

紫外可視分光光度計を用いたコンドロイチン硫酸皮膜磁性 体の鉄吸光度モニタリングと遷移元素金属二価鉄の定量

Monitoring of Iron absorbance for chondroitin sulfate magnetic iron oxide complex by ultraviolet and visible spectrophotometer and quantitative analysis for diatomic iron of transition element.

工学部技術部分析技術班

中村 昇二

SHOJI NAKAMURA (Department of Technique)

The chondroitin sulfate magnetic iron oxide complex is possible new material with functional and intellectual properties and apply to the biological internal tracer on MRI(magnetic resonance image). This intelligent material is composed both wustite and haematite which have significant effect on magnetization. Then we take interest in the material which made by our laboratory measure quantitative analysis for iron and diatomic iron of transition element. In this paper show that the several method of quantitative analysis for iron including some example of failure.

Key words: Magnetic resonance image, Magnetization, Quantitative analysis,

1. 緒言

微粒子はサブミクロン単位の超微粒子になると、従来の材料には起こり得なかった種々の特性を示すことがあり、機能性や知的特性を備えた新素材としての可能性がある。

その中で我々の研究室では磁性微粒子をコロイド状にしてMRI(magnetic resonance image)用の生体内トレーサーとしての利用を考えている。そこで、コアとしてフェライト材の中からマグネタイトを用い、それを被覆する材料として生体適応性の高い多糖類・コンドロイチン硫酸を選択し材料特性の研究をおこなっている。

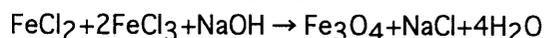
出発材料として、塩化第一鉄と塩化第二鉄を任意の割合で合成し最終的にコンドロイチン硫酸皮膜磁性複合体(Chondroitin sulfate magnetic iron oxide complex 以下CMと略す)を作製するのであるが、遷移金属である二価鉄、三価鉄を合成することも含めて種々のプロセスでの結果、出発材料での割合というものがそのままであることは確かでない。また、このCMにしめる二価鉄の割合というものはMRI用トレーサーとして利用した場合に重要な磁化への影響がおおきいと考えられる。

従って、CMの正確な二価鉄量を定量することは材料設計をおこなううえで重要なファクターになっ

てくる。今回は、他の試料でのUV測定で用いられている鉄発色・二価鉄定量法がどこまで多糖皮膜されたCMに適用可能であるか、また、多糖により覆われたこと等により特異な反応を示した鉄発色のモニタリングを紹介すると共に失敗例も交えて報告する。

2. 試料

本報告において用いられたCMは外郭皮膜材として生体に対して安全であると考えられるムコ多糖類が用いられた。以下にマグネタイトコロイド粒子が合成するための化学反応式を示す。⁽¹⁾



ここでは特に試料作成過程におけるファクターは問題とならないので、簡単な試料作成過程だけをFig.1に示す。また、本試料CMのモデル図をFig.2に示し、Fig.3に示した透過電子顕微鏡での電子線回折像から試料内に二価鉄、三価鉄の存在は確認されている。

3. 紫外可視分光分析

3.1 紫外可視吸収スペクトル法

基底状態にある分子が紫外・可視線の光エネルギーを吸収すると電子が遷移(電子遷移)することによって励起状態の分子が生じる。吸収の強さによって異なり、得られた吸収スペクトル(吸収曲線)は

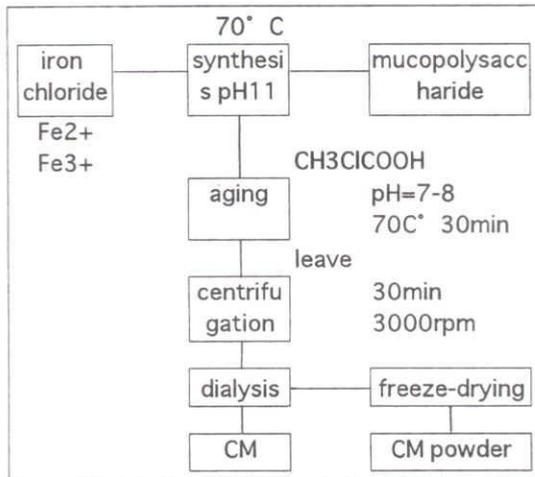


Fig.1 Preparation Process

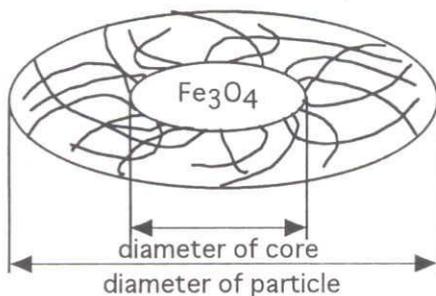


Fig.2 The Model of Sugar Synthetic Fine Particle

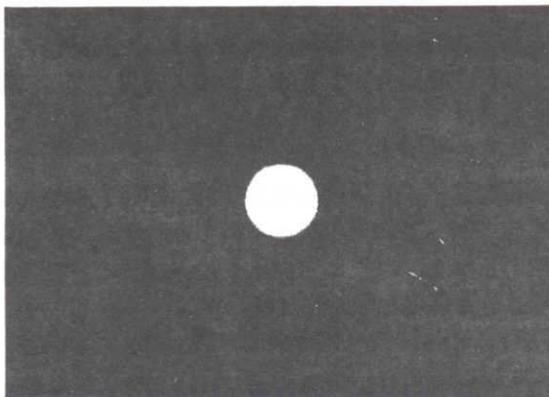


Fig.3 Electron Diffraction Pattern of The CM

物質に特有のものである。この分析法を紫外可視吸収スペクトルという。⁽²⁾

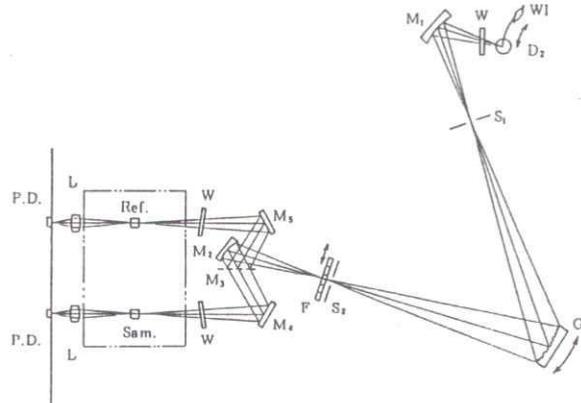
吸収の強さは物質の濃度により精度よく比例するため高精度の定量分析が可能である。また、同一溶液中の各成分を分離分析・反応速度・平衡定数の測定ができる。

3.2 測定原理と紫外可視分光光度計

Fig.4に今回使用した機器である島津製作所製紫外可視分光光度計(UV-160)のダブルビーム方式光

学系統図を示す。

装置は光源であるハロゲンランプまたは重水素ランプの光を反射鏡により反射させ、入口スリットを通過しプリモノクロ分子として回折格子で入射光を損失しないよう一次分光する。次に出口スリットを通過し各種ミラーを経て試料室にある試料セルと対照セルを透過し、レンズを経てフォトダイオードに照射する。フォトダイオードに発生する光電流は、増幅されたのち表示装置に入力される。



- D2 : deuterium lamp
- W : window plate
- W1 : halogen lamp
- M1-M5 : mirror
- F : filter
- L : lens
- G : diffraction grating
- Sam. : sample cell
- Ref. : reference cell
- S1 : slit of entrance
- S2 : slit of exit
- P.D : photodiode

Fig.4 Schematic Diagram of The Optical System

4. CM試料の鉄発色モニタリング

定量分析を行うには、目的成分の標準溶液の濃度系列をつくり、試薬を加えるなど適当な処理をして発色させ、その極大波長における吸光度を測定して検量線をかき、そして同様に処理した試料溶液の吸光度を測定し、検量線から目的成分の定量をする。以下に今回おこなった二例(A法・B法)を紹介する。

4.1 方法A

検量線を作成するために、市販の原子吸光分析用標準液(濃度:0.100mg Fe/mL 成分:Fe(NO₃)₃ in 0.275mol/L HNO₃)を用い、それに10%塩酸ヒドロキシアミン水溶液(溶解度を増す、Fe³⁺をFe²⁺に還元)、1,10-フェナントロリン(鉄(II)用)、酢酸ナトリウム溶液(溶液中の酸を中和、pHを錯体形成範囲に調整)を適量加え鉄発色させた。また、同時にCM・DW(蒸留水)についても同

様に試薬を添加した。

結果、鉄標準液・CMとも適正な鉄発色はおこらなかったが、CMに関しては24時間単位で徐々に鉄発色の反応が僅かではあるが確認された。

4.2 方法B

鉄標準液・CM・DW各々に10%ヒドロキシアミン水溶液、0.1%1,10-フェナントロリン溶液(1,10-フェナントロリン、酢酸、酢酸ナトリウム三水塩)を加えた。また、CMに関して上記の条件と前処理として磁性酸化鉄を分解させるためと核である磁性酸化鉄を包埋しているコンドロイチンとを分離させるために塩酸を加えた。

結果、鉄標準液は試薬添加後直ぐに薄赤色の鉄発色が現れ検量線ができた。Fig.5に鉄標準液Fe³⁺の検量線を示す。一方、塩酸を加えないCMはA法より僅かではあるが徐々に鉄発色が観られた。また、塩酸を加えたCMは直ちに鉄発色が現れた。

4.3 前処理(塩酸)無しCM鉄発色モニタリング

塩酸による糖皮膜と磁性酸化鉄の分離過程及び磁性酸化鉄の分解過程を経ない鉄発色によりCMの特微的な吸光度変化が得られた。そこでこのユニークな経時変化を追って、塩酸によるリアルタイムに最終吸光度が求まる方法と比較してみた。Fig.6に塩酸処理無しの鉄発色モニタリングを示す。

求められた検量線を用いて定量されたCMの二価鉄・三価鉄を含めた全鉄定量の精度は、他方で行った原子吸光分析法の結果と一致した。また、経時変化においては約50日(1200h)で適当な吸光度まで達した。

これは、前処理での塩酸効果である糖皮膜と磁性酸化鉄の分離過程及び磁性酸化鉄の分解過程を経時変化により徐々にこれらを分解していくものと考えられる。

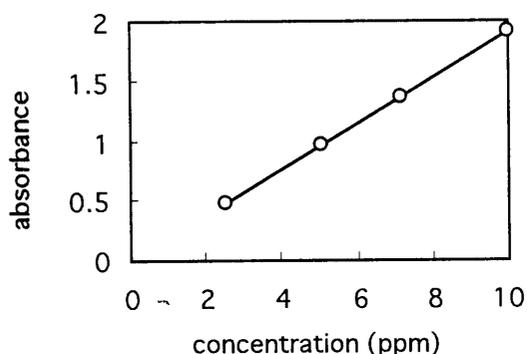


Fig.5 Calibration Curve of Fe

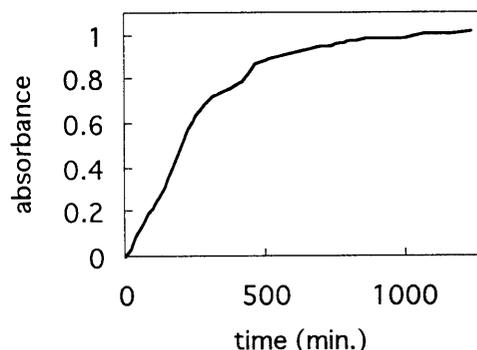
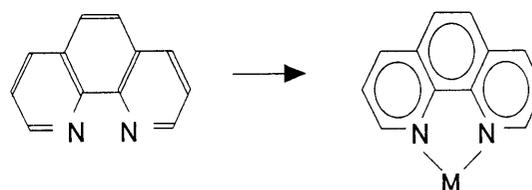


Fig.6 Magnetite-absorbance Monitoring of Ultraviolet Absorption Spectrophotometry

4.4 鉄発色のメカニズム

基本的にUVでの吸光度測定のためには濃赤色発色をさせる必要がある。そこで、一般に微量鉄を発色させるためにフェナントロリン錯体を形成する。Fig.7に錯体形成を示す。1,10-フェナントロリンを配位子(phen)とする錯体であり、多くの金属イオンとFig.7のようにキレート環をつくりピピリジン錯体と似ているが、生成定数が大きい。とくにFe^{II}錯体([Fe^{II}(phen)₃]²⁺)は濃赤色で微量のFe²⁺イオンの検出に利用され、濃赤色はFe^{III}錯体になるとあざやかに変色([Fe^{III}(phen)₃]³⁺、淡青色)になる。

従って、本定量ではこの1,10-フェナントロリンがFe³⁺よりFe²⁺と安定な錯体を形成することを利用してUVでの吸光度を測定する。



1,10-phenanthroline phenanthroline complex
Fig.7 Schematic Drawings of Phenanthroline Complex

5. Fe²⁺とFe³⁺の分別定量

5.1 分別定量法

二価鉄、三価鉄の分別定量においても幾つかの文献を参考にして行ったが、それらがCMにどこまで適合するのか、またpH、温度の影響はどうかなど吸光度を左右するファクターは存在する。本実験で

行った当初の参考方法にはこれらのファクター（pH、温度）は示されていないこともあって、本試料CMには適合しにくかった。

次に参考にした文献は試薬の種類も違うこともあり、pH=3.5に調整するという項目があった。⁽³⁾しかし、各試薬の量に関しては何も記述されておらずこれに関しては当初引用した文献から容量を決めておこなった。

まず、CMに0.25%オルソフェナントロリンを加える。次いでクエン酸ナトリウムを加えてpHを約3.5にする。生成された橙赤色の Fe^{2+} 錯体の510nmにおける吸光度を測定・定量し Fe^{2+} の量を求める。

次に、CM内に共存する Fe^{2+} と Fe^{3+} に塩酸ヒドロキシアミンを加えて Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元し、上記で求めた全量のFeから Fe^{2+} を差し引いて Fe^{3+} を求めるというものである。

5.2 二価鉄検量線の作成

Fig.8に硫酸アンモニウム鉄（II）六水和物もちいて作成した Fe^{2+} の検量線を示す。

硫酸アンモニウム鉄（II）六水和物の分子式は $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 、式量392.14である。

特性としてはエタノールに不溶・風解及び酸化されにくく鉄（II）塩の中で最も安定なものの一つである。また、一般的に容量分析での鉄（II）の標準溶液に用いられる。従って、今回の使用目的である遷移金属の分別定量には安定した試薬であり適していると考えられる。

作成方法は、5.1で記した作成過程である硫酸アンモニウム鉄（II）六水和物に0.25%オルソフェナントロリン、1%クエン酸ナトリウムを加えpHを3.5に調整するのであるが、ここでpHがかなりアルカリ性側にシフトするため塩酸を用いてpHを3.2に調整した。

塩酸の特性として強酸性を示すことは勿論のこと塩酸は熱濃硫酸や硝酸と違い酸化力がなく水溶液中で完全に解離するという特性を持ち合わせている。また、CMの前処理として磁性酸化鉄の分解時に使用されておりpH調整で用いた量は35%塩化水素含有のもの0.1mLであり本試料への影響は全く無いものと推定する。

5.3 CMの全鉄定量

塩酸で酸化磁性体を分解したCMに10%塩酸ヒドロキシルアミンを加え Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元と同時に溶解度を増加させ、0.25%オルソフェナントロリンを加えて鉄錯体を作る。次に1%クエン酸ナトリウ

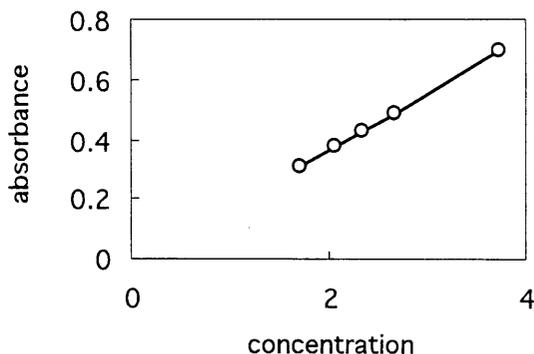


Fig.8 Calibration Curves of Fe^{2+}

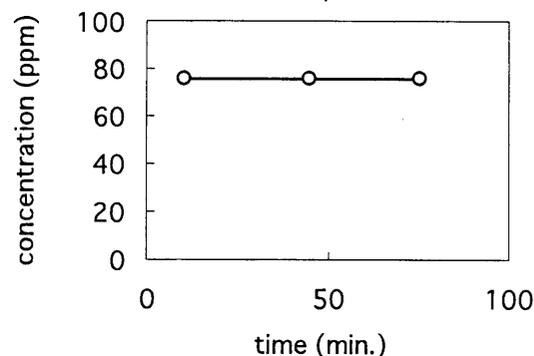


Fig.9 Concentration of Fe

ムを加えてpHを3.5にした。

Fe^{2+} 錯体を510 nmにおける吸光度を測定して5.2で作成した検量線から求めると約75ppmになった。これは原子吸光分析でおこなった定量値と一致した結果となった。

また、各試薬を迅速に加えてゆきpHを調整後1時間余りの濃度変化をFig.9に示した。図からほぼ75ppmで長時間安定していることがわかる。

5.4 CMの Fe^{2+} 定量

5.1に記した錯体作成方法で Fe^{2+} だけの定量をおこなうとFig.10 (○) に示したようにpH調整後20分後からの濃度変化はかなりの勾配で増加していく。そこで以前、参考にした文献で記されていた中で、各試薬添加後1時間以上おき、且つふっ化カリウム（以後KFという）を加えた後5-60分以内の吸光度を測定するとあった。

この方法を用いてpH調整したのち1時間後にKFを加え吸光度測定を約2時間にわたりおこなった。吸光度から求めた濃度はFig.10 (△) から解るように、また文献の記載どおり5-60分の吸光度は約

21-23ppmになった。これは本試料CMの出発材料での Fe^{2+} の割合に近いものである。

次に、上記の1時間後のKF添加を30分にして測定してみた。するとFig.10 (□) に示されるようにKFを添加していない時間濃度曲線から勾配を緩やかにとって変化していく様子が認められる。

また、これらの試料の中でpHを3.0にしておこなった濃度は僅かではあるが高くなった。

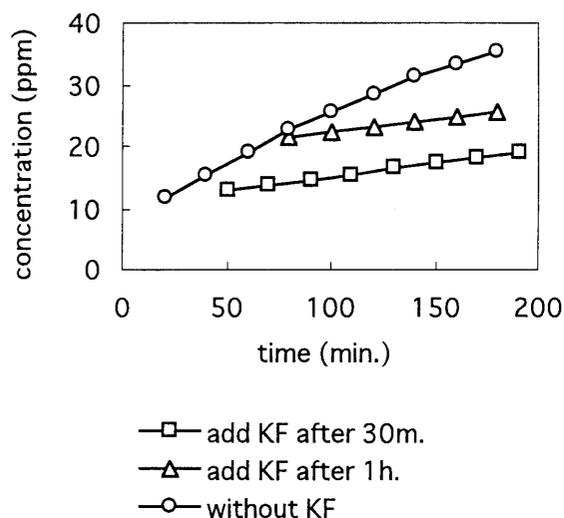


Fig.10 Concentration of Various Fe

5.5 ふっ化カリウムの効果

KFを加えることにより濃度変化を安定させる結果となった。これはKFを添加しない場合は徐々に $Fe(II)$ 錯体をつくっていくことによって Fe^{2+} 濃度を増やしていくのであるが、KFを加えることによりふっ化鉄(III)をつくり Fe^{2+} 錯体作成を妨げる働きをするものと考察する。

しかし、この段階ではpH調整後1時間以上おくといい根拠は解っていない。また1時間以内でも1時間より越えても出発材料比に相当する値は得られない。

6. まとめ

当初、単に全鉄定量・分別定量をおこなう目的が、CM試料の特異な錯体形成過程から鉄発色モニタリングをおこなうきっかけになった。このモニタリングにより、本来、塩酸により多糖皮膜と酸化磁性粒子との化学吸着を解き、磁性酸化鉄を分解させる効果を今報告の結果から、経時変化によりこれら二つの効果を得た新たなCMの特性がみいだされたように思う。

定量分析を進めるにあたり、複数の文献を参考に

することによって最終的に出発材料濃度を含め二価鉄・三価鉄の出発材料濃度比が求められた。Fig.11に最終的にまとめたCMのUV試料準備を体系化したフローチャートを示す。

5.5の結果から、pH調整後1時間、KF添加後5-60分以内での濃度に関しては出発材料濃度比とほぼ一致した。しかし、このデータの信憑性を得るために出発材料の比を変えたCMを用いて同方法をおこなう必要があるであろう。

また、三重大学地域共同利用センターに設置されている電子プローブX線マイクロアナライザー(以下EPMAと略す)での波形分離プログラム(状態分析)を利用した分別定量をおこない本報告での方法を裏づける必要があるであろう。

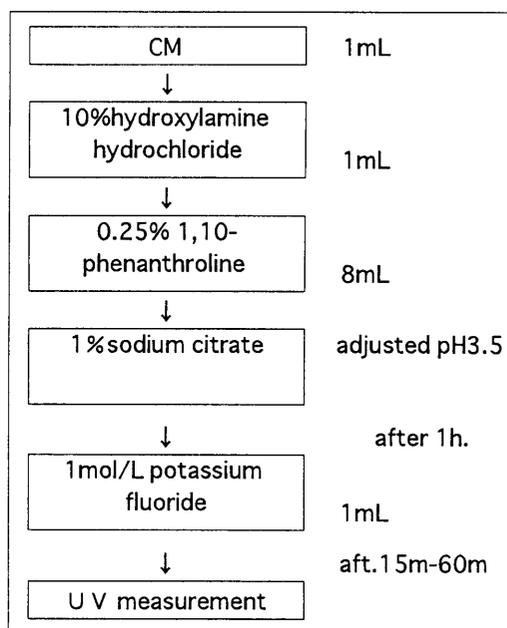


Fig.11 Preparation of Iron Complex

7. 謝辞

本テーマを遂行するにあたり初期の紫外可視分光光度計の取扱等の指導に労を惜しまなかった三重大学機器分析センターの西村泰彦技官に、また本テーマの試料であるコンドロイチン硫酸皮膜磁性体を提供して頂いた工学部機械工学科生体システム研究室の皆様へ感謝とお礼を申し上げます。

8. 参考文献

- (1) 武富 荒他, "磁性粒子-基礎と応用" 日刊工業新聞社 (1988)
- (2) 泉 美治他, "機器分析のてびき", 化学同人 (1997)
- (3) 日本分析化学会九州支部編, "機器分析入門", 南江堂 (1984)