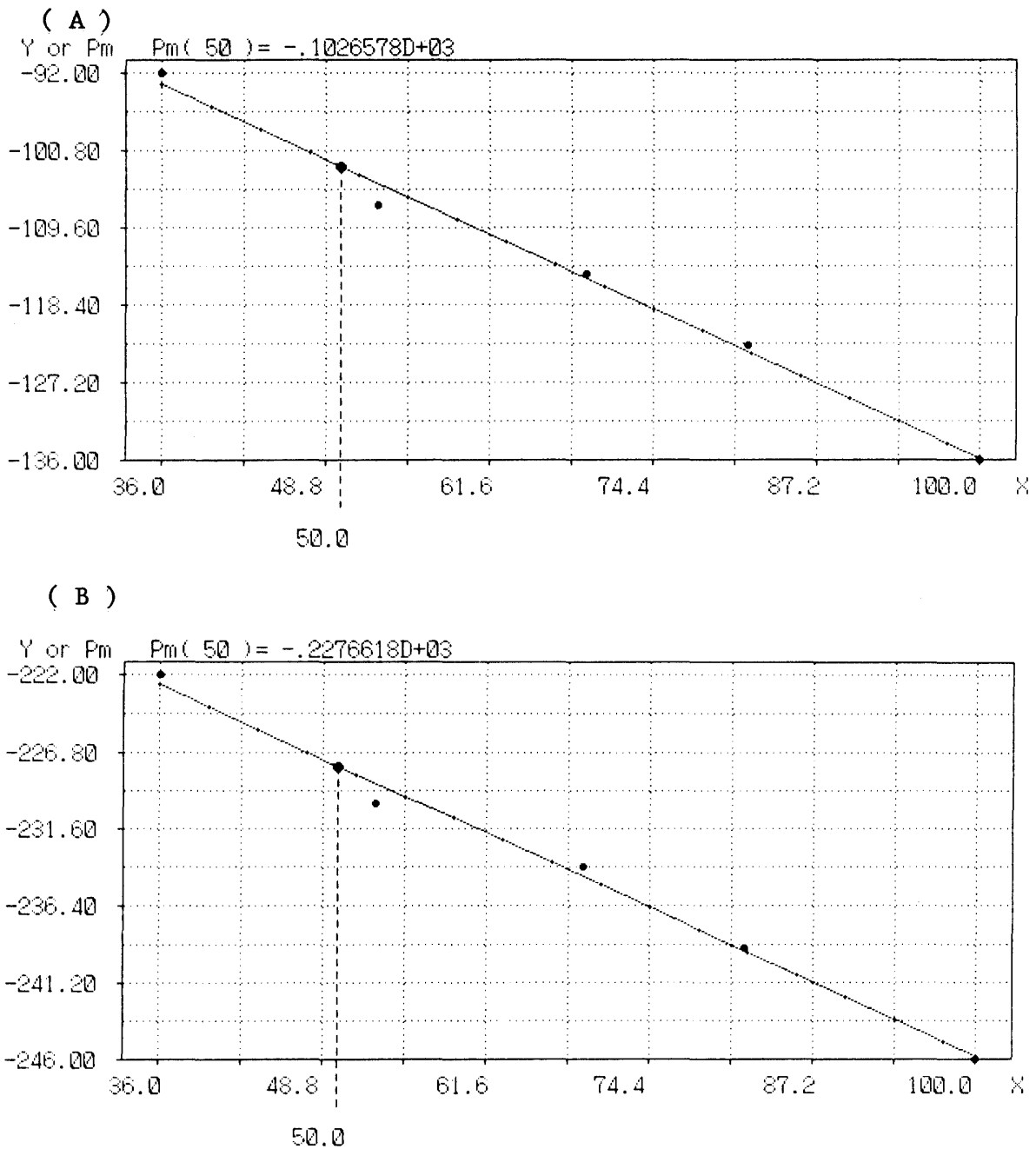
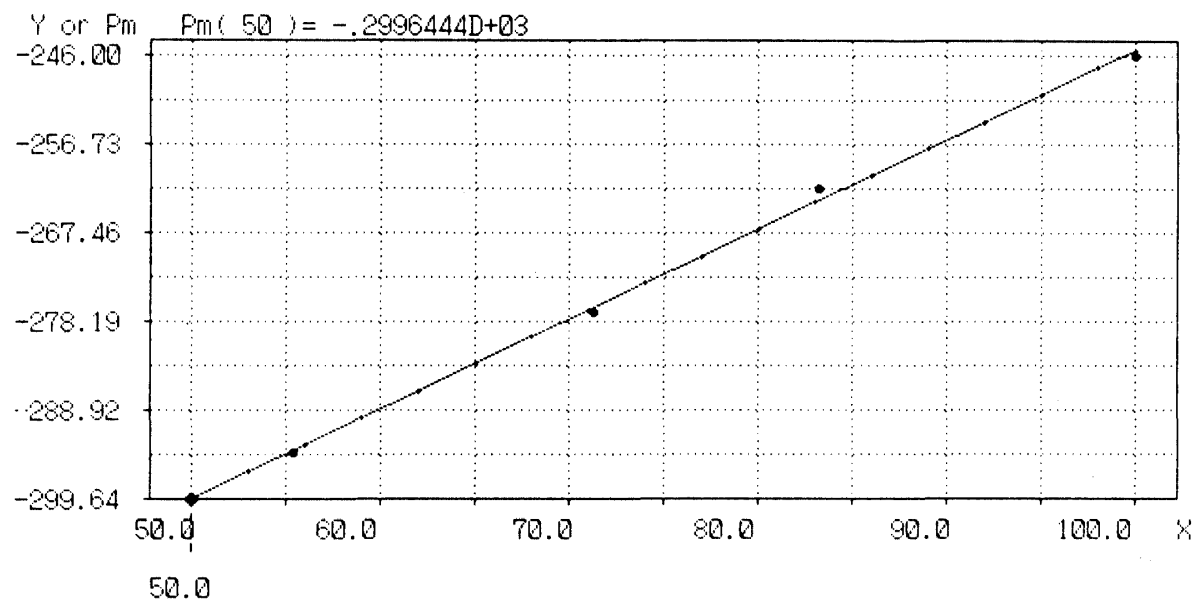


Fig. 1 Relationship of weight percent of water in aqueous methanol to emf of one half (A) or three half (B) neutralization point of α -alanine

なお、含水溶媒の比誘電率はその溶媒を入れた測定用セルを 25.0°C の定温槽に置き比誘電率測定装置で測定し、50 w/w% 含水溶媒中における比誘電率は起電力と同じ方法でパソコンを使って求めたが、有機溶媒の重量パーセントと比誘電率とは逆比例の関係にあり、水の含量が 20 w/w% に低下するまではその相関係数は 1.000 であった。

(A)



(B)

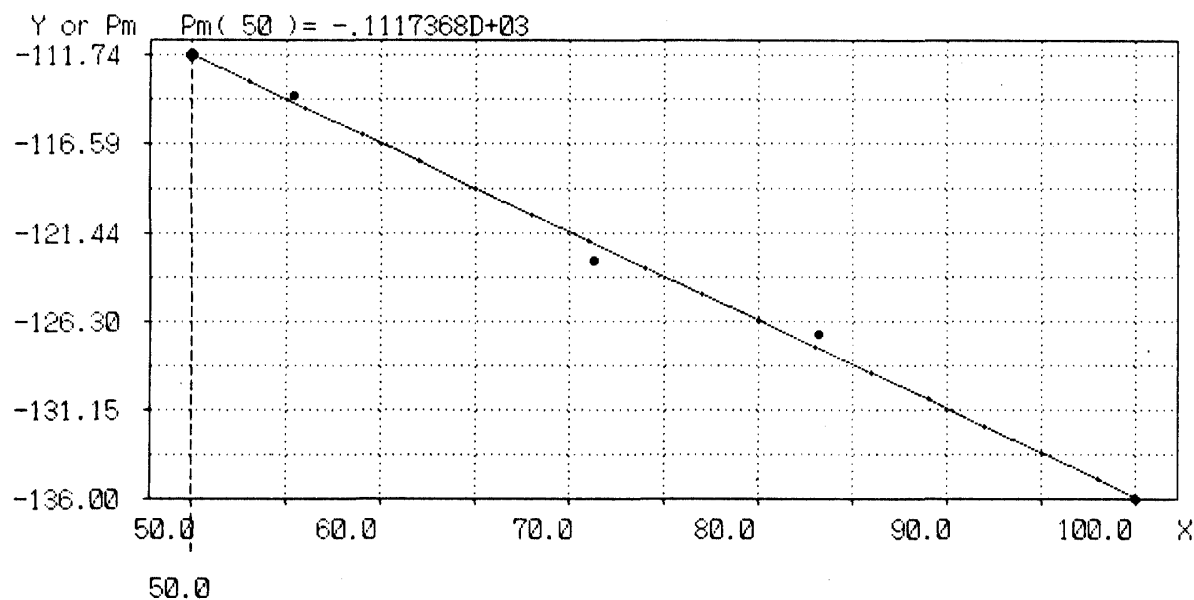


Fig. 2 Relationship of weight percent of water in aqueous acetone to emf of one half (A) or three half (B) neutralization point of α -alanine

2.4 実験結果

2.4.1 過塩素酸の滴定 (Table 1)

過塩素酸を水酸化ナトリウム標準液で滴定して、種々の含水溶媒中における二分の一当量点の電位（酸の強さ）と三分の二当量点の電位（塩基性領域）とを測定したところ、酸の強さが溶媒の比誘電率に逆比例することが確かめられ、その相関係数は 0.997 以上であった。含水溶媒の塩基性領域は含水メタノールでは溶媒の比誘電率に比例し、そのほかの溶媒では逆比例して広がったが、いずれも二次式での相関係数ではあるがやはり 0.997 以上であった。

50 w/w% 含水溶媒中における過塩素酸の強さを、含まれる有機溶媒について比較すると、



の順に水より強くなり、また、含水溶媒の塩基性領域の広さは、



の順に広くなり、含水メタノールだけは水溶液よりも狭かった。

2.4.2 アミノ酸の滴定 (Table 2—12)

過塩素酸と同じ測定をしたところ、その実験結果から普遍的な表わし方でいうと、有機溶媒中の水の含量が 50 w/w% に低下するまではアミノ酸の強さは水の含量に逆比例して強くなり、その相関係数は 0.99 以上であった。含水溶媒の塩基性領域は含水メタノールでは水の含量に比例して狭くなり、そのほかの溶媒では比例して広くなったり、いずれの相関係数も 0.99 以上であった。

50 w/w% 含水溶媒中におけるアミノ酸の強さを、含まれる有機溶媒について比較すると、



の順に強くなり、含水溶媒では水の含量が減少するに比例して酸性が強まったが、含水ジオキサンではその変化が僅かであった。

含水溶媒の塩基性領域の広さは、過塩素酸を滴定したときと同じで、



の順に広がった。測定されたデータそのもの (Table 13) より、水溶液と含水溶媒中での電位の差のほうが比較しやすいので、それを "Table 14" にまとめた。

含水溶媒を用いた滴定における 1/2 当量点と 3/2 当量点の電位の差は、



の順に水溶液より大きくなったが、含水メタノールだけは水溶液中とあまり差がなかった。

なお、アミノ酸の水溶液における酸性、 pK_a と含水溶媒中における酸性とは、水酸基を持ったスレオニンとセリンとを除いてはおおよそ比例関係が成立した。セリンとスレオニン特に後者は含水アセトン中でその酸性が非常に強く現われたが、含水ジオキサン中では水溶液中と変わりなかった。 β -アラニンは含水溶媒中でもその塩基性は α -アラニンより弱かったが、含水アセトンによる影響は殆ど同じだった。なお、含水溶媒の種類および含水量による電位差滴定曲線の変化は、前報⁵⁾で報告したスレオニンおよび β -アラニンの滴定曲線を参照すれば全般の傾向が良く解ります。

Table 1 Potentiometric titration 0.01M HClO₄ with 1M NaOH in some aqueous organic solvents

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)	pK _s	200/e
H ₂ O	100.0	290	-251	541	14.00	2.55
H₂O/MeOH						
8/1	81.8	296	-249	545	14.10	2.84
4/1	69.2	300	-246	546	14.13	3.11
2/1	52.7	309	-239	548	14.18	3.50
—	50.0	311	-238	549	14.20	3.57
1/1	36.0	322	-227	549	14.46	4.03
Correlation coeff.		0.997	1.000(2)			
H₂O/EtOH						
8/1	75.8	296	-270	566	14.65	3.07
4/1	60.0	300	-279	579	14.98	3.53
—	50.0	304	-281	585	15.14	4.00
2/1	43.9	306	-282	588	15.22	4.19
1/1	28.1	316	-284	600	15.53	5.13
Correlation coeff.		0.999	1.000(2)			
H₂O/2-PrOH						
8/1	70.6	296	-274	570	14.75	3.45
4/1	54.5	301	-286	587	15.19	4.38
—	50.0	303	-292	595	15.40	4.65
2/1	37.5	309	-301	610	15.78	5.88
1/1	23.1	320	-309	629	16.28	7.63
Correlation coeff.		0.999	0.997(2)			
H₂O/Acetone						
8/1	71.3	304	-285	589	15.24	3.24
4/1	55.4	316	-311	627	16.23	3.80
—	50.0	325	-320	645	16.69	4.07
2/1	38.3	337	-339	676	17.49	4.69
1/1	23.7	360	-344	704	18.22	5.85
Correlation coeff.		1.000	0.998(2)			
H₂O/1,4-Dioxane						
8/1	62.1	311	-288	599	15.50	4.27
—	50.0	323	-310	633	16.38	5.51
4/1	45.0	331	-319	650	16.82	6.19
2/1	29.0	365	-338	703	18.19	10.64
Correlation coeff.		0.999	1.000(2)			

Table 2 Potentiometric titration of Glycine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	99.5	-130	-245	115
H₂O/MeOH					
8/1	81.8	98.9	-114	-238	124
4/1	69.2	99.2	-107	-234	127
2/1	52.9	100.8	-96	-230	134
—	50.0	—	-94	-228	134
1/1	36.0	99.0	-84	-222	138
Correlation coeff.			0.998	0.995	
H₂O/EtOH					
8/1	75.8	98.9	-112	-258	146
4/1	60.0	99.4	-101	-263	162
—	50.0	—	-95	-267	172
2/1	43.9	98.6	-92	-269	177
Correlation coeff.			0.999	0.993	
H₂O/2-PrOH					
16/1	82.7	98.5	-117	-258	141
8/1	70.6	98.9	-111	-267	156
4/1	54.5	99.0	-106	-278	172
—	50.0	—	-103	-280	177
2/1	37.5	98.8	-97	-288	191
Correlation coeff.			0.998	0.999	
H₂O/Acetone					
8/1	71.3	100.4	-110	-273	163
4/1	55.4	98.9	-99	-296	197
—	50.0	—	-97	-300	203
2/1	38.3	99.0	-92	-313	222
Correlation coeff.			0.997	0.997	
H₂O/1,4-Dioxane					
8/1	62.1	99.1	-118	-284	166
—	50.0	—	-114	-299	185
4/1	45.0	99.1	-113	-305	192
Correlation coeff.			1.000	0.999	

Table 3 Potentiometric titration of L- α -Alanine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	99.3	-136	-246	110
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	100.1	-123	-239	116
4/1	69.2	99.6	-115	-234	119
2/1	52.9	100.5	-107	-230	123
—	50.0	—	-103	-228	125
1/1	36.0	99.4	-92	-222	130
Correlation coeff.			0.996	0.996	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	99.3	-122	-257	135
4/1	60.0	100.2	-116	-265	149
—	50.0	—	-108	-269	162
2/1	43.9	100.8	-103	-272	169
Correlation coeff.			0.993	1.000	
H ₂ O/2-PrOH					
16/1	82.7	100.9	-128	-257	129
8/1	70.6	99.8	-123	-267	144
4/1	54.5	100.2	-118	-277	159
—	50.0	—	-115	-278	163
2/1	37.5	100.5	-109	-284	175
Correlation coeff.			0.997	0.994	
H ₂ O/Acetone					
16/1	83.2	100.3	-127	-262	135
8/1	71.3	99.0	-123	-277	154
4/1	55.4	99.4	-113	-294	181
—	50.0	—	-108	-296	188
2/1	38.3	100.9	-99	-305	206
Correlation coeff.			0.990	0.995	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
16/1	76.6	100.7	-132	-261	129
8/1	62.1	100.7	-130	-273	143
—	50.0	—	-129	-282	153
4/1	45.0	100.9	-128	-287	157
Correlation coeff.			0.996	0.998	

Table 4 Potentiometric titration of L-Valine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	99.9	-127	-244	117
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	100.1	-114	-239	125
4/1	69.2	100.2	-107	-235	128
2/1	52.9	99.4	-97	-228	131
—	50.0	—	-94	-227	133
1/1	36.0	98.4	-85	-222	137
Correlation coeff.			0.999	0.996	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	99.2	-113	-259	146
4/1	60.0	99.9	-105	-267	162
—	50.0	—	-98	-271	173
2/1	43.9	99.8	-94	-273	179
Correlation coeff.			0.999	0.994	
H ₂ O/2-PrOH					
8/1	70.6	99.6	-112	-268	156
4/1	54.5	99.9	-102	-279	177
—	50.0	—	-101	-282	181
2/1	37.5	99.8	-95	-290	195
Correlation coeff.			0.998	0.998	
H ₂ O/Acetone					
8/1	71.3	99.9	-111	-278	167
4/1	55.4	99.6	-101	-296	195
—	50.0	—	-98	-302	204
2/1	38.3	100.4	-91	-316	225
Correlation coeff.			1.000	1.000	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
8/1	62.1	100.6	-118	-282	164
—	50.0	—	-115	-295	180
4/1	45.0	99.4	-113	-301	188
Correlation coeff.			0.999	1.000	

Table 5 Potentiometric titration of L-Leucine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	98.8	-128	-244	116
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	99.2	-119	-229	120
4/1	69.2	99.3	-110	-234	124
2/1	52.9	100.0	-100	-229	129
—	50.0	—	-97	-228	131
1/1	36.0	99.1	-88	-223	135
2/1	21.9	100.6	-79	—	—
Correlation coeff.			0.999	0.999	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	100.1	-118	-261	143
4/1	60.0	99.9	-109	-269	160
—	50.0	—	-103	-274	171
2/1	43.9	99.6	-98	-277	179
Correlation coeff.			0.993	0.996	
H ₂ O/2-PrOH					
8/1	70.6	99.9	-117	-270	153
4/1	54.5	99.4	-109	-281	172
—	50.0	—	-106	-283	177
2/1	37.5	100.2	-99	-291	192
Correlation coeff.			0.994	0.995	
H ₂ O/Acetone					
8/1	71.3	100.3	-118	-282	164
4/1	55.4	99.2	-109	-305	196
—	50.0	—	-108	-312	204
Correlation coeff.			0.998	1.000	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
8/1	62.1	100.0	-124	-287	163
—	50.0	—	-123	-302	179
4/1	45.0	99.1	-122	-308	186
Correlation coeff.			1.000	1.000	

Table 6 Potentiometric titration of L-Isoleucine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	99.8	-131	-244	113
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	98.5	-118	-236	118
4/1	69.2	100.4	-111	-232	121
2/1	52.9	99.8	-101	-228	127
—	50.0	—	-99	-226	127
1/1	36.0	99.9	-90	-221	131
Correlation coeff.			0.999	0.995	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	99.8	-118	-259	141
4/1	60.0	99.9	-108	-267	159
—	50.0	—	-102	-272	170
2/1	43.9	99.0	-98	-274	176
Correlation coeff.			0.999	0.997	
H ₂ O/2-PrOH					
8/1	82.7	99.1	-117	-267	150
4/1	70.6	99.0	-109	-274	165
2/1	54.5	99.0	-96	-289	193
—	50.0	—	-94	-292	198
1/1	37.5	99.8	-87	-300	213
Correlation coeff.			0.997	0.989	
H ₂ O/Acetone					
8/1	71.3	99.7	-115	-277	162
4/1	55.4	100.1	-102	-297	195
—	50.0	—	-101	-301	200
2/1	38.3	100.3	-94	-313	219
Correlation coeff.			0.996	0.999	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
8/1	62.1	99.5	-117	-281	164
—	50.0	—	-113	-295	182
4/1	45.0	100.1	-112	-302	190
Correlation coeff.			0.999	0.998	

Table 7 Potentiometric titration of L-Methionine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	99.4	-98	-243	145
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	99.6	-88	-237	149
4/1	69.2	99.7	-82	-233	151
2/1	52.9	99.2	-73	-229	156
—	50.0	—	-71	-226	155
1/1	36.0	99.3	-63	-220	157
Correlation coeff.			0.999	0.991	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	98.7	-87	-259	172
4/1	60.0	99.5	-79	-267	188
—	50.0	—	-75	-271	196
2/1	43.9	99.0	-72	-273	201
Correlation coeff.			1.000	0.992	
H ₂ O/2-PrOH					
8/1	70.6	98.7	-86	-269	183
4/1	54.5	98.6	-79	-279	200
—	50.0	—	-76	-281	205
2/1	37.5	99.4	-69	-288	219
Correlation coeff.			0.996	0.992	
H ₂ O/Acetone					
8/1	71.3	98.9	-84	-277	193
4/1	55.4	99.7	-76	-297	221
—	50.0	—	-73	-303	230
2/1	38.3	98.6	-66	-316	250
Correlation coeff.			0.999	1.000	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
8/1	62.1	99.2	-87	-281	194
—	50.0	—	-83	-296	213
4/1	45.0	99.5	-82	-303	221
Correlation coeff.			1.000	0.998	

Table 8 Potentiometric titration of L-Phenylalanine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	100.3	-100	-244	144
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	98.7	-89	-238	149
4/1	69.2	99.1	-81	-234	153
2/1	52.9	100.0	-70	-228	158
—	50.0	—	-68	-228	160
1/1	36.0	98.6	-58	-221	163
Correlation coeff.			0.999	0.990	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	98.9	-84	-257	173
4/1	60.0	99.8	-74	-265	191
—	50.0	—	-64	-271	207
2/1	43.9	99.2	-60	-271	211
Correlation coeff.			0.998	0.990	
H ₂ O/2-PrOH					
16/1	82.7	99.3	-89	-258	169
8/1	70.6	99.1	-78	-268	190
4/1	54.5	99.1	-70	-279	209
—	50.0	—	-69	-282	213
2/1	37.5	98.7	-64	-290	226
Correlation coeff.			0.992	0.998	
H ₂ O/Acetone					
16/1	83.2	99.1	-89	-262	173
8/1	71.3	99.5	-81	-277	196
4/1	55.4	99.4	-72	-297	225
—	50.0	—	-67	-302	235
2/1	38.3	98.4	-58	-315	257
Correlation coeff.			0.998	0.999	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
8/1	62.9	99.7	-88	-279	191
—	50.0	—	-84	-294	210
4/1	45.0	100.3	-82	-301	219
Correlation coeff.			1.000	0.996	

Table 9 Potentiometric titration of L-Tryptophan with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	99.1	-114	-243	129
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	98.9	-103	-238	135
4/1	69.2	98.5	-95	-233	138
2/1	52.9	98.5	-85	-228	143
—	50.0	—	-84	-228	144
1/1	36.0	98.3	-76	-222	146
Correlation coeff.			1.000	0.999	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	98.7	-100	-259	159
4/1	60.0	100.0	-92	-268	176
—	50.0	—	-86	-272	186
2/1	43.9	99.0	-82	-274	192
Correlation coeff.			0.999	0.993	
H ₂ O/2-PrOH					
16/1	82.7	99.7	-105	-256	151
8/1	70.6	99.8	-97	-268	171
4/1	54.5	99.8	-89	-278	189
—	50.0	—	-87	-281	194
2/1	37.5	100.8	-80	-297	217
Correlation coeff.			0.999	0.996	
H ₂ O/Acetone					
16/1	83.2	98.8	-106	-267	161
8/1	71.3	99.2	-99	-278	179
4/1	55.4	100.5	-90	-297	207
—	50.0	—	-87	-304	217
Correlation coeff.			0.999	0.997	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
16/1	76.6	99.2	-108	-265	157
8/1	62.1	100.0	-105	-285	180
—	50.0	—	-101	-297	196
4/1	45.0	98.4	-99	-302	203
Correlation coeff.			0.995	0.997	

Table 10 Potentiometric titration of L-Serine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	99.7	-94	-242	148
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	99.1	-86	-237	151
4/1	69.2	98.5	-80	-233	153
2/1	52.9	99.4	-73	-229	156
—	50.0	—	-71	-227	156
1/1	36.0	98.9	-63	-221	158
Correlation coeff.			0.998	0.992	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	98.4	-86	-256	170
4/1	60.0	99.1	-78	-264	186
—	50.0	—	-75	-269	194
2/1	43.9	99.0	-73	-271	198
Correlation coeff.			0.996	0.998	
H ₂ O/2-PrOH					
8/1	70.6	99.1	-82	-265	183
4/1	54.5	99.6	-77	-275	198
—	50.0	—	-76	-279	203
2/1	37.5	99.1	-73	-288	215
Correlation coeff.			0.992	0.999	
H ₂ O/Acetone					
8/1	71.3	98.8	-73	-278	205
4/1	55.4	99.6	-56	-299	243
—	50.0	—	-52	-303	251
2/1	38.3	100.6	-41	-315	274
Correlation coeff.			0.997	0.998	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
8/1	62.1	100.4	-92	-285	193
—	50.0	—	-91	-300	209
4/1	45.0	100.6	-91	-307	216
Correlation coeff.			1.000	1.000	

Table 11 Potentiometric titration on L-Threonine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	99.5	-92	-244	152
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	99.9	-81	-236	155
4/1	69.2	99.4	-77	-232	155
2/1	52.9	99.6	-69	-228	159
—	50.0	—	-67	-224	157
1/1	36.0	99.1	-59	-218	159
Correlation coeff.			0.997	0.995	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	99.5	-79	-257	178
4/1	60.0	99.2	-73	-265	192
—	50.0	—	-68	-269	201
2/1	43.9	99.8	-65	-271	206
Correlation coeff.			0.998	0.997	
H ₂ O/2-PrOH					
8/1	70.6	100.9	-81	-270	189
4/1	54.5	99.8	-74	-280	206
—	50.0	—	-73	-283	210
2/1	37.5	99.7	-69	-291	222
Correlation coeff.			0.998	0.996	
H ₂ O/Acetone					
32/1	90.9	99.4	-80	-253	173
16/1	83.2	99.2	-61	-262	201
8/1	71.3	98.9	-42	-278	236
4/1	55.4	99.1	-19	-298	279
—	50.0	—	-1	-301	300
2/1	38.3	99.3	+3	-313	316
Correlation coeff.			0.996	0.998	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
16/1	76.6	99.9	-90	-268	178
8/1	62.1	99.6	-89	-285	196
—	50.0	—	-88	-299	211
4/1	45.0	98.8	-87	-306	219
Correlation coeff.			0.995	0.999	

Table 12 Potentiometric titration of β-Alanine with 1M NaOH

Solvent (molar ratio)	H ₂ O w/w%	found %	1/2ep (mV)	3/2ep (mV)	ΔE (mV)
H ₂ O	100.0	99.9	-156	-242	86
H ₂ O/MeOH					
8/1	81.8	99.0	-146	-239	93
4/1	69.2	99.1	-138	-235	97
2/1	52.9	99.3	-130	-232	102
—	50.0	—	-129	-231	102
1/1	36.0	99.5	-122	-228	106
Correlation coeff.			0.999	0.996	
H ₂ O/EtOH					
8/1	75.8	100.2	-141	-256	115
4/1	60.0	101.4	-134	-264	130
—	50.0	—	-126	-270	144
2/1	43.9	100.4	-122	—	—
Correlation coeff.			0.997	0.999(2)	
H ₂ O/2-PrOH					
16/1	82.7	99.9	-153	-252	99
8/1	70.6	101.2	-148	-256	108
4/1	54.5	100.4	-143	-264	121
—	50.0	—	-142	-265	123
2/1	37.5	99.8	-138	-269	131
1/1	23.1	100.0	-134	—	—
Correlation coeff.			0.996	0.993	
H ₂ O/Acetone					
16/1	83.2	100.2	-137	-260	123
8/1	71.3	101.2	-130	-282	152
4/1	55.4	100.4	-115	-301	186
—	50.0	—	-109	-310	201
2/1	38.3	100.4	-97	-317	220
Correlation coeff.			0.997	0.999	
H ₂ O/1,4-Dioxane					
16/1	76.6	100.8	-149	-258	109
8/1	62.1	101.5	-146	-271	125
—	50.0	—	-142	-280	138
4/1	45.0	100.5	-141	-284	143
2/1	29.0	100.5	-136	-295	159
Correlation coeff.			0.999	0.999	

Table 13 Emf of one and three half neutralization points
in 50w/w% aqueous organic solvent

Amino acid		H ₂ O	MeOH	EtOH	2-PrOH	Acetone	Dioxane
Glycine	1/2ep	-130	-94	-95	-103	-97	-114
	3/2ep	-245	-228	-267	-280	-300	-299
	ΔE	115	134	172	177	203	185
α-Alanine	1/2ep	-136	-103	-108	-115	-108	-129
	3/2ep	-246	-228	-269	-278	-296	-282
	ΔE	110	125	161	163	188	153
Valine	1/2ep	-127	-94	-98	-101	-98	-115
	3/2ep	-244	-227	-271	-282	-302	-295
	ΔE	117	133	173	181	204	180
Leucine	1/2ep	-128	-97	-103	-106	-108	-123
	3/2ep	-244	-228	-274	-283	-312	-302
	ΔE	116	131	171	177	204	179
Isoleucine	1/2ep	-131	-99	-102	-94	-101	-113
	3/2ep	-244	-226	-272	-292	-301	-295
	ΔE	113	127	170	198	200	182
Methionine	1/2ep	-98	-71	-75	-76	-73	-83
	3/2ep	-243	-226	-271	-281	-303	-296
	ΔE	145	155	196	205	230	213
Phnylalanine	1/2ep	-100	-68	-64	-69	-67	-84
	3/2ep	-244	-228	-271	-282	-302	-294
	ΔE	144	160	207	213	235	210
Tryptophan	1/2ep	-114	-84	-86	-87	-87	-101
	3/2ep	-243	-228	-272	-281	-304	-297
	ΔE	129	144	186	194	217	196
Serine	1/2ep	-94	-71	-75	-76	-52	-91
	3/2ep	-242	-227	-269	-279	-303	-300
	ΔE	148	156	194	203	251	209
Threonine	1/2ep	-92	-67	-68	-73	-1	-88
	3/2ep	-244	-224	-269	-283	-301	-299
	ΔE	152	157	201	210	300	211
β-Alanine	1/2ep	-156	-129	-126	-142	-109	-142
	3/2ep	-242	-231	-270	-265	-310	-280
	ΔE	86	102	144	123	201	138

Table 14 Emf difference between emf in water and emf
in 50w/w% aqueous organic solvent

Solvent		MeOH	EtOH	2-PrOH	Acetone	Dioxane
Glycine	1/2ep	36	35	27	33	16
	3/2ep	-17	21	35	55	54
	ΔE	19	56	62	88	70
α-Alanine	1/2ep	33	28	21	28	7
	3/2ep	-18	23	32	50	36
	ΔE	15	51	53	78	43
Valine	1/2ep	33	29	26	29	12
	3/2ep	-17	27	38	58	51
	ΔE	16	56	64	87	63
Leucine	1/2ep	31	25	22	20	5
	3/2ep	-16	30	39	68	64
	ΔE	15	55	61	88	69
Isoleucine	1/2ep	32	29	37	30	18
	3/2ep	-18	28	48	57	51
	ΔE	14	57	85	87	69
Methionine	1/2ep	27	23	22	25	15
	3/2ep	-17	28	38	60	53
	ΔE	10	51	60	85	68
Phenylalanine	1/2ep	32	36	31	33	16
	3/2ep	-16	27	38	58	50
	ΔE	16	63	68	91	66
Tryptophan	1/2ep	30	28	27	27	13
	3/2ep	-15	29	38	61	54
	ΔE	15	57	65	88	67
Serine	1/2ep	23	19	18	42	3
	3/2ep	-15	27	37	61	58
	ΔE	8	46	55	103	61
Threonine	1/2ep	25	24	19	91	4
	3/2ep	-20	25	39	57	55
	ΔE	5	49	58	148	59
β-Alanine	1/2ep	27	30	14	47	14
	3/2ep	-11	28	23	68	38
	ΔE	16	58	37	115	52
HClO ₄	1/2ep	21	14	13	35	33
	3/2ep	-13	30	41	69	59
	ΔE	8	44	54	104	92

3. 考察

3.1 含水溶媒中におけるアミノ酸の酸性

α -アミノ酸では分子内のプラスイオン (NH^+) とマイナスイオン (COO^-) との間隔が狭いため、極性溶媒分子がそれらの正負のイオンに近づいて溶媒和するとき溶媒双極子が僅か離れた同符号の分子内イオンと反発しあうので不安定になり、⁷⁾プロトンを放出することによって安定化するので、 α -アミノ酸はやや酸性を示すことになる。今回の実験は、その「溶媒効果」に、溶媒和と溶媒中の水の割合の減少がアミノ酸に及ぼす影響を検討するものです。

滴定に用いた標準酸である過塩素酸は電気的に中性で、(1)式で示される解離をしてプラスのヒドロニウムイオンとマイナスの過塩素酸イオンに分かれるので、多数の報告¹⁾と同じように、含水溶媒中でもその酸性は溶媒の比誘電率の逆数 ($200/\epsilon$) に比例して強まった。



以上の結果と一連の実験から、含水溶媒中で酸性を示す働きをするものは、やはり溶媒中のヒドロニウムイオンであると考えられます。

それに対して、アミノ酸は見かけ上は電気的に中性ですが、結晶としても溶液中でも分子内でイオンに分かれ双性イオンとして存在するので、中性アミノ酸では解離しても(2)式で解るようにイオンの正負と数に変化がありません。したがって、溶媒中の水の含量が 50 w/w% 以上では比誘電率が 35 以上となるため、ヒドロニウムイオンの解離は殆ど完全になります。よって、アミノ酸の酸性は溶媒の比誘電率の逆数が増加するにつれて強まりはするが比例はせず、むしろ含水溶媒中の水の重量パーセントに逆比例したのは、溶媒効果と溶媒和に水の濃度の減少に伴うヒドロニウムイオンの濃度の増加が加味されたためと考えられます。



しかし、溶媒中の水の含量が 50 w/w% 以下になるとヒドロニウムイオンより酸性の強い溶媒プロトンが生成⁸⁾⁹⁾するため更に酸性が強まり、比誘電率が 35 以下になるため解離が不完全になるため、逆比例関係が成り立たなくなった。

アセトン中でアミノ酸の酸性が比較的強まったのは、その極性および溶媒効果が大きいため、1,4-ジオキサン中でその割合が増加してもアミノ酸の酸性は僅かしか増加しなかったのは、無極性で弱塩基性であるためです。

なお、水と有機溶媒とは水素結合をすることを考慮して、水と有機溶媒との混合をモル比でとった含水溶媒を使ったが¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾、その効果は不明確だった。

次に溶媒分子の構造式とその pK_a , pK_s (自己プロトン解離定数の負の対数) および ϵ (比誘電率) の関係を参考のため表示した。なお、1,4-ジオキサンは $\epsilon: 2.21; 36.3(50 \text{ w/w}\%)$ が知られているだけで他の定数はわからなかった。

	$\text{H}-\text{O}-\text{H}$	$\text{H}_3\text{C}-\text{O}-\text{H}$	$\text{H}_5\text{C}_2-\text{O}-\text{H}$	$\text{H}_7\text{C}_3-\text{O}-\text{H}$	$\text{H}_3\text{C}-\text{O}-\text{CH}_3$
(25 °C)					
pK_a	15.7	15.5	15.9	17	20
pK_s	14.0	16.7	19.1	20.8	large
$\epsilon(25 \text{ }^\circ\text{C})$	78.39	32.70	24.55	19.92	20.70
$\epsilon(50\text{w/w}\%, 25 \text{ }^\circ\text{C})$		55.9	50.2	42.8	49.4

スレオニンが含水アセトン中で他のものより特に強い酸性を示したのは、 β 位の炭素に結合したメチル基及び水酸基に水素結合したアセトンのI効果と立体障害によって不安定になりアミノ基のプロトンが放出されやすくなったため、セリンには水酸基はあるがメチル基がないため酸性が少し強まるにとどまった。

β -アラニンでは正負の荷電が α -アミノ酸より炭素1個だけ離れているので、その溶媒効果が減少するため水溶液中では酸性がやや弱い、含水溶媒を用いたことによる変化は含水アセトンを除いて α -アラニンと大差なかったのは、含水量と溶媒和による変化が同じなためと考えられます。

塩基性領域については、 HClO_4 でもアミノ酸でも同じ傾向がみられたのは、当量点以後は水酸化ナトリウムの濃度が高まることによって溶液の塩基性が増し起電力が変化すると考えれば当然です。それは含水溶媒の酸性が減るほど pK_a が増すほど、その領域は広がります。

3.2 アミノ酸の滴定

アミノ酸はその酸性も塩基性も弱いものが多いので、ホルモール滴定とか非水滴定¹³⁾で定量されているが、指示薬を使う滴定は正確さに欠け、アミノ酸は双性イオンなので有機溶媒には溶けにくく、どちらかといえば水に溶けるものが多い。一般的にいうと水の含量が多いときは滴定による電位の変化が少なく、また有機溶媒の割合が増すと溶けにくくなるので、含水溶媒が適している可能性が高い。水と任意に混じりあう溶媒のなかでは、アセトンが溶媒効果が大きく極性も強く、比誘電率も大きく、どちらかといえば塩基性で pK_a が大きいため最も良い成績を示し、次いでそれらの性質がアセトンに次ぐ2-プロパノールが良い結果が得られた。1,4-ジオキサンで前者に次ぐ好結果が得られたのは pK_a が大きく、特に塩基性領域が広がるからで、メタノールではその含量が増すにつれて、酸性は強くなるが、塩基性領域が狭まるため良い成績が得られなかった。

1/2当量点の電位は安定で再現性もよいが、3/2当量点の電位は滴定試薬に水酸化ナトリウムを使い、ガラス電極を用いて測定しているので、水の含量が減少するほど応答性が低下し測定値が不安定になった。勿論ガラス電極は使用しないときは水の中に入れておいた。測定値の再現性は3m LiCl エタノール溶液の塩橋の液間電位差の変動を含めて約1mVと推定されるので、記録された値は0.1mV単位であるが平均したうえ1mV単位に切り上げた。なお、塩橋の取扱いを注意しないと液間電位差が10mV以上も変動することがあります。

アミノ酸の定量値が100%を越えたものがあるが、それは水酸化ナトリウムを水溶液中でフタル酸水素カリウムで標定していることと、ブランクをとっていない点にあるので、正確に定量するためには同じ含水溶媒を使って同じ温度で標準アミノ酸で標定する必要があります。

また、有機溶媒を使っているので、温度による体積変化を避けるため通常の容量法ではなく重量法を用いたが、重量ビュレットと電子天秤に記録装置を併用したので迅速簡便に測定することができた。

標準液の1M水酸化ナトリウムの溶媒に水を使用したのは、反応速度を上げるためと、温度による体積変化を少なくするためである。その上ビュレットにはウォータージャケットをつけて25.0°Cの水を定温槽から流した。標準液が加わることによって生ずる希釈誤差は、試料溶液の50mlが滴定により1/2当量点および3/2当量点でそれぞれ50.5および51.5mlになるだけなので、起電力の値および溶媒中の含水量に及ぼす影響はまず無視することができます。

4. 結論

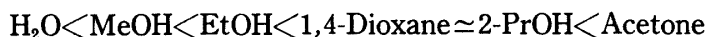
グリシン, α -アラニン, バリン, ロイシン, イソロイシン, メチオニン, フェニルアラニン, トリプトファン, セリンおよびスレオニン並びに β -アラニンをメタノール, エタノール, 2-プロパノール, アセトンまたは 1,4-ジオキサンを含む含水溶媒を使って電位差滴定をし, 二分の一当量点の電位を比較したところ, 溶媒中の水の重量パーセントが 50% になるまでは, 水の含量に逆比例してアミノ酸の酸性が強くなった。その原因はアミノ酸が双性イオンであるため解離によって正負イオン数に変化がないこと, 溶媒効果および溶媒和によるものと考えられる。50 w/w% 含水溶媒中における各アミノ酸の強さに及ぼす有機溶媒の影響は次の順であった。



セリン特にスレオニンが含水アセトン中でその酸性が強く現われた。それはアセトンが水素結合した水酸基とメチル基の I 効果と立体効果によるものと思われる。

含水溶媒の塩基性領域はアセトンが最も広く, 次いで 1,4-ジオキサン, 2-プロパノール, エタノールの順に狭くなり, メタノールは水より狭かった。それは以上挙げた順に溶媒自身の酸性が強まるのが原因と考えられる。

アミノ酸の滴定による電位の変化に及ぼす有機溶媒の影響は, 50 w/w% 含水溶媒を使った場合, 次の順に大きくなった。



文献

- 1) G. Charlot et B. Tremillon : "Les reactions chimiques dans les solvants et les sels fondus," 1963, Gauthier-Villars & Cie, Paris.
- 2) J.P. Greenstein and M. Winitz : "Chemistry of the Amino Acids," chapter 4, 1961, Johan Wiley & Sons, New York.
- 3) J.A. Riddick and W.B. Bunger : "Organic Solvents," 3 ed, 1970, Wiley-Interscience, New York.
- 4) 大脇久子, 石川玲子, 鹿島 哲 : 共立薬大年報, No. 25, 27 (1980)
- 5) 鹿島 哲, 小出裕子, 伊藤文子, 大矢公子, 河村倫子 : 同誌, No. 30, 15 (1985)
- 6) 鹿島 哲, 小出裕子, 井本美佐, 河村倫子 : 同誌, No. 31, 1 (1986)
- 7) A. Streitwieser, Jr. and C.H. Heathcock : "Introduction to Organic Chemistry," 2 ed, 1981, 29. Amino Acids, Peptides, and Protein, Macmillan, New York.
- 8) R.W. Gurney : "Ionic process in solution," 1953, Dover, New York.
- 9) E.A. Braude and E.S. Stern : J. Chem. Soc., 1948, 1976.
- 10) E.S. Amis and J.F. Hinton : "Solvent effects on chemical phenomena," Vol. 1, Chap. 4, 1973, Academic Press, New York.
- 11) R.G. Bates : Equilibrium properties of acids and bases in amphiprotic mixed solvent, "Hydrogen-bonded solvent systems," p. 49, edited by A.K. Covington and P. Jones, 1968, Taylor & Francis, London.
- 12) H.P. Bennetto and D. Feakins : Ionic solvation in dioxan-water mixtures, *ibid.*, p. 235.
- 13) 第十一改正 日本薬局方, 1986.