

親水コロイドの塩析

北海道旭川東高等学校化学部

2年 荘司 吏温 辻 優悟朗 山口 敦也

古屋 芳恭 松本 拓樹

1. 概要

電解質の塩析させる力を比較した。陰イオンは SO_4^{2-} が圧倒的に塩析させる力が強かった。陽イオンの塩析させる力は、デンプンでは $\text{Al}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{NH}_4^+$ と電荷密度の順に、ゼラチンでは $\text{Na}^+ > \text{Al}^{3+} \approx \text{NH}_4^+ > \text{Mg}^{2+}$ の順になった。温度が高いほど塩析が起こりにくくなった。親水コロイド水溶液に電解質を一気に加えてから攪拌すると、デンプンでは塩析しやすくなった。これは、電解質濃度が高い部分でデンプンが集合し、見かけの分子量が大きくなることで、分子間にはたらくファンデルワールス力が大きくなり、塩析が起こりやすくなったと考えられる。TLC と浸透圧測定を行ったところ、見かけの分子量が大きくなっていることを示唆する結果が得られた。

2. はじめに

塩析は、豆腐作りなど私たちの身近なところに利用されている。タンパク質の塩析については、イオンの塩析させる力の強さの順が、ホフマイスター系列として示されているが、そのメカニズムは詳しく解明されていない¹⁾。また、デンプンを塩析させる研究はあまり行われていない。そこで、デンプンとタンパク質の塩析の違いを比較し、塩析のメカニズムを解明するために研究を行った。

3. 実験方法

実験1 塩析がおこる電解質を調べる

イオン当量濃度 3.5 Eq/L の電解質水溶液 6 mL を 0.2 g/mL デンプン水溶液 1 mL に加え、混合後の電解質濃度を 3.0 Eq/L にした。その後、常温で1日放置し、塩析の有無を確認した。塩析には電解質の電荷が関係するので、イオン当量濃度が等しい溶液で比較した。

イオン当量 $[\text{Eq}] = \text{物質質量} [\text{mol}] \times \text{電荷}$



実験2 陽イオンの塩析させる力の比較

0.2 g/mL デンプン水溶液または 0.1 g/mL ゼラチン水溶液 1 mL に、水と 3.5 Eq/L 電解質水溶液を溶液の体積が 7 mL になるように加え、混合後の電解質濃度を $3.0 \sim 1.0 \text{ Eq/L}$ にした。その溶液を $35 \text{ }^\circ\text{C}$ に保って1日放置した。電解質は、 Na_2SO_4 , MgSO_4 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を用いた。

実験3 温度による塩析の様子の変化

温度を常温、 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ で塩析させ、違いを比較した。

実験4 電解質水溶液の加え方による塩析の違い

次の2つの方法の塩析の違いを比較した。

- ① スターラーで親水コロイド溶液を攪拌しながらビュレットで電解質水溶液を加える。
- ② メスピペットで電解質水溶液を一気に加え、その後試験管を振り混ぜ、均一にする。

実験5 電解質によるデンプンの分子量の変化

I 薄層クロマトグラフィー(TLC)による比較

① 展開溶媒の検討

TLC を用いてデンプン水溶液を展開し、デンプンの展開に最適な溶媒を探す。デンプンのスポットは、ヨウ素のメタノール溶液を入れた密閉容器中で呈色させ確認した。

② TLC による展開

0.001 g/mL デンプン溶液 3 mL に 3.5 Eq/L の Na_2SO_4 または MgSO_4 水溶液を 4 mL 加え、混合後の電解質濃度を 2.0 Eq/L にした溶液とデンプン水溶液を TLC で展開し、 R_f 値を比較した。溶媒は水-メタノール(1:2)混合溶媒を用いた。

II 浸透圧による見かけの分子量の測定

①~④の溶液を自作の浸透圧測定の装置(図1)に入れて1日放置し、溶液柱の水面からの高さを測り、①~③のデンプンの見かけの分子量を計算した。②は Na_2SO_4 の影響を排除するため、④の溶液柱の高さを引いた値を用いた。

- ① 0.2 g/mL デンプン水溶液 3 mL+水 4 mL
 - ② 0.2 g/mL デンプン水溶液 3 mL+水 1 mL+
3.5 Eq/L Na₂SO₄水溶液 3 mL(混合後 1.5 Eq/L)
 - ③ ②を 1.5 Eq/L Na₂SO₄水溶液に浸ける
 - ④ 1.5 Eq/L Na₂SO₄水溶液 7 mL
- ①, ②, ④は蒸留水に浸けた

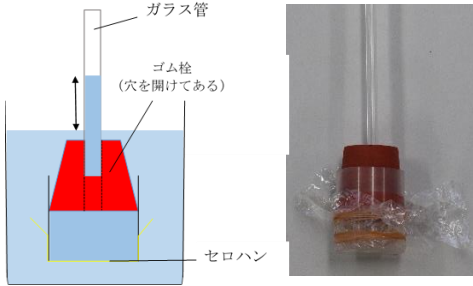


図1 浸透圧測定用装置

4. 結果

実験1 塩析が起こる電解質を調べる

塩析(白濁)がした電解質は Na₂SO₄, MgSO₄, Al₂(SO₄)₃, (NH₄)₂SO₄ だけであった。塩析しなかった電解質は, KSCN, KI, KBr, NaBr, CH₃COONa, CH₃COONH₄, Na₂S₂O₃, Al(NO₃)₃, CuSO₄, NiSO₄, Fe₂(SO₄)₃, NaCl, MgCl₂, AlCl₃, Fe(NO₃)₃ であった。

実験2 陽イオンの塩析させる力の比較

結果は表1・表2のようになった。塩析結果を図2のように表すと、塩析させる力は強い順に、次のようになった。

デンプン水溶液の場合 Al³⁺>Mg²⁺>Na⁺>NH₄⁺

ゼラチン水溶液の場合 Na⁺>Al³⁺≒NH₄⁺>Mg²⁺



◎:沈殿 ○:濃い白濁 △:薄い白濁 ×:なし

図2 塩析結果の表し方

表1 デンプンの塩析

電解質	イオン当量濃度(Eq/L)				
	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0
Na ₂ SO ₄	◎	△	×	×	-
MgSO ₄	◎	◎	△・×	-	-
Al ₂ (SO ₄) ₃	-	◎	◎・△	△・×	△
(NH ₄) ₂ SO ₄	×	×	×	-	-

表2 ゼラチンの塩析

電解質	イオン当量濃度(Eq/L)				
	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0
Na ₂ SO ₄	-	-	◎	◎	×
MgSO ₄	◎	◎・○	×	-	-
Al ₂ (SO ₄) ₃	-	◎	◎	×	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	◎	◎	×	-

実験3 温度による塩析の様子の変化

デンプン水溶液とゼラチン水溶液どちらも温度が高いほど塩析が起こりにくくなった。

実験4 電解質の加え方による塩析の違い

デンプンの場合、①水溶液を攪拌しながら電解質を加えた方が塩析は起こりにくかった。ゼラチンの場合は、加え方による結果に大きな違いは見られなかった。

実験5 電解質によるデンプンの分子量の変化

I 薄層クロマトグラフィー(TLC)による比較

①展開溶媒の検討

デンプンが展開した溶媒を混合し、実験した結果、水-メタノール(1:2)混合溶媒がデンプンの展開に最も適していると判断した。

②TLC による展開

Rf 値を表3に示す。図3に、デンプンのスポット(左側)と MgSO₄を加えた溶液のスポット(右側)を示す。デンプンのみと比べ、Na₂SO₄を加えた場合は大きな違いは見られなかったが、MgSO₄を加えると Rf 値が小さくなった。

表3 TLC による比較

電解質	なし	Na ₂ SO ₄	MgSO ₄
Rf 値	0.77	0.69	0.35



図3 TLCの様子

II 浸透圧による見かけの分子量の測定

ばらつきはあるが、電解質を加えると、表4のようにデンプンの見かけの分子量は大きくなった。

表4 浸透圧による比較

電解質	浸す溶液	見かけの分子量(×10 ⁵)			
		1回目	2回目	3回目	4回目
①なし	水	1.6	1.6	2.3	8.7
②Na ₂ SO ₄	水	27	4.7	6.4	
③Na ₂ SO ₄	Na ₂ SO ₄	2.9	5.7	3.7	7.4

5. 考察

実験1 塩析がおこる電解質を調べる

SO_4^{2-} は他の陰イオンに比べて、圧倒的に塩析させる力が強いのは、ホフマイスター系列と一致する。塩析させる強さは明らかに、 $\text{SO}_4^{2-} \gg \text{Cl}^-$ であったのは、 SO_4^{2-} の水和熱は Cl^- の3倍以上であるため、水分子との結合の強さが塩析させる力に深く関係していると考えている。また、 SO_4^{2-} と Cl^- に比べ Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} の塩析に与える影響は小さく、陰イオンは陽イオンよりも塩析に与える影響が大きいことがわかる。これは、水分子の強い電子対受容性のため、陰イオンがより強く水和する²⁾ためだと思われる。

実験2 陽イオンの塩析させる力の比較

デンプンでは塩析させる力の順は $\text{Al}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{NH}_4^+$ となり、ホフマイスター系列と逆の結果を示した。これは、イオンの電荷密度の順であり、電荷密度が大きいほどより大きい水和殻を形成するため、デンプンから水和水を奪いやすいからだと考えられる。デンプンは荷電していないので、タンパク質とは異なる結果になったと思われる。ゼラチンでは $\text{Na}^+ > \text{Al}^{3+} \approx \text{NH}_4^+ > \text{Mg}^{2+}$ の順となり、ホフマイスター系列とは NH_4^+ の位置が異なった。 NH_4^+ は、塩析させる最小濃度は Na^+ よりも大きかったが、塩析したときは多量のゼラチンが沈殿しており、塩析力の評価方法の違いもあるかもしれないと感じている。 Na^+ や NH_4^+ は価数が小さい分溶液中の粒子数が多いため、ゼラチンの荷電による静電的反発力の遮蔽になるため、塩析させる力が強いと考えている。

実験3 温度による塩析の様子の変化

温度が高いと水分子の熱運動が激しくなり、親水コロイドが集合しにくいため塩析が起こりづらと考えられる。

実験4 電解質の加え方による塩析の違い

電解質水溶液を一気に加え、その後攪拌すると、濃度が高い部分で目に見えないレベルでデンプンが集合し、見かけの分子量が大きくなることで塩析が起こりやすくなると考え、実験を行った。ゼラチンでは結果に違いが出なかった。ゼラチンは静電的反発力により凝集しにくいものと思われる。

実験5 電解質によるデンプンの分子量の変化

実際に電解質により、デンプンが集合し、見かけの分子量が大きくなることを確認するためにこの実験を行った。

I 薄層クロマトグラフィー(TLC)による比較

MgSO_4 水溶液を加えるとRf値が小さくなったことから、デンプンの見かけの分子量が大きくなり、溶媒とともに上昇しづらくなったと思われる。

II 浸透圧による見かけの分子量の測定

データにばらつきがあり、正確な測定ができなかったため今後検証する必要があるが、 Na_2SO_4 水溶液を加えると見かけの分子量が大きくなる傾向が見られた。

6. まとめ

陽イオンのデンプンを塩析させる力はホフマイスター系列と異なり、 $\text{Al}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{NH}_4^+$ と電荷密度の順になった。温度が高いほど塩析は起こりにくくなった。デンプン溶液に電解質を一気に加えると塩析が起こりやすくなる。これは、濃度が大きいところでデンプンが目に見えないレベルで集合し、見かけの分子量が大きくなったからと思われる。

7. 後の展望

デンプンはタンパク質と違い、電荷を持たず、変性も起こらないため、塩析のメカニズムを調べるのに非常に良い研究対象であると考えている。デンプンの研究を深めて塩析のメカニズムを解明したい。

8. 受賞に当たって

今回は日本化学会北海道支部研究奨励賞を頂き、ありがとうございました。塩析の評価の仕方など苦労した点もありましたが、その努力が評価され大変嬉しく思います。これを励みにさらに研究を進めていきたいと思っております。

9. 参考文献

- 1)タンパク質の凝集剤としての塩・有機溶媒・高分子, 吉澤俊祐, 生物工学, 93, 260-263 (2015)
- 2)イオンの水和, 大瀧仁志, 共立出版, 33 (1995)