ゼラチンゲルを用いた金属イオンの電気泳動

5年B組 徳田 悠人 指導教員 松浦 紀之

1. 概要

ゼラチンゲル上で銅(Π)イオン Cu^{2+} と鉄(Π)イオン Fe^{3+} の電気泳動を行い,移動距離の比較を行った。実験の結果は価数の小さな Cu^{2+} の方が移動距離が長く,イオン価数の大きい方がより大きく移動するという予想に反するものだった。支持体として用いたゼラチンとアガロースで同様の結果が得られたことから,これらの支持体の化学構造中の置換基が金属イオンに配位して,電気泳動による移動に影響を及ぼしているのではないかと考えた。

キーワード 電気泳動 ゼラチン 金属イオン 移動距離

2. 研究の背景と目的

中学校の理科の教科書には, ろ紙上で塩 化銅(Ⅱ)水溶液に電圧をかけて変化の様子 を観察する実験が掲載されているり。また、 授業でイオンの電荷について学習した際, ユニバーサル試験紙を用いた水素イオンH+ と水酸化物イオン OH-の移動の実験を行っ た。これらの実験より、イオンの移動につ いて興味を持った。そこで昨年度、有色の 金属イオンの電気泳動実験を行った 2)。こ こでは、トリスー酢酸-EDTA バッファー (TAE バッファー) ³⁾を緩衝液として用い て硝酸銅(Ⅱ)および硝酸鉄(Ⅲ)水溶液の アガロースゲル電気泳動を行った。その 結果, 予想に反して金属イオンの価数が 小さい硝酸銅(Ⅱ)の方が大きく移動する という結果が得られた。この原因として, 支持体であるアガロース 4の化学的性質 が関与しているのではないと考えた。他 の支持体を用いた場合には, どのような 結果になるか興味を持ち,実験により確 かめた。

3. 実験

試薬は市販のものをそのまま用いた。 電源装置は Nakamura PS-5000N を用い た。ステンレス板は、厚さ 2 mm のものを 用いた。

(1) 金属イオン(Cu²⁺, Fe³⁺) の電気泳動

200 mL ビーカーに蒸留水 100 mL と硝 酸カリウム KNO₃ 1.0 g, ゼラチン ⁵⁾4.0 g を入れた。ガスバーナーで加熱すること で溶液を沸騰させて完全に溶かした。こ れを 40℃まで冷却後, 2 個のプラスチッ ク製の容器 (7 cm×7 cm×2.7 cm) に流し 入れ,冷蔵庫内(4℃)で一晩冷却するこ とで固化させた(この固化させたシート 状のゼラチンを, ゼラチンシートと呼ぶ)。 ゼラチンシートを 2 枚準備して, これら のシートにストロー (φ6 mm) を用いて 直線上に3つ穴をあけた。それぞれのシ ートの 3 つ穴には, 0.50 mol/L 硝酸銅 (II) Cu(NO₃)₂水溶液, 0.25 mol/L Cu(NO₃)₂ と 0.25 mol/L 硝酸鉄(Ⅲ)Fe(NO₃)₃の混合 水溶液, 0.50 mol/L Fe(NO₃)₃ 水溶液を 1 mL

ずつ入れた。ゼラチンシートの両端にステンレス電極($17 \text{ mm} \times 100 \text{mm} \times 2 \text{ mm}$)を 17 mm の辺がシート底辺になるように刺して、シートの容器を氷水(2° C)に浮かべて 20 V で 20 分間,電流を流し、これらの金属イオンの移動距離を観察した。

(2) 電気泳動中の支持体の pH 変化

蒸留水 100 mL に KNO₃ 1.0 g とゼラチン 4.0 g を加え,ガスバーナーで沸騰するまで熱して完全に溶かし,これに BTB 溶液を 2~3 滴加えた。溶液が中性の緑になっていることを確認して,プラスチック製の薄い容器に入れた。冷蔵庫内 (4°C)で一晩冷却することで固化させた。ステンレス電極を用いて,20 V,30 分間電流を流し,ゼラチンシートの色の変化を観察した。

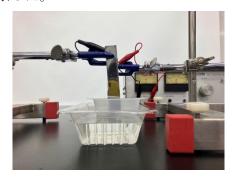


図1. 電気泳動の実験の様子

4. 結果と考察

金属イオン (Cu^{2+}, Fe^{3+}) の電気泳動実験について Cu^{2+} と Fe^{3+} の移動距離を比較した結果, 価数が小さな Cu^{2+} の方が移動距離は長かった $(Cu^{2+}: 穴の中心から 8.4 mm, Fe^{3+}: 穴の中心から 6.3 mm) (図 2)。$

この結果は、アガロースゲルを用いた ときと同様であった。これより、金属イ オンの価数の効果より、金属イオンの配 位のしやすさの方が影響が大きいと考え た。アガロース分子中のヒドロキシ基ー OH やゼラチンを構成するアミノ酸の側鎖に含まれるアミノ基ーNH2 やカルボキシ基ーCOOH などは、いずれも金属イオンに配位結合が可能である。支持体の化学構造中のこれらの置換基が金属イオンに配位することによって、電気泳動によるゲル中の移動のしやすさが異なるのではないか。

なお、 Cu^{2+} と Fe^{3+} の混合溶液で実験を行うと、移動距離はそれぞれを単独で泳動させた場合に比べて Cu^{2+} はより長く移動し、 Fe^{2+} はより短く移動することが分かった。この現象については、今後、再現性や理由について詳細に検討したい。



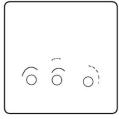


図2. 金属イオンの電気泳動

黒丸:電流を流す前の位置,点線:鉄 (Ⅲ)イオン,実線:銅(Ⅱ)イオン

ところで、 Cu^{2+} と Fe^{3+} の電気泳動を行うと、電流を流し始めて一定時間経過後、ゼラチンシート上に電極と平行に境目のように見える筋が生じていることに気が付いた。ゼラチンは、調製したときの pH によってゲル強度が変化することが知られている 7 。そこでこの境目は pH の境目になっていることが原因ではないかと考えた。

電気泳動中の支持体の pH 変化を確認

する実験の結果、ゲルにできた筋を境に ゼラチンが陰極側では青色に、陽極側で は黄色に変色していた(図3)。これより、 陰極側が塩基性に、陽極側が酸性となっ ていることが分かる。電気泳動によって 生じるゼラチン上の筋は pH の境界であ る。ゼラチン状に含まれる水素イオン H^+ 、 水酸化物イオン OH^- によって、ゼラチン の構造が変化することにより、光に対す る屈折率が僅かに異なり、これより境目 が筋となった観察されたと考えられる。

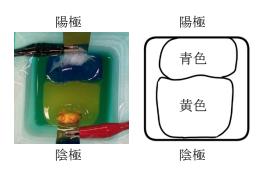


図3. 電気泳動中の支持体の pH 変化

5. まとめ・今後の展望

ゼラチンを支持体として、電気泳動により Cu²+と Fe³+の移動距離を比較する実験を行った。実験の結果、価数の小さな Cu²+の方が移動距離が長く、イオン価数の大きい方がより大きく移動するという予想に反するものだった。構造が異なるゼラチンとアガロースで同様の結果が得られたことから、これらの支持体の化学構造中に含まれる置換基が金属イオンに配位して、電気泳動による移動に影響を及ぼしているのではないかという新しい仮説を立てた。今後、この仮説を検証していくために、移動の大きさの変化の数値化や、支持体に用いた物質と金属イオン配位のしやすさの比較をしていきたい。

参考文献•注釈

- 1) 塚田捷ら,未来にひろがるサイエンス 3, 啓林館,2017,pp.89-90. (2015 年検定 教科書)
- 2) 徳田悠人, 2021 年度「基盤探究 I 」 レポート, 2022 年 2 月.
- 3) トリスヒドロキシメチルアミノメタン, 酢酸, エチレンジアミン四酢酸ナトリ ウムからなる緩衝液であり, アガロー スゲル電気泳動に最も一般的に使用さ れる。pH 8.3±0.2。
- 4) アガロースは, $1\rightarrow 3$ 結合 β -D-ガラクトースと $1\rightarrow 4$ 結合 3,6-アンヒドロ- α -L-ガラクトースの交互結合からなる。

- 5) ゼラチンは、動物の皮膚や骨、腱など の結合組織の主成分であるコラーゲン に熱を加え抽出したものである。タン パク質が主成分である。
- 6) M.Weller, T. Overton, J.Rourke,
 F.Armstrong 著, 田中勝久, 髙橋雅英,
 安部武志, 平尾一之, 北川進訳, シュライバー・アトキンス無機化学 下, 東京科学同人, 2017.
- 7) 伊藤政人,大川祐輔,小林裕幸,大野隆司,加藤孝世,日本写真学会誌,1995,58,2.