

吸光度測定による塩析力の定量化

北海道旭川東高等学校 化学部
2年 田口 涼 細井 惇暉



1. 概要

有色の疎水コロイドである $\text{Fe}(\text{OH})_3$ をデンプンに加えると、デンプンが保護コロイドとしてはたらかず、塩析によって $\text{Fe}(\text{OH})_3$ と一緒に沈殿するようになる。このことを利用して、吸光度でデンプンの塩析を定量化することを試みた。電解質を加えて1日放置した溶液の上澄みの吸光度を測定することで塩析に必要な電解質の最低濃度を測定できた。しかし、溶液中に濁りが生じ、吸光度が大きくなる濃度があり、塩析したデンプンの割合は測定できなかった。溶液を8日放置すると発生した濁りが凝集して沈殿するため、吸光度で、塩析した割合を求めることができた。

2. はじめに

タンパク質の塩析についてはホフマイスターによって研究され、イオンの塩析させる力の強さの順はホフマイスター系列として示されているが、デンプンの塩析についての研究はあまり行われていない。そこで、デンプンの塩析について研究を始めた。2019年度の研究¹⁾で、電解質のデンプンを塩析させる力の強さが、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 > \text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4$ であることが分かった。しかし、塩析によって沈殿した量を目視で判断していたので、客観的な比較ができていないという課題があった(図1)。そこで、デンプンの塩析を定量的に評価することを目的に研究を行うことにした。しかし、沈殿したデンプンの質量を測定して塩析量を評価するのは難しい。

有色の疎水コロイドである $\text{Fe}(\text{OH})_3$ を加えるとデンプンが保護コロイドとしてはたらかず、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ コロイドを取り囲むので、デンプンを塩析させることで $\text{Fe}(\text{OH})_3$ コロイドも一緒に沈殿する。そこで、溶液中の $\text{Fe}(\text{OH})_3$ の吸光度を測定することで比較的簡易にデンプンの塩析を定量的に評価することができるのではないかと考え、研究を行った。



図1 デンプンの塩析の様子

少しだけ沈殿したものと、濃い濁りが生じているものでは、どちらの方が多く沈殿しているか判別が難しい。

3. 実験と結果・考察

実験1 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ の濃度と吸光度の関係

[方法] 2.0mol/Lの FeCl_3 水溶液2mLを70mL程度の沸騰した水に加えた。生じた $\text{Fe}(\text{OH})_3$ コロイド溶液に水を加え全体を100mLにして透析した。透析後の $\text{Fe}(\text{OH})_3$ コロイド溶液の濃度を正確に求めることはできないので、透析後の溶液を10倍に薄めたものの濃度を1とし、その溶液を様々な濃度に薄め、吸光度と濃度比の関係を調べた。波長は、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ コロイドの最大吸収波長である370nmにした。

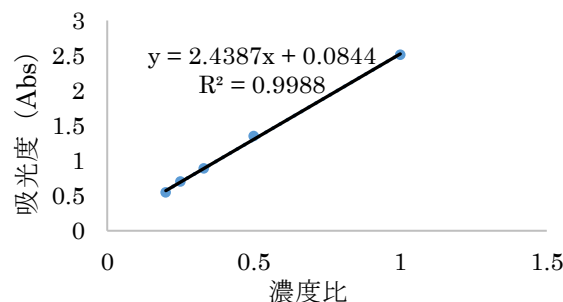


図2 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ の吸光度の検量線

[結果] $\text{Fe}(\text{OH})_3$ の吸光度は濃度に比例する。また、 $R^2 = 0.9988$ と線形性が良好であった(図2)。

[考察] この結果から、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ コロイドの相対的な濃度は、吸光度によって正確に測定できることがわかる。従って、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ の保護コロイドとしてはたらいっているデンプンの沈殿量は、塩析させた溶液の上澄みの吸光度を測定することで、正確に求めることができると考えられる。

実験2 吸光度による電解質の塩析力の比較

[方法] 5%デンプン水溶液0.5mLに $\text{Fe}(\text{OH})_3$ コロイド溶液0.5mLを加え、さらに4.0Eq/L電解質水溶液と水を全体の体積が4mLになるように加え、混合後の電解質濃度が0.5~3.0Eq/Lになるようにした。その溶液を室温で一日放置してろ過し、波長370nmで吸光度測定を行った。 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} の塩析力を比較するために、電解質として Na_2SO_4 、 MgSO_4 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ を用いた。

なお、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(Eq:イクイバレント)は次式で表される。イオン当量 [Eq] = 物質質量 [mol] × 電荷

【結果】 Na_2SO_4 と MgSO_4 は、2.5Eq/L で濁り、3.0Eq/L で沈殿が生じており、2.5Eq/L 以上の濃度で塩析がおこっている。 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ は2.0Eq/L 以上の濃度で塩析がおこり、沈殿が生じている (図3)。吸光度測定では、濁っているものは吸光度が上昇し、沈殿しているものは吸光度が大きく低下している (図4)。デンプンを塩析させるのに必要な電解質の最低濃度は、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ がもっとも低く、 Al^{3+} の塩析力が最も強いことがわかる。 Na^+ と Mg^{2+} の塩析力は同じであった。吸光度から、3.0Eq/L での塩析した割合を求めると、 Na^+ は65%、 Mg^{2+} は74%、 Al^{3+} は82%であった。

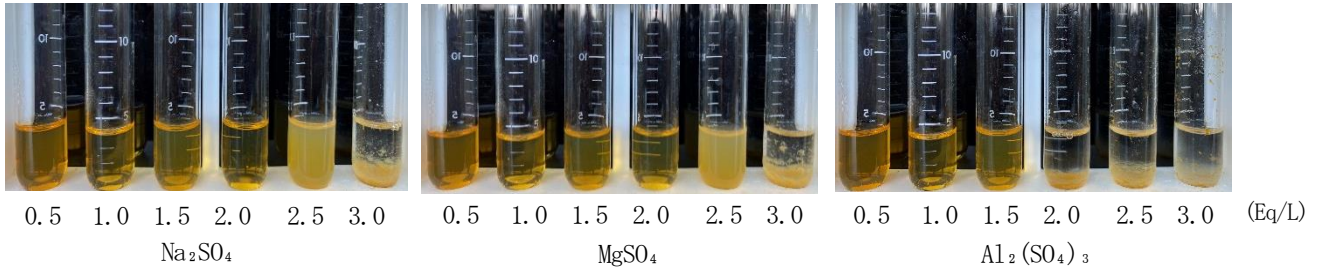


図3 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ の保護コロイドとしてはたらくデンプンの塩析の様子

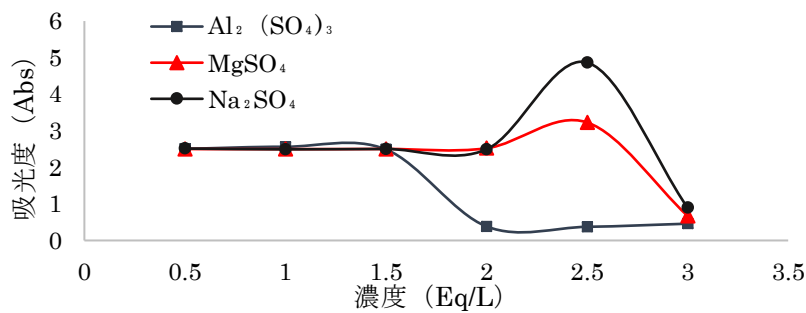


図4 上澄みの吸光度

【考察】 Na_2SO_4 と MgSO_4 の2.5Eq/L での吸光度の上昇は、ろ液が濁っていたことから、塩析によって凝集したコロイド粒子が小さいため、ろ紙の目を通り抜けてしまい、凝集したコロイド粒子が光を遮るためと考えられる。沈殿すると吸光度が大きく低下する。吸光度が上昇または低下したことによって、塩析がおこっていることがわかる。したがって、塩析に必要な電解質の最低濃度は、吸光度で判断できる。 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} で Al^{3+} が最も塩析力が強いという結果は、2019年の研究と同じであった。沈殿しているものについては塩析量を計算できたが、濁っているものについては吸光度が上昇するため、塩析量を計算することはできない。

実験3 吸光度測定における濃度の細分化

Na_2SO_4 と MgSO_4 の塩析力を比較できなかったため、塩析が生じ始める濃度の前後で、濃度を細かく変化させて測定し、その塩析力の強さを比較しようと試みた。

【方法】 5%デンプン水溶液0.5mL に $\text{Fe}(\text{OH})_3$ コロイド溶液0.5mL を加えて、さらに4.0Eq/L 電解質水溶液と水を溶液の体積が4mL になるように加え、混合後の電解質濃度を0.5~3.0Eq/L にした。実験2で濁りや沈殿が生じ始めた濃度の周辺は、濃度を0.1Eq/L ずつ変化させた。その溶液を室温で一日放置してろ過し、波長370nm で吸光度測定を行った。

【結果】 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ は1.7Eq/L から、 MgSO_4 は2.3Eq/L から、 Na_2SO_4 は2.5Eq/L から塩析が起こり始めた (図5)。また、塩析が起こり始めたときは沈殿ではなく、濁りが生じ吸光度が上昇した。

【考察】 濃度を細かく変化させることで、 Mg^{2+} の方が Na^+ よりも塩析力が強い (塩析させるのに必要な電解質の最小濃度が小さい) ことがわかった。この結果は2019年の研究と一致する。どの電解質で塩析させた場合でも、塩析の起こり始めは凝集したコロイド粒子が小さく、濁りとなって現れ、吸光度が増加することがわかる。

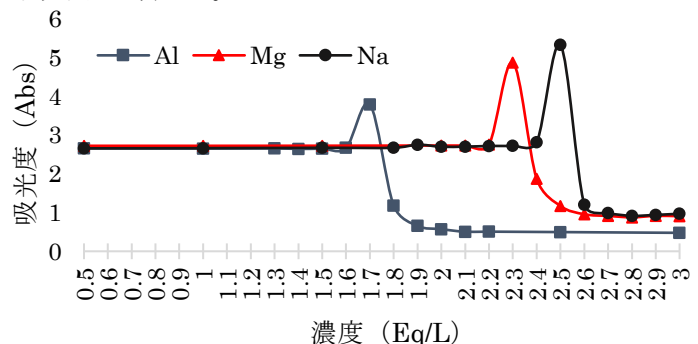


図5 濃度を細分化した溶液の吸光度

実験4 塩析で濁った溶液の吸光度の時間変化

塩析によって濁った溶液は、その濁りによって吸光度が上昇してしまうため、正確に塩析量を測定することはできない。そこで、濁った溶液を放置し続けることでコロイド粒子が沈殿し、塩析量を正確に評価できるようになるのではないかと考え、まず吸光度の時間変化を調べた。

【方法】 実験2で吸光度が上昇した濃度でそれぞれの電解質で塩析させ、一日ごとに上澄みだけを取り出して370nmの吸光度を測定した。コロイド粒子が完全に沈殿するまでの日数を調べた。

【結果】 時間経過につれて、上澄みの吸光度は下降した(図6)。7日目以降は吸光度の変化が小さい。

【考察】 放置する日数が長いほど、コロイド粒子が凝集し、沈殿する。7日間以上放置することで濁った溶液中のコロイド粒子が沈殿する。

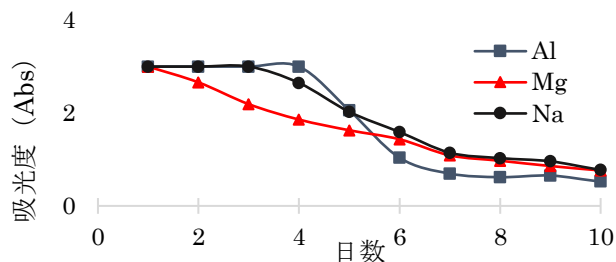


図6 濁った溶液の吸光度の時間変化

実験5 電解質を加えて8日後の吸光度

【方法】 実験3と同様に塩析させ、その溶液を室温で放置し、8日後に吸光度を測定した。

【結果】 濁りによる吸光度上昇がなかった(図7)。塩析が起こり始める濃度は $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ が1.6Eq/L、 MgSO_4 が2.2Eq/L、 Na_2SO_4 が2.4Eq/Lであり、塩析させる力の強さは、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 > \text{MgSO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4$ であった。塩析量は、塩析が起こったすべての濃度で計算することができ、例えば、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ は1.6Eq/Lで58%であった。

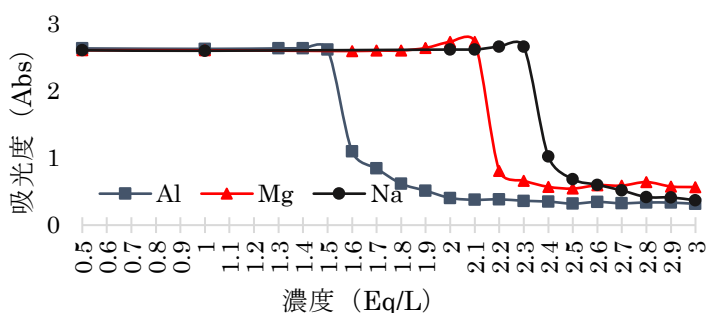


図7 電解質を加えて8日後の溶液の吸光度

【考察】 塩析が起こり始める濃度は実験3と0.1Eq/Lの誤差はあるが、ほぼ同じ値になった。電解質を加えてから、吸光度を測定するまでの日数を変化させても、塩析を起こす最低濃度は変化しない。したがって、塩析力つまり塩析に必要な電解質の最低濃度の測定は、電解質を加えてから8日放置して完全に沈殿させる必要はなく、1日放置しただけで測定できる。8日放置すると、濁りが完全に沈殿するので、塩析量つまり凝集し沈殿したデンプンの割合を計算することができるようになる。塩析を起こす最低濃度で塩析力を比較すると、電解質の塩析力は、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ は Na_2SO_4 の1.5倍、 MgSO_4 は Na_2SO_4 の1.1倍であった。

4. まとめ

デンプンに $\text{Fe}(\text{OH})_3$ コロイドを加え、保護コロイドとしてはたらいっているデンプンを塩析させることによって、吸光度でデンプンの塩析を定量的に評価することができる。塩析力つまり塩析させる電解質の最低濃度は、電解質を加えてから1日後の溶液の吸光度を測定することによって求められる。また、塩析量つまり凝集し沈殿したデンプンの割合は、電解質を加えて8日後の吸光度を測定することによって求められる。塩析したデンプンの質量測定は難しいが、吸光度測定によって簡易にデンプンの塩析を定量化することができた。

5. 今後の展望

塩析したデンプンの沈殿量を正確に求める方法を模索し、吸光度の結果と比較していきたい。

6. 受賞にあたって

今回は日本化学会北海道支部研究奨励賞を頂き、誠にありがとうございます。試行錯誤を重ねてきた結果が評価されて、とても嬉しいです。この受賞を励みに、さらに正確に塩析を定量化できるよう研究を進めていきたいです。

7. 参考文献

1) 北海道旭川東高等学校化学部、「親水コロイドの塩析」、第58回全道高等学校理科研究発表大会(2019)