濾紙電気泳動によるカドミウムのグルタミン酸

錯体生成量の測定

上 崎 武 男, 後 藤 た へ

宮城学院女子大学

Measurement of the Amount of the Complex Formation of Cadmium Glutamate by Means of the Paper Electrophoresis

Takeo KOZAKI, Tae GOTO

Miyagi-Gakuin Women's University

One of the authors has reported that a certain amount of cadmium accumulated in cuttlefish liver has no injurious effect on an animal whereas the same amount of cadmium chloride is injurious. To make clear this reason a study was carried out on the measurement of the complex formation between cadmium and glutamic acid by means of the paper electrophoresis, using the radioisotope of ^{109}Cd as a tracer. The results obtained were compared with the stability constants of cadmium glutamate complexes reported by other authors, and further discussions were made. For example, in 0.1 M of glutamic acid (H_2L) solution at pH 6.0, the composition ratios of cadmium species were as follows: Cd^{2+} , 52.42%; CdL , 46.75%; and CdL_2^{2-} , 0.83%.

(Received January 14, 1974)

さきに後藤ら¹⁾は、日本人の常食とする米、味噌、野菜、植物油、スキムミルク、卵よりなる食餌を基本として、カドミウム含有の多いイカの肝臓およびそのイカ肝臓の含有カドミウム量と同じ量の酸化カドミウムを少量の塩酸に溶かしてうすめ、塩化カドミウムとして発育期のウイスター系白ネズミに給与飼育したところ、イカ肝臓中のカドミウムは白ネズミの発育および栄養状態にはほとんど影響を与えないのに、塩化カドミウムのカドミウムは影響をおよぼしたことを報じた。イカ肝臓のたん白質含有量は18%内外、Cd含有量93 μg 内外、その肝臓ホモジェネートのpHは6.3内外であった。これら成分からまず考えられることはCdをマスクする物質としていろいろ推定されるが、アミノ酸が有力と思われるのでアミノ酸をとりあげることにした。とくに肝臓のpHから酸性アミノ酸のグルタミン酸をとりあげ、Cdとグルタミン酸について表題のごとき研究を行なったので次に報告する。

実 験 方 法

1. 溶 液

1) Cd (II) の試料溶液 金属カドミウムを硝酸で溶解したのち、トレーサーとして ^{109}Cd の硝酸溶液を加え

て蒸発乾固した。この残渣をあらかじめ pH を調製した 0.1 M 硝酸溶液あるいは 0.1 M グルタミン酸ナトリウム液で溶解して試料溶液とした。カドミウムの濃度は 0.0425 M/l である。

2) 電解質溶液 pH を調製した 0.1 M 硝酸溶液あるいは 0.1 M グルタミン酸ナトリウム溶液を用いた。

2. 装 置

1) 定電圧装置 東洋科学工業製濾紙電気泳動用電源、モデル III B A 8-2 を用いた。

2) pH メーター 東亜電波工業製 pH メーター、モデル HM-5 A を使用した。

3) 放射能測定装置 日立製シンチレーション検出器 (井戸型、1 インチ $\phi \times 1\frac{1}{8}$ インチ NaI (TI)) モデル SP-3 と神戸工業製スケアラ、モデル SA-250 を用いた。

3. 実験方法

電解槽は小孔のある隔壁で仕切られており、それぞれに電極 (1.5 cm $\times$ 34 cm の銀板) と濾紙を入れたのち、この両極の電解槽に電解質溶液を入れ、サイフォンを用いて両液面の高さを等しくした。

このとき用いた濾紙は東洋濾紙ペーパークロマトグラフ用濾紙 No. 51 (2 cm $\times$ 50 cm) をあらかじめ電解質溶液でぬらし、余分な溶液をふき取ったのち 2 枚のガラス板 (27 cm $\times$ 21 cm $\times$ 0.5 cm) ではさみ、濾紙の両端を電

解槽に入れた。ガラス板を水平に保ち約1時間そのまま放置した。濾紙の有効長は33cmであった。この濾紙の中心に50 μ lの試料溶液を着点し、500Vで1時間通電した。通電終了後たちに電気乾燥器で濾紙を乾燥させ(100°C)、長さ0.25cmのフラクションに分割した。

各フラクションについて ^{109}Cd の娘核種 $^{109\text{m}}\text{Ag}$ の γ 線(87.5keV)をシンチレーションカウンタで測定しその分布を求めた。

実験結果

有効長33cmの濾紙に500Vの加電圧、すなわち15.5V/cmの電位勾配を加え、1時間泳動させたときのCd(II)の泳動結果を図1に示す。図中で(1)はpH6の0.1M硝酸溶液における泳動結果、(2)はpH6の0.1Mグルタミン酸ナトリウム溶液における泳動結果、(3)はpH8の0.1M硝酸溶液における泳動結果、および(4)はpH8の0.1Mグルタミン酸ナトリウム溶液における泳動結果である。この図からカドミウムの移動距離の実測値を求めるとpH6のときには0.1M硝酸溶液中で-3.0cm、0.1Mグルタミン酸溶液中で-1.5cmであり、pH8のときには0.1M硝酸溶液中で-4.0cm、0.1Mグルタミン酸溶液中では-0.5cmであった。

考 察

グルタミン酸(以下 H_2L と記する)の酸度数とCd(II)錯体の安定度定数はすでに報告されている²⁾。その

図1. 泳動結果

実験の詳細は不明であるがその値は

$$pK_{\text{HL}}=9.67, pK_{\text{H}_2\text{L}}=4.28, pK_{\text{H}_3\text{L}}=2.30,$$

$$\log \beta_1=4.4, \log \beta_2=7.1$$

とされている。

水溶液中におけるグルタミン酸の化学種 L^{2-} , HL^- , H_2L , H_3L^+ の濃度をpHの関数として求めるとpH6付近では L^{2-} , HL^- , H_2L が存在し、とくに HL^- イオンが主成分であることがわかる。したがってグルタミン酸溶液においてCd(II)は次のような逐次錯体を形成するものと予想される。

ここでCdLと CdL_2^{2-} の安定度定数は上記の β_1 および β_2 である。

濾紙上に着点されたCd(II)のグルタミン酸溶液は濾紙に電位勾配を与えると、上記の平衡を保ちながらゾーンとなって濾紙上を移動する。 Cd^{2+} , CdL, CdL_2^{2-} の易動度をそれぞれ μ_0 , μ_1 , μ_2 とするとゾーンの易動度 μ_z は次式で与えられる。

$$\mu_z = \mu_0 f_0 + \mu_1 f_1 + \mu_2 f_2 \quad (1)$$

ここで f_0 , f_1 , f_2 は Cd^{2+} , CdL, CdL_2^{2-} の存在割合を示す。すなわち $f_0 + f_1 + f_2 = 1$ であり、 β_1 , β_2 を用いてそれぞれを表現すると、

$$f_0 = 1 / (1 + \beta_1 [\text{L}^{2-}] + \beta_2 [\text{L}^{2-}]^2) \quad (2)$$

$$f_1 = f_0 \beta_1 [\text{L}^{2-}] \quad (3)$$

$$f_2 = f_0 \beta_2 [\text{L}^{2-}]^2 \quad (4)$$

である。

ところで錯体CdLは電荷を持たないので $\mu_1 = 0$ である。また易動度は分子量の平方根に逆比例し電荷に比例するので³⁾、これをそのまま適用すると、

$$\begin{aligned} \frac{-\mu_z}{\mu_0} &= \sqrt{\frac{m \text{Cd}^{2+}}{m \text{Cd} [\text{C}_3\text{H}_5\text{NH}_2 (\text{COO})_2]_2^{2-}}} \\ &= \sqrt{\frac{112.41}{402.64}} = 0.528 \end{aligned}$$

それゆえ

$$\begin{aligned} \mu_z &= f_0 \mu_0 + f_2 \mu_2 \\ &= \mu_0 (f_0 - 0.528 f_2) \end{aligned}$$

すなわち

$$\mu_z / \mu_0 = f_0 - 0.528 f_2$$

(2), (4)を代入すると

$$\mu_z / \mu_0 = \frac{1 - 0.528 \beta_2 [\text{L}^{2-}]^2}{1 + \beta_1 [\text{L}^{2-}] + \beta_2 [\text{L}^{2-}]^2} \quad (5)$$

Roberts²⁾の報告により β_1 , β_2 は与えられているので $[\text{L}^{2-}]$ に対して μ_z / μ_0 を求め、 μ_z / μ_0 に対する $\log [\text{L}^{2-}]$ のプロットを求めると図2を得る。

一方、イオンの易動度は次式で与えられる。

図 2. μ_z/μ_0 と $[L^{2-}]$ との関係

$$d = \mu \cdot \frac{E}{l} \cdot t$$

すなわち濾紙上を移動する距離 d は電位勾配 E/l と泳動時間 t に比例する。 μ は易動度でイオンに特有な定数であって泳動条件に依存する。よって

$$\mu = d \cdot \frac{E}{t \cdot l}$$

加電圧 E (ボルト)、濾紙の有効な長さ l (cm) および泳動時間 t (時間) を一定にすれば μ は d に比例することになる。そこで (5) 式において μ_z/μ_0 はグルタミン酸を含む溶液とグルタミン酸を含まない溶液を電解質溶液としてそれぞれ用いたときの移動距離の比 d_z/d_0 に等しい。実測された移動距離は図 1 より pH 6 のとき硝酸溶液中で -3.0 cm, グルタミン酸溶液中で -1.5 cm であり, pH 8 のときには硝酸溶液中で -4.0 cm, グルタミン酸溶液中で -0.5 cm であった。

すなわち

$$(\mu_z/\mu_0)_{\text{pH}=6} = \frac{-1.5}{-3.0} = 0.5$$

$$(\mu_z/\mu_0)_{\text{pH}=8} = \frac{-0.5}{-4.0} = 0.125$$

であって、図 2 より上記の μ_z/μ_0 を与える $[L^{2-}]$ を読みとると、

$$[L^{2-}]_{\text{pH}=6} = 3.55 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$[L^{2-}]_{\text{pH}=8} = 2.00 \times 10^{-4} \text{ M}$$

となる。これを (2), (3), (4) 式に代入して f_0, f_1, f_2 を求めると

pH	f_0 (Cd^{2+})	f_1 (CdL)	f_2 (CdL_2^{2-})
6.0	52.42%	46.75%	0.83%
8.0	15.32%	76.98%	7.70%

となる。

ところで水溶液中におけるグルタミン酸の化学種の濃度は酸定数の値を用いてつぎのように表わされる。

$$[\text{HL}^-] = \frac{[\text{H}^+]}{K_{\text{HL}}} [\text{L}^{2-}]$$

$$[\text{H}_2\text{L}] = \frac{[\text{H}^+]^2}{K_{\text{HL}} \cdot K_{\text{H}_2\text{L}}} [\text{L}^{2-}]$$

$$[\text{H}_3\text{L}^+] = \frac{[\text{H}^+]^3}{K_{\text{HL}} \cdot K_{\text{H}_2\text{L}} \cdot K_{\text{H}_3\text{L}}} [\text{L}^{2-}]$$

したがって $[\text{H}_2\text{L}]_{\text{total}}$ は

$$\begin{aligned} [\text{H}_2\text{L}]_{\text{total}} &= [\text{L}^{2-}] + [\text{HL}^-] + [\text{H}_2\text{L}] + [\text{H}_3\text{L}^+] \\ &= [\text{L}^{2-}] \left(1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_{\text{HL}}} + \frac{[\text{H}^+]^2}{K_{\text{HL}} \cdot K_{\text{H}_2\text{L}}} \right. \\ &\quad \left. + \frac{[\text{H}^+]^3}{K_{\text{HL}} \cdot K_{\text{H}_2\text{L}} \cdot K_{\text{H}_3\text{L}}} \right) \end{aligned}$$

したがって $[\text{H}^+]$, $[\text{H}_2\text{L}]_{\text{total}}$ が与えられれば $[\text{L}^{2-}]$ が計算できる。

いま, $[\text{H}_2\text{L}]_{\text{total}} = 0.1$ においては

$$[\text{L}^{2-}]_{\text{pH}=6} = 2.10 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$[\text{L}^{2-}]_{\text{pH}=8} = 2.09 \times 10^{-3} \text{ M}$$

となり、前述したように本実験により得られた値 $[\text{L}^{2-}]_{\text{pH}=6} = 3.55 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{L}^{2-}]_{\text{pH}=8} = 2.00 \times 10^{-4} \text{ M}$ と比較すると pH 6 ではかなりよい一致を示すが、pH 8 では大きな差が見られる。これは pH 8 での泳動実験では通電中の電流値が大きいため水分の蒸発が激しく、またいわゆる電気浸透（電解質の移動）の効果が著しいなどによることが考えられる。

要 旨

^{109}Cd をトレーサーとして用いてカドミウムとグルタミン酸との間に生成する錯体について濾紙電気泳動法により研究した。得られた結果をすでに報告されているグルタミン酸とカドミウムとの間に生成する錯体の生成定数の値と比較考察を行なった。たとえばグルタミン酸 (H_2L) 濃度 0.1 M pH 6 の溶液中において、カドミウムの化学種の組成は $\text{Cd}^{2+} 52.42\%$, $\text{CdL} 46.75\%$, $\text{CdL}_2^{2-} 0.83\%$ であるという結果が得られた。このことはイカ肝臓中の Cd が酸性アミノ酸のグルタミン酸と complex を形成し、白ネズミの発育・栄養状態にほとんど悪影響を及ぼさなかった¹⁾ 一要因と推察される。

この実験を行なうにあたり東北金属材料研究所放射化学主任教授、鈴木進氏にご協力いただいたことに感謝の意を表す。

文 献

- 1) 後藤たへ、遠藤一、坂川玲子：宮城学院女子大学附属生活科学研究報告, 5, 52 (1971)
- 2) リングボム (田中, 杉沢), 錯形成反応; 分析化学における応用, p. 309 (昭和 40 年), 産業図書 (東京) より Roberts, R.L.: *Diss. Urbana*, (1952)
- 3) Jokl, V.: *J. Chromatogr.*, 13, 451 (1964)

(昭和 49 年 1 月 14 日受理)