

# 生体電解物質の拡散の研究 (第1報)

—塩化ナトリウム溶液中での塩化アセチルコリンの拡散定数の決定—

熊 坂 繁 太 郎

## 1. は し き が

溶液中での生体物質の種々な性質、とくに分子・ミセルの大きさと形状を知る上で、拡散定数 (diffusion constant) を測定することは、きわめて有効な方法である。そのためこれまで各種のタンパク質の拡散定数について、多くの報告がだされている。しかし、それ以外の生体物質、とくに比較的分子量の物質の拡散定数に関する報告は少ないように思われる。

そこで筆者は生体物質で比較的分子量であるアセチルコリンに着目し、その安定形である塩化アセチルコリンの拡散を知るため、この物質の拡散定数を決定する実験を行った。

本稿をまとめるに当たって、日頃ご指導をいただいている仙台大学化学研究室の加藤京太教授、また東北大学永野為武教授のご校閲を得たことに対して、深甚の謝意を表すものである。

## 2. 実 験

### 2・1 実験上考慮したこと

主に拡散定数の測定から Elworthy (1951) は、ベンゼン中の phosphatidylcholine が低分子であり、数分子会合してある濃度に達すると、さらにそれが会合して数十の分子が層状会合体になることを結論している。<sup>1)</sup> さらに Elworthy (1964) は、拡散と粘度測定によって、phosphatidylcholine が、そのミセル内部に極性基をもち、溶媒にアルキル基をさらしているラミナー構造のあることを究明した。<sup>2)</sup>

ところで、筆者が研究対象とする塩化アセチルコリンは、荷電分子であるため、分子内の同種の電荷をもつ基と基の間の反撥がおこり、分

子間の異常な拡がり (電気泳動効果) を生ずる。<sup>3)</sup> また同時に、荷電分子と溶媒分子とによる電氣的二重層から、分散質の流れに対する抵抗 (緩和効果) がおこる<sup>3)</sup> こうした現象を防ぐ方法として、第一には水素イオン濃度の調整、第二には強電解質の塩を加えることが考えられるが、本実験では、強電解質としては塩化ナトリウムを加え、非電解質とみなし得るように調整した。したがって、塩化ナトリウム溶液を溶媒とする中での塩化アセチルコリンの拡散状態を調べることとしたのである。

もともと、この種の溶媒中で解離する電解質では、拡散現象を単に次式

$$J = nv = -D \nabla n \quad (1)$$

が成立するものとみなすことはできない。すなわち、 $J$ : 単位時間に単位面積を通して流れる分散質の量 (流束)、 $v$ : 速度、 $n$ : 単位体積中の分散質の量、 $D$ : 拡散係数としてである。

もちろんこのような物質系は、多成分系としてとりあつかわねばならないが、いま各成分がそれぞれ独立的で相互作用がないものとすれば、(1)式は成立し、全流量は、各量を加算して得られよう。しかし、一般的には Lamm (1947, 1957) Onsager (1955) によって示めされているように、各成分は相互に作用しあい一成分の化学的ポテンシャルの勾配は、他の成分の拡散に影響する。<sup>4), 5)</sup> したがって、このような場合には Fick の法則は適用できないことになる。電解質の拡散は一般にこれに対応したものであるように考えられている。<sup>6), 7)</sup> さらに、電解質の拡散現象は、各種正負イオン数と同数の自由度をもつのではなく、多成分系における各成分の活量係数の組成による変化のしかたに関する、“Gibbs-Duhem の関係による制限”

を考慮し、電気的中性の条件を満足する必要がある。<sup>3)</sup>

本実験は以上のことを考慮して、拡散係数の測定を妥当にする条件を満たして、塩化アセチルコリンの拡散定数を求めることにしたのである。

### 2・2 試料

塩化アセチルコリンは、市販1級を精製ベンゼン中で洗浄した。塩化ナトリウムは、市販特級を使用した。純水としては、イオン交換樹脂を通した脱イオン水を、2度蒸留精製したものをを用いた。調整した溶液・溶媒は、ガラスフィルターで3回濾過したものをを用いた。

### 2・3 測定方法および測定条件

実験装置はシュリーレンダイアゴナル法による HTB-2A 形日立チセリウス電気泳動装置に、HTB-2A 形チセリウス装置用拡散セルを用いた。恒温槽は、小松一ヤマトクールニックス CTR-1A を使用した。その他の使用器材は前報<sup>8)</sup>にしたがった。

測定方法および測定条件は、前報<sup>8)</sup>にしたがった。

### 2・4 拡散係数の算出

本実験の場合前実験<sup>8)</sup>と比較して理論的に異なる点は、溶媒に塩を含んでいることである。この点についての問題点は、後に考察する。しかし、このことは、拡散係数算出法について、ほとんど影響を与えない。

拡散係数  $D_A$ ,  $D_W$  は、

$$D_A = \frac{1}{4\pi t} \left( \frac{m_0}{H_{x=0}} \right)^2 \quad (2)$$

$$D_W = \frac{1}{2t} \frac{m_2}{m_0} \quad (3)$$

により求めたただし、 $m_0$  : 拡散曲線の面、 $m_2$  : 拡散曲線の2次の能率、 $H_{x=0}$  : 最初の界面の位置における拡散曲線の高さ、 $t$  : 拡散時間とする。また、拡散曲線の最初の界面  $x=0$  の位置の決定には、

$$\int_{-\infty}^{+\infty} xy dx = 0 \quad (4)$$

という性質を利用する。いま、任意の点  $b$  で(4)

式と同じ緩和を求めるとして、そのときの距離を  $x'$  とすると、 $x = x' - b$  である。これを(4)式に代入すると、

$$b = \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} x' y dx}{\int_{-\infty}^{+\infty} y dx} \quad (5)$$

の式が得られる。

## 3. 結果と考察

### 3・1 実験結果

図1は、拡散実験で撮影された写真の数例である。また表1は、この拡散曲線図により解析された結果のまとめである。

### 3・2 拡散定数算出の検討<sup>9), 10), 11), 12)</sup>

本実験は、溶液中に塩を添加した場合の拡散であるので、この理論的背景を考察しなければならない。溶液中で注目している電解質が、添加された塩と共通イオンをもった場合、3成分の拡散ということになる。このような場合が、もっとも単純な系と考えられるが、Lamm (1957)・Onsager (1955) らの理論的あつかいによると、一般的には(1)式であらわされる Fick の法則は成立しない<sup>4), 5)</sup> ことになる。そこで、いま  $i$  成分の流束  $J_i$  移動粒子に加えられる力を  $F$  とすると、その一般的関係は、

$$J_i = \sum_{k=2}^n m_{ik} F_k \quad (6)$$

で表わされる。 $m_{ik}$  は  $i$  と  $k$  との成分の間の電氣的抵抗で、 $m/c$  が易動度となりうる関数である。ここでの力は拡散の場合、熱力学的ポテンシャルの勾配と考えられるため、

$$F_k = -\nabla \mu_k \quad (7)$$

と表わされる。ただし、 $k$  を  $2, 3, \dots, n$  としたのは、溶媒に関する項  $k=1$  を除いたことを示す。そこで、(6)式より

$$J = -\sum_{k=2}^n m_{ik} \sum_{i=2}^n \left( \frac{\partial \mu_k}{\partial c_j} \right)_{T.P.C} \left( \frac{\partial c_j}{\partial x} \right)$$

を得る。したがって、拡散係数として、

$$D_{ij} = \sum_{k=2}^n m_{ik} \left( \frac{\partial \mu_k}{\partial c_i} \right)_{T.P.C} \quad (8)$$

とすれば、

$$J = \sum_{j=2}^n D_{ij} \frac{\partial c_j}{\partial x} \quad (9)$$

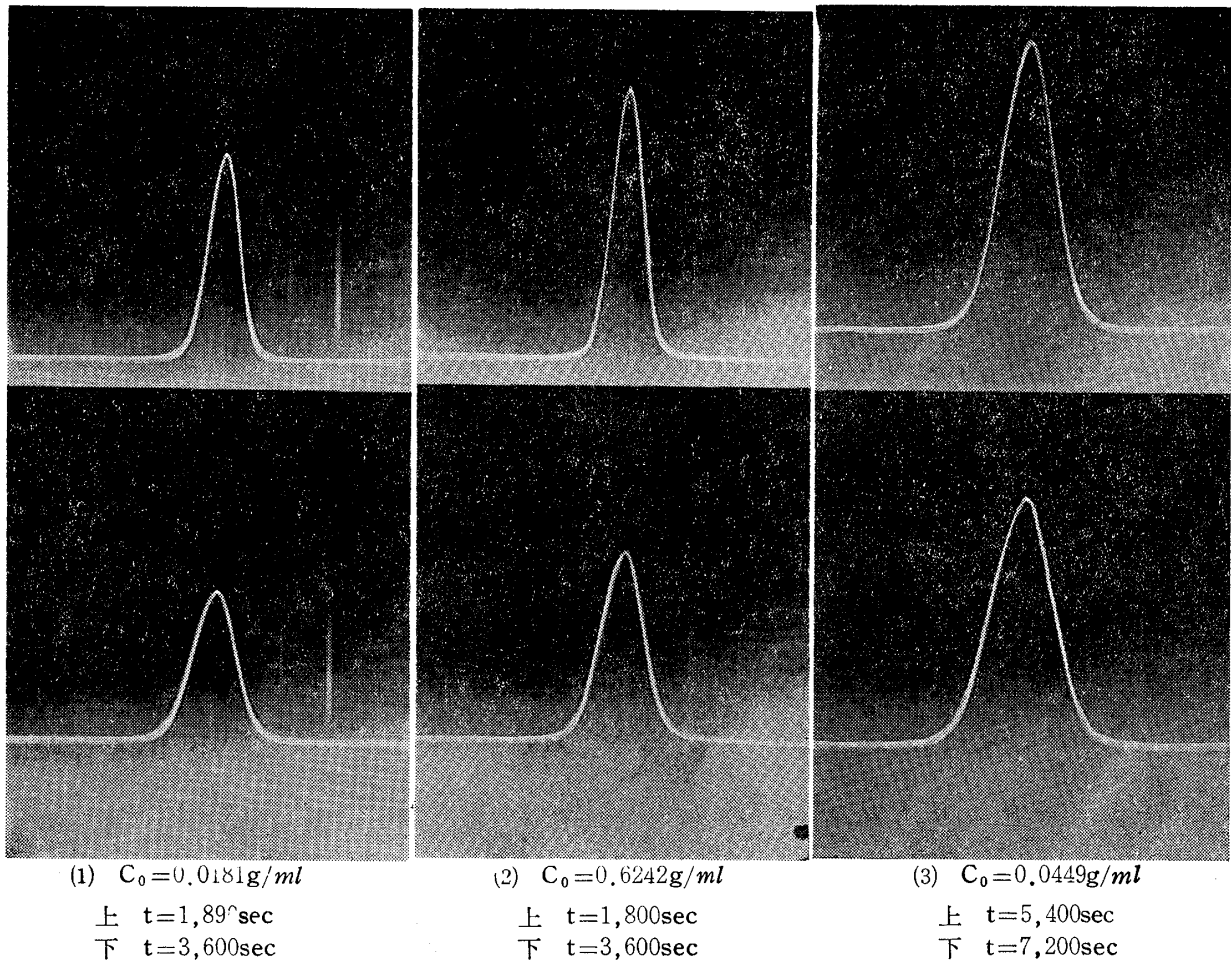


図 1 拡散撮影図

表 1 0.350規定塩化ナトリウム水溶液—塩化アセチルコリン系の拡散係数  
 測定温度  $(20.0 \pm 0.05)^\circ\text{C}$

$C_0(\text{g/ml})$	$t(\text{sec})$	$-b(\text{cm})$	$H_{x=0}(\text{cm})$	$H_{\text{max}}(\text{cm})$	$m_0$	$(m_0/H_{x=0})^2$	$m_2/m_0$	$D_A$	$D_w(\times 10^6\text{cm}^2/\text{sec})$	$\bar{D}_{AW}$
0.0181	1,890	0.0565	6.89	7.24	3.261	0.224	0.0332	9.24	8.91	$\Delta t_A=40$
	3,600	0.0545	4.95	5.01	3.075	0.387	0.0605	8.46	8.50	$\Delta t_w=-40$
	7,200	0.0597	4.13	4.23	3.708	0.806	0.1251	8.86	8.62	$\bar{D}_{AW}=8.77$
								$\bar{D}_A=8.85$	$\bar{D}_w=8.68$	
0.0242	3,600	0.0520	5.84	6.00	3.733	0.409	0.0615	8.50	8.18	$\Delta t_A=228$
	5,400	0.0939	4.00	4.02	3.904	0.598	0.0912	8.46	8.20	$\Delta t_w=159$
	9,000	0.0960	4.02	4.09	3.980	0.983	0.1501	8.48	8.19	$\bar{D}_{AW}=8.34$
								$\bar{D}_A=8.48$	$\bar{D}_w=8.19$	
0.0449	3,600	0.0791	7.01	7.44	4.447	0.402	0.0625	8.14	7.82	$\Delta t_A=330$
	9,000	0.0317	4.97	5.00	4.827	0.945	0.1488	8.06	7.92	$\Delta t_w=398$
	14,400	0.0607	3.73	3.77	4.564	1.501	0.2325	8.11	7.86	$\bar{D}_{AW}=7.99$
								$\bar{D}_A=8.10$	$\bar{D}_w=7.87$	

となる。(4)式中の偏微分の添字は、定温  $T$ ・定圧  $P$ ・他のイオン濃度  $C$  が一定であることを示している。1種類の注目している電解質(P)と他の電解質(S)と水との系での拡散において、この電解質の流束は(1)式より、

$$J = - \left( D_{PP} \frac{\partial C_P}{\partial x} + D_{PS} \frac{\partial C_S}{\partial x} \right) \quad (10)$$

となる。この物理的意味は、添加塩に濃度勾配が存在するとき、それによりこの電解質の拡散速度が、加速されるか減速されるかということである。本実験では添加塩の濃度が一定であるから、 $\partial C_S / \partial x = 0$  とおける。したがって、

$$J_P = - D_{PP} \frac{\partial C_P}{\partial x} \quad (11)$$

$$D_{PP} = m_{PP} \left( \frac{\partial \mu_P}{\partial C_P} \right)_{P.T.C} + m_{PS} \left( \frac{\partial \mu_S}{\partial C_P} \right)_{P.T.C} \quad (12)$$

となり(11)式は、広い意味で明らかに Fick の第一法則と解釈できよう。この場合の注目している電解質の周囲は、添加塩によるイオン雰囲気形成される。このことは、その電解質が希薄になっても同様であるため、その電解質と対電解質の電気泳動効果は大きくなる。

次に、 $\partial \mu_S / \partial C_P \approx 0$  について考えると、この場合いま注目している電解質は、極限希薄濃度となっても、添加塩存在のため、熱力学的に理想的に挙動することができない。したがって Onsager, Fuoss らにより誘導された電解質の拡散に関する式

$$D = RT \left( \frac{\bar{m}}{C} \right) \left( 1 + c \frac{\partial \ln \gamma_{\pm}}{\partial \ln C} \right) \quad (13)$$

において  $\frac{\partial \ln \gamma_{\pm}}{\partial \ln C} \approx 0$  であることが予想できる。

ただし、 $\left( \frac{\bar{m}}{C} \right)$ ; 全易動度,  $\gamma_{\pm}$ : 平均活量係数とする。

### 3・2・1 拡散時間の補正

本実験の拡散時間は、比較的短い(3時間以内)なので、これによる誤差は、(2)式および(3)式より、

$$t = \frac{1}{4\pi D_A} \left( \frac{m_0}{H_{max}} \right)^2, \quad t = \frac{1}{2D_W} \frac{m_2}{m_0}$$

と変形できる。この式から当然  $t$  と  $D$  とは、反比例的に影響を与えあう。 $t$  と  $(m_0/H_{max})^2$  と

の関係及び  $t$  と  $(m_2/m_0)$  との関係を直角座標系で表わせば、これは原点を通る直線となるはずである。しかし、本実験においてこの直線は、原点からはずれた直結となる。これは実験誤差が  $\sigma^2$ ,  $H_{x=0}$  の算出に影響を与えることによる。<sup>10)</sup> そこで、それぞれの直結が原点を通るよう補正すると、正しい値を得ることができよう。 $t$  と  $\sigma^2$  との座標系の誤差を  $\Delta t_w$ ,  $t$  と  $(m_0/H_{x=0})^2$  との座標系の誤差を  $\Delta t_A$  とし、これらを最小二乗法によって求めて、時間の補正をした。表1の  $D_A$ ,  $D_W$  は補正すべき  $\Delta t_A$ ,  $\Delta t_w$  を考慮して算出したものである。

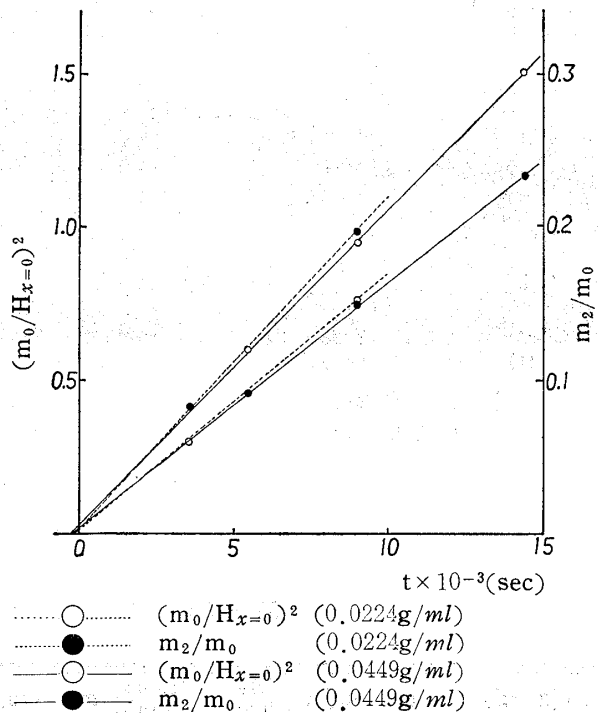


図2 塩化アセチルコリンの  $(m_0/H_{x=0})^2$  と  $t$  および  $m_2/m_0$  と  $t$  との関係

表2 Beckmann-Rosenberg の方法と桜田-細野の方法による数値の比較

$C_0$ (g/ml)	$\sqrt{C_0}$	${}^oD_{BR} \times 10^6$ cm <sup>2</sup> /sec	-k <sub>D</sub> BR	K	${}^oD_{AW} \times 10^6$ cm <sup>2</sup> /sec	-k <sub>D</sub> SH
0.0181	0.135	8.60	26.39			
0.0242	0.155	7.40	21.35	225.49	9.12	8.02
0.0449	0.212	8.15	8.57			

### 3・2・2 拡散係数と濃度依存性

本実験の拡散曲結(図1)は、任意の直角座標を設定した場合、明らかに溶液側に skew し

ている。溶質である塩化アセチルコリンと溶媒である塩化ナトリウム溶液との相互作用は、拡散速度と溶質の濃度との相互関係の結果として説明される。Onsager, Fuoss (1932, 1938) らは、1価-1価電解質の拡散係数Dについて、

$$D = 2000RT \left( \frac{\bar{m}}{c} \right) \left( 1 + c \frac{\partial \ln \bar{\gamma}_{\pm}}{\partial c} \right) \quad (14)$$

なる関係を見いだしている。<sup>14), 15)</sup> ただし、 $\frac{\bar{m}}{c}$ : 全易動度、 $\bar{\gamma}_{\pm}$ : 平均活量係数、R: 気体定数、T: 絶対温度とする。(6)式によれば、溶液の易動度は電気泳動効果として、また溶液の活量係数は熱力学的に濃度に依存することがわかる。

拡散定数を算出する場合、Beckmann-Rosenbergの方法では、1つの拡散曲線図から求められている。したがって、これは拡散状態を調べる方法としてすぐれている。すなわち、拡散曲線は、初濃度  $C_0$  から濃度 0 までの拡散状態を示めしているのです、この濃度範囲における拡散係数 (diffusion coefficient) の変化の状態を観察できよう。拡散曲線図からの算出法は、次のようになる。一方向への拡散のみの場合を考えれば、

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left( D \frac{\partial c}{\partial x} \right) \quad (15)$$

となるが、この式で  $z = xt^{-1/2}$  とおくと、濃度  $c$  は  $z$  のみの関数となるそれで、次の Boltzmann の拡散式<sup>17)</sup> が得られる。

$$Dc = -\frac{1}{2ty} \int_{-\infty}^{+\infty} xy dx \quad (16)$$

$Dc$  は、最初の界面より  $x$  なる距離における濃度  $C$

$$C = \frac{C_0}{m_0} \int_{-\infty}^x y dx, \quad m_0 = \int_{-\infty}^{+\infty} y dx \quad (17)$$

に対応した拡散係数になる。

図3, 図4, 図5の(1)(2)(3)の曲線は、添加塩の濃度を一定にして、塩化アセチルコリンの初濃度を変えて実験したものである。この曲線の傾向は、右下りのS字形をしているが、初濃度が高くなるにつれて、凸凹がなだらかになる。Beckmann Rosenbergは、高分子溶液中での拡散状態を次のように単純化している。

$$D_C = D_0(1 + k_D c) \quad (18)$$

ただし、 $D_C$ : 濃度  $C$  における拡散係数、 $D_0$ : 極限希釈濃度における拡散係数 (拡散定数)、 $k_D$ : 濃度依存係数とする。本実験では、低分子電解質であるため、かならずしも(18)式を満足しないが、これは一応の目安となるはずである。図3, 図4, 図5から、3種類の曲線より  $k_D$  を求めると、 $k_D$  は初濃度が高くなるにつれて大きくなる。図7より、初濃度の平方根と  $k_D$  とは、相関しているようである。高分子の電解物質の場合は、一定である。<sup>3)</sup> (18)式は、電気泳動効果の項を無視してあるので、この項が大きい場合、当然  $k_D$  は定数でなくなるであろう。さらに比較のため細野-桜田の方法<sup>17)</sup> によって、拡散定数を求めてみた。この場合の  $k_D$  は、前記と同様  $k_D > 1$  になり、(18)式が成立しないことがわかる。もし(18)式が成立するとしたならば、図1の拡散曲線は、さらに極端に skew するはずである。

### 3.3 実験結果の総括的検討

本実験は、シュリーレンダイアゴナル円筒レンズ法により、光学的に拡散像を求め解析しているが、測定・解析の過程でかなりの誤差が入りこんでくる。現在溶液中での拡散測定は、さ

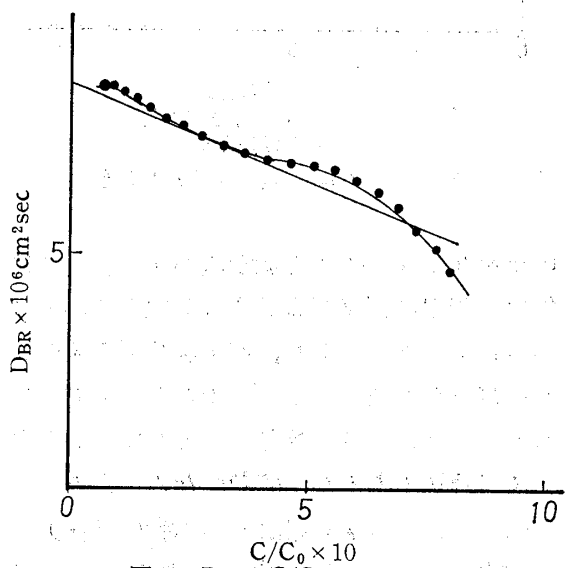
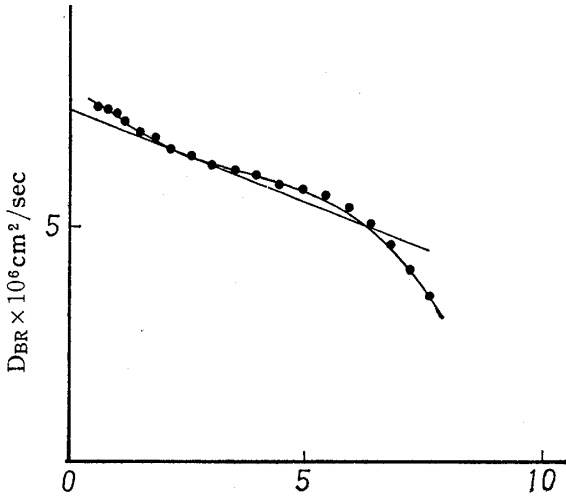
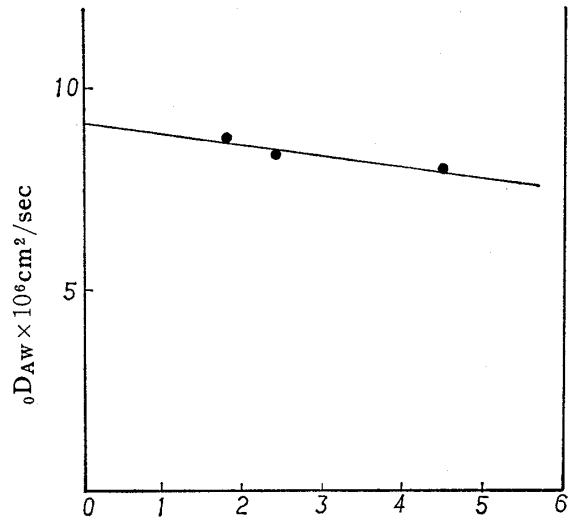


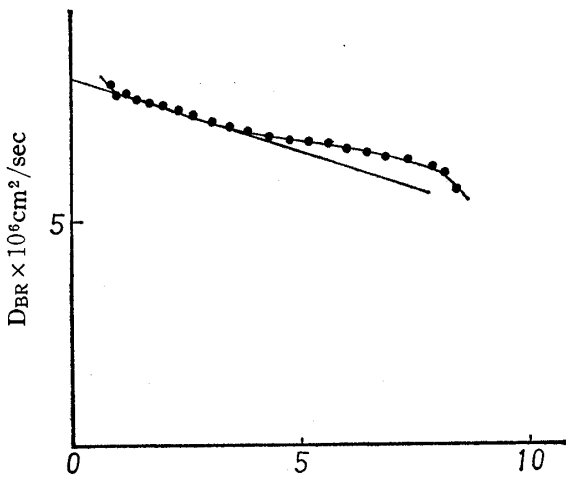
図3  $D_{BR}$  と  $C/C_0$  との関係  
 $C_0 = 0.0181 \text{g/ml}$   
 Beckmann-Rosenberg の方法による  
 拡散定数の決定法



$C_0 = 0.0422 \text{ g/ml}$   $C/C_0 \times 10$   
 図4  $D_{BR}$  と  $C/C_0$  との関係  
 Beckmann-Rosenberg の方法による  
 拡散定数の決定法



$C_0 \times 10^2 \text{ g/ml}$   
 図6  $C_0$  と  $D_{AW}$  との関係  
 細野-桜田の方法による拡散定数の決定法



$C/C_0 \times 10$   
 図5  $D_{BR}$  と  $C/C_0$  との関係  
 $C_0 = 0.0449 \text{ g/ml}$   
 Beckmann-Rosenberg の方法による  
 拡散定数の決定法

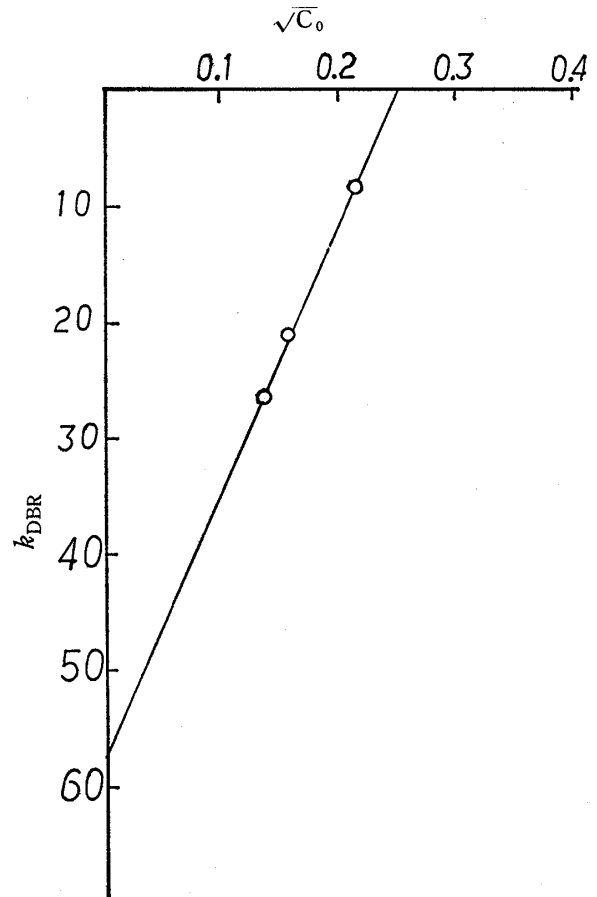


図7  $k_{D_{BR}}$  と  $\sqrt{C_0}$  との関係  
 $C_0$  ; 拡散実験の初濃度

らに精密な干渉法による測定法があり、とくに電解質の測定は、電気伝導度の測定とあわせて用いられている。しかし、本実験装置の場合、高濃度溶液を拡散させるうえでかなり有効と思われる。ただ、拡散定数算出法として、いかなる方法が適切であるかが問題になるであろう。表2によると、 ${}_0D_{AW}$  (桜田-細野の方法) と  ${}_0D_{BR}$  (Beckmann-Rosenberg の方法) とでは、かならずしも解析結果は一致していない。両者の濃度依存係数  $k_D$  が1より大であること

は、この物質について、これらの方法による解析がかならずしも妥当でないことを示めすであ

ろう。Beckmann-Rosenbergの方法は、元来、高分子溶液論の立場から(18)式を導いているので、本実験に使用した物質の場合に、当然ずれが予想されよう。

いま、この式がある意味で成立するものと考えると、 $k_{DBR}$ の値は、表2の値よりこれはむしろ各初濃度と何らかの相関があるように思える。 $k_{DBR}$ の値と $\sqrt{C_0}$ の値とを座標系で示めすと図7のようになる。図7によれば、 $k_{DBR}$ と $\sqrt{C_0}$ とは直線的相関を示めす。

いま、

$$k_D = A(\sqrt{C_0}) + B \quad (19)$$

が満足されるならば、(19)式を(18)に代入すると

$$D_C = D_0(A\sqrt{C_0}C + BC + 1) \quad (20)$$

となる。ただし  $C$ : Beckmann-Rosenbergの方法によって求められる濃度、 $D_C$ : 濃度  $C$  に対する拡散係数、 $D_0$ : 初濃度  $C_0$  の溶液の極限希薄濃度における拡散係数(とくにこれを拡散定数という)とする。

そこで、表2の  $k_{DBR}$  の値より、本実験における塩化アセチルコリンの拡散状態は、

$$D_C = D_0(225.49C\sqrt{C_0} - 57.50C + 1) \quad (21)$$

なる関係があるものと考えられる。このような関係は、電解質溶液系であることまたは、塩効果を考慮しているにもかかわらず拡散物質の濃度が高いために起る熱力学的効果によるものかどうかについては、今後の実験の集積を待って論じたい。

#### 4. 要 約

(1) 筆者は、塩化アセチルコリンの拡散定数を、初濃度  $0.0181\text{g/ml}$  から  $0.0449\text{g/ml}$  の範囲で、また、塩効果のために  $0.35$  モルの塩化ナトリウムを添加して測定した。この場合、添加塩濃度を一定にして測定した。

(2) それぞれの濃度の拡散係数は、Beckmann-Rosenbergの方法および細野-桜田の方法を用いて算出したが、 $k_D$ の値が著しく大きくなった。

(3) とくに Beckmann-Rosenbergの方法による濃度依存係数  $k_{DBR}$  は、初濃度の変化に

対応して変化することが明らかになった。すなわち、

$$D_C = D_0(AC\sqrt{C_0} + BC + 1)$$

で一般化でき、本実験の条件においては、

$$D_C = D_0(225.49C\sqrt{C_0} - 57.50C + 1)$$

が成立する。ただし、 $D_C$ : 濃度  $C$  に対する拡散係数、 $D_0$ : 初濃度  $C_0$  の溶液の極限希薄濃度における拡散係数(拡散定数)、 $A$ 、 $B$ : 物質によって定まる実験定数とする。

#### 参 考 文 献

- 1) Elworthy, P. H. ; *J. Chem. Soc.*, **1959**, 813 (1951).
- 2) Elworthy, P. H., D. S. McIntosh ; *J. Phys. Chem.*, **68**, 3448 (1964).
- 3) 細野正夫, 桜田一郎; *高化*, **16**, 395 (1959).
- 4) Lamm, O. ; *J. Phys. Chem.*, **51**, 1063 (1947), *ibid* **61**, 948 (1957).
- 5) Onsager, L. ; *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **46**, 241 (1955).
- 6) MacBain, J. W., G. R. Dawson ; *J. Amer. Chem. Soc.*, **56**, 52 (1934).
- 7) Baldwin, J. W., P. J. Dunlop, L. J. Gosting ; *J. Amer. Chem. Soc.*, **77**, 5238 (1955).
- 8) 熊坂繁太郎; *仙台大学紀要*, **4**, 11 (1972).
- 9) 細野正夫; *京都大学学位請求論文*, (1959).
- 10) Harned, H. S., B. B. Owen; *The Physical Chemistry of Electrolytic Solutions*, 118 (1958).
- 11) Groot, S. R. de; *Thermodynamics of Irreversible Processes*, (1952).
- 12) Petter, L. ; *J. Chem. Phys.*, **20**, 415 (1958).
- 13) Onsager, L., R. M. Fuoss ; *J. Phys. Chem.*, **36**, 2689 (1932).
- 14) Onsager, L., R. M. Fuoss ; *J. Phys. Chem.*, **51**, 158 (1938).
- 15) Beckmann, C. O., Rosenber; *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **46**, 329 (1945).
- 16) Boltzmann, L.; *Ann. d. phys.*, **53**, 955 (1894).
- 17) 細野正夫, 桜田一郎; *高化*, **10**, 76 (1952).

## Studies on the Diffusion of the Electrolytes in Organism( I )

— Determination of the Diffusion Constants of  
Acetylcholine Chloride in NaCl Solution—

Shigetarô KUMASAKA

The diffusion constants of acetylcholine chloride in NaCl solution have been investigated in order to examine the behavior of the electrolytes in organism. The diffusion coefficients of this solution were measured in the initial concentration of 0.0181 g/ml, 0.0242g/ml and 0.0449g/ml by the method of Schlieren diagonal cylindrical lense. The amount of sodium chloride added for the salt-effect in the solution was kept at constant throughout these experiments.

The diffusion coefficients were calculated by the methods developed by Beckmann-Rosenberg and Hosono-Sakurada. As the results of calculation by those methods, the absolute values of the coefficients of concentration dependence,  $|k_D|$ , were remarkably large; the values were 7.2, 16.3 and 22.4.

The efficiency of Beckmann-Rosenberg's formula

$$D_c = D_0 (1 + k_D C)$$

might be required to satisfy the condition where  $k_D$  is within one.

It became clear that the coefficients of concentration dependence,  $k_{DBR}$  of acetylcholine chloride calculated by the method of Beckmann-Rosenberg corresponded to the initial concentration, although those of highly polymerised electrolytic compounds did not.

Therefore, according to this experiment, Beckmann-Rosenberg's formula should be developed as the following generalized formula;

$$D_c = D_0 (AC \sqrt{C_0} + BC + 1)$$

and the concrete formula became

$$D_c = D_0 (225.49C \sqrt{C_0} - 57.50C + 1)$$

where  $D_c$  was the diffusion coefficient on the concentration  $C$  which was calculated by Beckmann-Rosenberg's formula,  $D_0$  was the diffusion coefficient of the limiting dilute concentration in the initial concentration  $C_0$  and the symbol  $A$  and  $B$  are the experimental constant.