

## (第12回) 2016年度・研究助成報告

研究題名	機能性食品への応用に向けた酸化鉄超微粒子合成法の開発
研究期間	2016年4月1日～2018年3月31日
研究機関・所属 研究者名	兵庫県立大学・工学研究科化学工学専攻 飯村 健次

## 1. 2016 (2017) 年度研究成果の概要

鉄分は3大微量栄養素欠乏症のうちの1つで最も注目すべき栄養素である。鉄分が不足すると重度の場合は早産や死産をひき起こす。現代では鉄分を補うためにサプリメントが用いられているが、お年寄りや子供にとって飲み込むのが難しい場合があるため普段の食事から鉄分を摂取することが望ましい。助成対象者はこれまでに化学的安定性が高い酸化鉄[Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>]の合成を行ってきた。超微粒化による溶出性の向上を目指し、微粒化の溶出特性への影響について検討を行った。

まずオゾン援用合成により Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ナノ粒子の合成法により 5.21nm の粒子を得た。対照試料として粒子径が 57.37nm の市販品の Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 粒子を用い、両試料粒子を胃酸と同じ pH1 の塩酸および pH7 のイオン交換水にそれぞれ所定量加えて溶出させ、フェナントロリン吸光度法により Fe<sup>2+</sup> の溶出量の定量を行った。対照試料についてはいずれの条件においても吸光が全く見られず溶出しないことを確認した。一方、試料粒子では pH7 では溶出しなかったが pH1 では 510nm 付近で特異な吸光ピークを示したことから、微粒化により溶出性が改善したと結論付けられる。

## 2. 助成期間内での研究成果の概要

「オゾンを援用したマグネタイト微粒子の合成」, 飯村健次, 菊池丈幸, 佐藤根大士, 2017年 11月15日第55回粉体に関する討論会(宮城県塩釜市)にて口頭発表

「Ozone assisted synthesis of magnetite nanoparticles」, K. Iimura, T. Kikuchi, H. Satone, 2018年7月9-12日に開催される第54回粉体工学会夏期シンポジウム (ICCCI2018 と併催) にて発表予定

「機能性食品への応用に向けた酸化鉄超微粒子合成法の開発」, 飯村健次, 2018年5月15日に開催される粉体工学会2018年度春期研究発表会にて粉体工学情報センター助成研究講演セッション内で発表予定

### 3. 研究内容

#### 1. 緒言

ビタミン A, ヨード, 鉄分の不足は3大微量栄養素欠乏症として知られる。中でも鉄分不足による貧血は未だ深刻である。鉄分の不足は特に妊産婦に甚大な影響を及ぼし早産や死産の危険性もある。鉄分は体内で合成することができない必須ミネラルであり食事などから摂取する必要があり, 動物性食品に含まれるヘム鉄( $\text{Fe}^{2+}$ )とその他食品に含まれる非ヘム鉄( $\text{Fe}^{3+}$ )に大別できるが,  $\text{Fe}^{3+}$ は腸内の酵素により  $\text{Fe}^{2+}$ に還元されてから吸収されるためヘム鉄と比べ吸収率が劣る。この不足しがちな鉄を補うためサプリメントも用いられるが, 剤形が限られるためお年寄りや子供にとって決して飲み易いものではない。やはり普段の食事から摂取できることが望ましいが, 鉄の味をマスキングするなどの工夫が必要となってくる。

助成対象者は, これまで化学的安定性ならびに生体適合性に優れるマグネタイト  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微粒子合成法の開発を行ってきた。本課題は, 口で溶けず胃で溶ける鉄サプリメントの開発を目指し, 微粒化による  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  の溶出性の向上効果を検討することを目標としたものである。

#### 2. 実験

##### 2.1 粒子合成

本実験で使用するすべての化学試薬は分析等級であり, 購入時のまま精製することなく使用した。また, 試薬は断らない限りキシダ化学製のものを使用した。塩化第一鉄四水和物 ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) と塩化第二鉄( $\text{FeCl}_3$ )を1Mの濃度になるようにイオン交換水に溶解した。 $\text{Fe}^{2+}$ と $\text{Fe}^{3+}$ のモル比が1:2となるよう  $\text{FeCl}_2 \cdot \text{aq}$  5 mL と  $\text{FeCl}_3 \cdot \text{aq}$  10 mL を混合し, イオン交換水 25 mL を加えて攪拌する。上記溶液に28wt%のアンモニア水をイオン交換水で5倍に希釈して2.96 Mに調製したアンモニア水 13.5 mL を脈動ポンプを用いて4.5 mL/min で滴下しながら, オゾン発生装置(株式会社ハマネツ製, SO-03UN-OX)で発生させたオゾンガス(酸素流量2.0 L/min 時のオゾン発生量:3.0 g/h)を吹き込み粒子を合成した。その後遠心分離を用いて粒子を回収して真空乾燥を行い試料 Sample A を得た。

##### 2.2 物性評価

合成した粒子をX線回折装置(リガク社製, Mini Flex II型)を用いて測定し, 結晶相の解析を行った。また粒子の比表面積をBEL SORP mini(マイクロトラックベル社製)を用いて測定した。得られた比表面積  $S_w$  から以下の式(1)を用いて比表面積球相当直径  $x$  を算出した。

$$x=6/(\rho_p \cdot S_w) \quad (1)$$

ただし,  $\rho_p$  は粒子の密度を表す。

##### 2.2 溶出実験

溶出実験には2.1に記載の方法で合成した試料 Sample A ならびに市販のマグネタイト(関東化学製)をコントロールサンプルとして用いた(以下 Control と呼称する)。口と胃における溶出を模擬すべく溶媒にはpH7のイオン交換水と濃塩酸(塩化水素35%含有, ナカライテスク製)

を希釈して pH1 に調製し用いた。各試料 0.05 g を上記いずれかの溶液に加えてマグネチックスターラーで 3 時間攪拌した。その後遠心分離を行って粒子を除去し、上澄み液 1 mL に pH4.6 の酢酸緩衝液 4 mL, イオン交換水 10 mL, フェナントロリン水溶液 5 mL (1, 10 フェナントロリン塩酸塩 0.24 g をイオン交換水 200 mL に溶解し調製) をそれぞれ加え、フェナントロリン吸光度法を用いて鉄イオンの定量を行った。フェナントロリンは  $\text{Fe}^{2+}$  と錯体を形成し赤く呈色する。この錯体は吸光度測定において 510 nm 付近にピークを示すため、あらかじめ既知の濃度の  $\text{Fe}^{2+}$  の水溶液を用いて作成した検量線から鉄イオンの溶出量を算出した。 $\text{Fe}^{2+}$  の濃度  $C$  (ppm) と吸光度  $A$  (a.u.) には次式の関係が成立する。

$$C = 10.91 A \quad (2)$$

また  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  は  $\text{Fe}^{3+}$  も含むため同時に溶出することが想定される。 $\text{Fe}^{3+}$  溶出量を定量するため還元剤として 10wt% 塩化ヒドロキシルアンモニウム 1 mL をフェナントロリン溶液を加える直前に添加することで  $\text{Fe}^{2+}$  へと還元し、上記手順と同様にフェナントロリン吸光度法により定量を行った。

### 3. 結果および考察

合成した試料 Sample A の XRD 測定の結果を Fig.1 に示す。得られた粒子は  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  であると同定することができた。また比表面積の結果、Sample A では  $224.03 \text{ m}^2/\text{g}$ 、Control では  $20.23 \text{ m}^2/\text{g}$  であった。 $\text{Fe}_3\text{O}_4$  の密度  $\rho_p$  として  $5170 \text{ kg}/\text{m}^3$  を用いると式(1)より比表面積相当球直径  $x$  はそれぞれ  $5.12 \text{ nm}$ 、 $50.23 \text{ nm}$  であった。

溶出実験においてフェナントロリンを添加した際の溶液の呈色の様子を Fig.2 に示す。pH7 ではいずれの試料も指示薬を加えた前後で色の変化を確認することができなかった。一方、pH1 においては、Control では指示薬を加えた後も透明なままであるのに対して、Sample A では若干ながら色の変化を確認することができた。吸光度測定の結果、pH1 の条件での波長 510 nm における吸光度はそれぞれ Sample A では 0.095、Control では 0.011 であった。溶出量を算出すると  $\text{Fe}^{2+}$  溶出量はそれぞれ 1.04 ppm、0.12 ppm となった。pH7 では 0.21 ppm、0.02 ppm であったことから微粒化により  $\text{Fe}^{2+}$  の溶出性が向上し、低 pH 領域でその効果が顕著であることが確かめられた。

塩化ヒドロキシルアミン溶液を加え  $\text{Fe}^{3+}$  を全て還元した系については、波長 510 nm における吸光度はそれぞれ Sample A では 0.560、Control では 0.020 となっておりであった。溶出量はそれぞれ 6.14 ppm、0.22 ppm であった。ここで求めた溶出量は 2 価ならびに 3 価の鉄イオンの総量であるため  $\text{Fe}^{2+}$  の溶出量を差し引いたものが  $\text{Fe}^{3+}$  の溶出量となる。先の結果と考え合わせると  $\text{Fe}^{3+}$  の溶出量は 5.10 ppm、0.10 ppm であることが分かった。 $\text{Fe}_3\text{O}_4$  には  $\text{Fe}^{2+}$  と  $\text{Fe}^{3+}$  が 1:2 の比率で含まれており、量論比通りに溶出していれば  $\text{Fe}^{3+}$  の溶出量は  $\text{Fe}^{2+}$  と比較して 2 倍となることが想定されるが、本実験においては約 5 倍の溶出量となっており、 $\text{Fe}^{3+}$  の優先的な溶解が観測された。今後、この原因を調査することで溶出量の制御が可能となると考えられる。

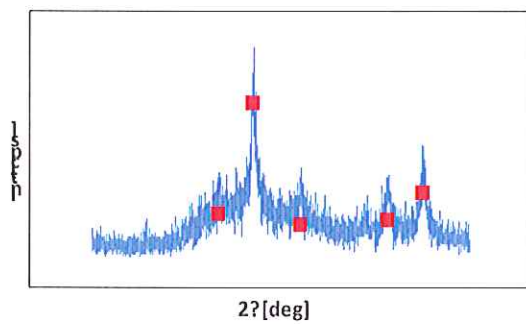


Fig. 1 XRD pattern of Sample A; red square indicates powder diffraction pattern for  $\text{Fe}_3\text{O}_4$

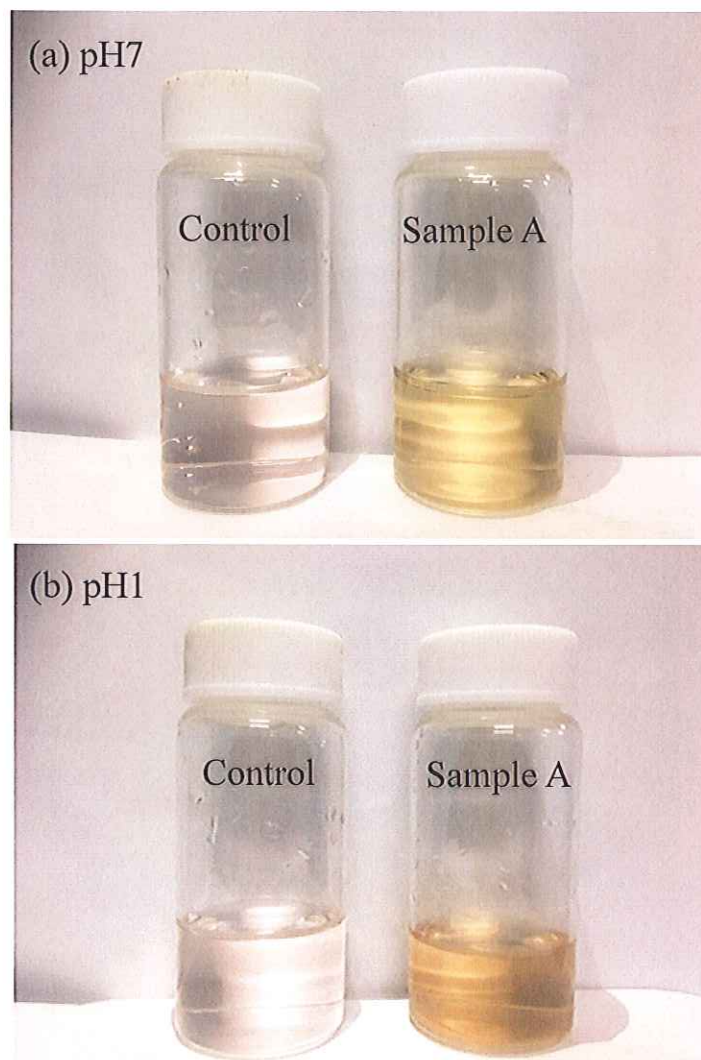


Fig. 2 Digital images of solutions after dissolution test at (a) pH 1 and (b) pH 7 with the addition of phenanthroline