

論文

身近な題材を使ったマイクロスケールの学生実験 —ソフトドリンクの鉄を調べる^{*1}—

荻野和子

(1994年5月25日受理)

1 緒言

化学実験の題材として身近なものをとりあげることは化学を専攻としない学生の興味をひきつける上で有効である。本短期大学部では近年若者が関心をもっている鉄を含む市販の飲料に注目し、4種の実験すなわち[1]鉄の検出と酸化状態の判定、[2]鉄の簡易比色定量、[3]吸収スペクトルと色の関係、[4]鉄の吸光光度定量を一般教育化学実験として1990年以来実施してきた。*Journal of Chemical Education*誌では1989年以来“microscale laboratory”¹⁾が掲載されており、マイクロスケールの実験についての成書も種々ある²⁾。マイクロスケールの化学実験には、(1)試薬と経費を節減できる、(2)省資源、環境問題への関心を啓発する、(3)安全性が増し、事故発生の防止に役立つ、(4)実験時間が短縮できる、(5)実験廃棄物を少量化しその処理に要する作業、経費の節約ができる

とともに環境に対する影響を小さくできる、などのメリットがある。本実験では、スケールを小さくすることを念頭においてマニュアルの改良をはかり、ほぼ満足できるものが得られたので報告する。

2 題材となる鉄飲料の選定

表1にあげる4種の鉄飲料について実験[1]～[4]を予備的に行ったところ、[1]はどの飲料でも可能だったが、[2]～[4]にはTÉTSUが最適であることがわかった。鉄含量が高く、着色料が加えられていないためである。

3 試薬および器具

3.1 試薬

2 mol/l Fe²⁺溶液：FeSO₄·7H₂O 0.556 g を水に溶解し、これに2 mol/l H₂SO₄ 0.5 mlと特記しない限りアスコルビン酸0.1 gを混和したのち、水を加え100 mlとする。この溶液は実験[2]～[4]では標準溶液として用いる。

2 mol/l Fe³⁺：
(NH₄)₂Fe(SO₄)₂·12H₂O 0.96 g, 2 mol/l H₂SO₄ 0.5 mlに水を加え100 mlとする。

その他：5 mol/l o-フェナントロリン(5 mol/l H₂SO₄を含む、以下o-phen溶液と略記)、ならびに0.1

表1 各種鉄飲料の成分等についての表示

商品名	1 ピン(缶) 中の鉄量	鉄の濃度	表示されている原材料名*
鉄骨飲料(サントリー)	120 ml中に 1 mg	0.15 m mol/l	乳酸カルシウム、塩化カルシウム、 カゼインホスフォペプチド、ペクチン、着色料など
Fe「エフ・イー」(宝酒造)	140 ml中に 2 mg	0.26 m mol/l	炭酸カルシウム、はち蜜、りんご酢、 着色料
C 1000 タケダ Fe(武田)	140 ml中に 4 mg	0.51 m mol/l	酸味料、果汁、糖類、コチニール色素
「TÉTSU」(森食品)	190 g中に 12 mg	1.13 m mol/l	ビタミンE、塩化カリウム、乳酸カルシウム、葉酸

* いずれの飲料でも、原材料として次のものが共通に表示されている。クエン酸鉄ナトリウム、ビタミンC、酸味料、果汁(りんご、レモン、グレープフルーツなど)、糖類(砂糖あるいは果糖ぶどう糖液糖)、香料

A Microscale Laboratory Experiment on Familiar Topics
—Iron in Soft Drinks—

Kazuko OGINO 東北大学医療技術短期大学部教授 理学博士。
[連絡先] 980-77 仙台市青葉区星陵町2-1(勤務先)。

* 1 平成5年度東北地区化学教育研究協議会(1993年10月、
於盛岡)で発表した。

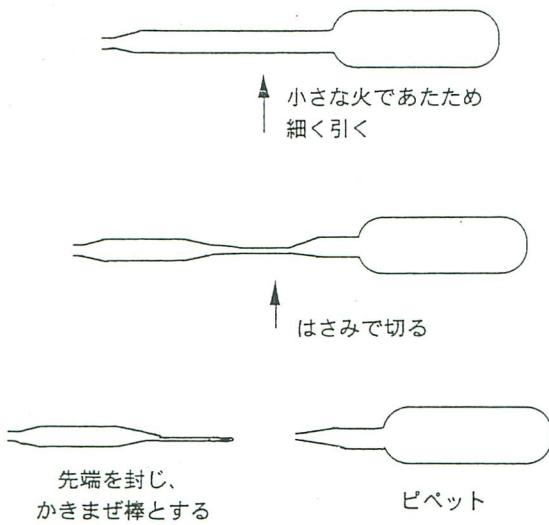


図1 ポリエチレン製ディスポートからピペットとかきませ棒をつくる。

mol/l KSCN, 1% $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 1% $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 2% アスコルビン酸, 2 mol/l 酢酸ナトリウムの各溶液を用意した。

3.2 器具

実験[1]用：磁製呈色板（滴板）

実験[2]用：ストリッププレート^{*2} 3本（I～III）

ならびにピペットとかきませ棒。後者は図1を参照して作る。すなわち 1 ml ポリエチレン製スポットの足をバーナーの小さな炎で熱し細く引き、この部分をはさみで切るとスポットの頭の方がピペットとなる。足の方は一端を熱して封じ、かきませ棒とする。ピペットからの 25～30 滴でストリップの穴1個をみたすものが適当である。試薬を採取する場合は、濃度の低い溶液から順次2回ずつ共洗いしながら行う。材質のポリエチレンが撥水性のため、内壁に液が残ることはない。かきませ棒は試薬を替えるごとに水ですすぎろ紙片で拭く。

実験[3], [4]用：可視分光光度計、ポリスチレン製 10 mm セル、5 ml メスフラスコ、ホールピペットあるいはディスペンサー。

4 結果と考察

4.1 鉄の検出と酸化状態の判定（実験[1]）について

滴板上に検液1滴とKSCNおよびo-phen溶液1滴を混和して、色調の変化と沈殿の生成を調べる。TÉTSU飲料ならびに Fe^{2+} , Fe^{3+} 溶液の反応は表2のように観察された。すなわちいづれの試薬においてもTÉTSUは Fe^{2+} と同様の反応を示し、このことからTÉTSU中の鉄が2価であることが確認された。

呈色反応を確認した滴板の Fe^{3+} 溶液にアスコルビン酸を1滴ずつ加えると、 Fe^{2+} 溶液と同じ色になる。これは、アスコルビン酸が Fe^{3+} を還元し、 Fe^{2+} を生じるためである。この実験を併せることによりアスコルビン酸の還元作用を認識させるとともに、鉄飲料にアスコルビン酸が添加されている目的について学生に考えさせることができる。

表2には、 Fe^{2+} と Fe^{3+} を判定する試薬として $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ と $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ を用いた場合の結果を示して比較した^{*3}。表2から、 $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液を用いて酸化状態を判定できるように見えるが、学生には色調の区別が困難なようであった。その原因是、TÉTSU中の微量の Fe^{3+} が少量のブルシアンブルーを生じるために、これを上から観察すると溶液の黄色が重なって試料全体が緑色に見える。

$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液とTÉTSUとの反応では、沈殿は少量しか見られない。これはTÉTSU中のアスコルビン酸が、滴下した試薬を還元するためである。また過剰の $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液を加えてアスコルビン酸をすべて酸化しても、ブルシアンブルーの沈殿はふえない。これはTÉTSU中で Fe^{2+} がクエン酸イオンと錯形成するためである。o-phenの場合には、 Fe^{2+} との錯体が安定があるので、このような不都合は起らぬ。

表2 鉄飲料の中の鉄の酸化状態についての滴板による反応の結果

試薬	Fe^{2+}	Fe^{3+}	TÉTSU
KSCN	変化なし(無色)	血赤色溶液	変化なし(無色)
<i>o</i> -phen	赤色溶液	変化なし(無色)	赤色溶液
$\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	ごく少量の青色沈殿	多量の青色沈殿	ごく少量の青色沈殿
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	多量の青色沈殿	変化なし (溶液は黄緑色)	少量の青色沈殿 (上澄み黄色)

* 2 96穴の培養プレートの穴1個の容量は約0.35 mlである。この穴が8個並んだストリップを用いる。これは、生化学実験用品として理化学器械店から120本5,000円程度で購入できる。

* 3 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ を用いる実験のときは、 Fe^{2+} 溶液としてはアスコルビン酸を含まないものを直前に調製して使った。

い。

TÉTSU を硫酸で酸性にして $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液を加えると、ブルシアンブルーの生成反応が見られる。強酸性では、クエン酸の解離がおさえられて Fe^{2+} が遊離すると同時に、アスコルビン酸の酸化還元電位が高くなり、以下の標準電位からわかるようにもはや $[Fe(CN)_6]^{3-} + e^- \rightleftharpoons [Fe(CN)_6]^{4-}$: 0.361 V³⁾、デヒドロアスコルビン酸 + $e^- \rightleftharpoons$ アスコルビン酸 : 0.39 V (pH 0) ; 0.127 V (pH 5)⁴⁾。

以上の理由と結果から、鉄の検出と酸化状態の判定には、 $K_3[Fe(CN)_6]$ 、 $K_4[Fe(CN)_6]$ よりも KSCN および o-phen を用いる方が効果的であると結論できる。o-phen の反応はアスコルビン酸の妨害も受けないので、 Fe^{2+} 溶液にアスコルビン酸を加えて酸化を防ぐことができ、溶液の長期保存にも好都合である。

最近、市販飲料中の鉄を検出する実験が報告された⁵⁾。この文献では飲料を蒸発乾固したのち灰化し、その残さを硝酸に溶解したものについて鉄を検出している。この処理により鉄は Fe^{3+} になるため、もとの飲料中での酸化状態を知ることはできない。

4.2 鉄の簡易比色定量（実験[2]）について

ストリップ I (Fe^{2+} の標準列) の 8 個の穴に 2 mol/l Fe^{2+} 標準溶液をピペットでそれぞれ 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20 滴ずつ入れる（図 2 参照）。次に純水を 19, 18, 16…, 0 滴加え、全滴数を 20 とし、かきませ棒で混ぜる。ストリップ II (比色標準列) の 8 個の穴に o-phen 溶液 10 滴、酢酸ナトリウム溶液 5 滴をとり、それにストリップ I の溶液を 3 滴ずつ加えかき混ぜる。室温で 1 分間放置するとトリス (フェナントロリン) 鉄(II)の生成により赤く発色する。ストリップ III (測定試料) の 1 穴に o-phen 溶液 10 滴、酢酸ナトリウム溶液 5 滴をとり、TÉTSU 試料 3 滴と

混ぜる。ストリップ II と III を並べて白い紙の上に置き上から、あるいは上下 2 段に保って横から眺めて比色する。

本法による TÉTSU の鉄濃度についての学生実験の結果は、1.0~1.6 mol/l の範囲にわたり、その平均値は 1.26 mol/l であった。この値は、缶の表示値（表 1）と TÉTSU の密度 1.03 g/ml から計算した TÉTSU 中の Fe^{2+} の濃度 (1.13 mol/l) に近く、ほぼ満足できる結果となった。ばらつきが大きかったのは学生がピペットの操作に不慣れだったためと考える。なお、ピペットからの滴数を数えるという溶液体積測定法のばらつきは、1 滴では 7~10%，10 滴では 1~3% と報告されている⁶⁾。

後述の[4]の吸光度法による定量のみでは、学生は初めて使う器械の操作のほか、「透過度」や「吸光度」などの術語にとまどって、限られた実験時間では検量線の意味等、吸光光度法の原理の理解が不十分に終わる場合もあった。しかし、この簡単な比色法をあらかじめ行うことにより、ほとんどの学生がその原理を十分理解するようになった。

4.3 吸収スペクトル測定と色の関係（実験[3]）について

5 ml メスフラスコに、あらかじめ希釈して調製した 0.4 mol/l Fe^{2+} 標準溶液 1 ml と o-phen 溶液 0.5 ml ならびに酢酸ナトリウム溶液 1 ml をとり、純水で標線をあわせると、0.080 mol/l トリス (フェナントロリン) 鉄(II)溶液が得られる。この溶液の 350~630 nm の吸光度を測定し、錯体の可視部の吸収スペクトルを描く。このスペクトルは 510 nm 付近に吸収極大をもち、赤色の原因がこの波長の光の吸収によることがわかる。すなわち、光の波長と色、吸収される光と目に見える色との関係についての指導を発展させることができる。

	1	2	3	4	5	6	7	8		
採取する 滴数	1	2	4	6	8	12	16	20	滴	$2.0 \text{ mmol/l } Fe^{2+}$
	19	18	16	14	12	8	4	0	滴	純水

濃度	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.2	1.6	2.0	mmol/l	$[Fe^{2+}]$

図 2 ストリッププレート I で 8 種の濃度の Fe^{2+} 溶液をつくる。ストリッププレートの大きさは、長さ 82 mm、幅 9 mm、高さ 13 mm である。

4.4 鉄の吸光度定量（実験[4]）について

前節と同様にして、濃度 0.04 mol/l と 0.06 mol/l のトリス（フェナントロリン）鉄(II)溶液を調製し、 510 nm の吸光度を測定する。錯体濃度に対して吸光度をプロットすると、検量線ができる。次に、 Fe^{2+} 標準溶液の替りに 0.25 ml/l の TÉTSU 飲料を加えた試料溶液を調製し、その吸光度を測定する。なお、TÉTSU 飲料自身の着色と濁りの寄与を補償するために、試料溶液の吸光度の測定にあたっては対照溶液^{*4} を用いた。

試料溶液の吸光度と検量線から、TÉTSU の Fe^{2+} 濃度を計算する。学生実験の結果は、 $0.94 \sim 1.23 \text{ mol/l}$ にわたり、その平均値は 1.04 mol/l と缶の表示値に近く、簡易比色法よりばらつきが少なくほぼ満足できる結果となった。

吸光度測定のための溶液の調製にあたっては、 Fe^{2+} 標準溶液および TÉTSU をディスペンサーで採取した。これはホールピペットに比べると精度は劣るが、操作が簡単で、かつ迅速に実験できる。

表1にあげた他の3種の鉄飲料はいずれも、*o*-phen 溶液に対して呈色し、吸光度法による Fe^{2+} 濃度の見積りは可能であるが、鉄骨飲料の場合には安定した発色にいたるまでに約5分の放置が必要であった。

4.5 鉄飲料を題材とする際の留意事項

本実験を通じて、鉄飲料中の鉄は、腸から吸収されやすい Fe^{2+} の化学形に調製されていること、またア

スコルビン酸の添加が開缶後も鉄を2倍に保っていることがわかる。アスコルビン酸は非ヘム鉄の吸収因子でもある^{7,8)}。成人1日の鉄の必要量は、男子10mg、女子12mgとなっている⁹⁾。鉄が欠乏すると鉄欠乏性貧血になるが、他の必須金属と同様に大量に摂取すると害があることがある。鉄過剰症（ヘモクロマトーシス）では体内の過剰の鉄は、水酸化物となっていろいろな臓器に沈着したり、肝硬変などさまざまな障害を起こすという⁹⁾。本実験をとりあげる場合には、以上のような栄養としての鉄の意義についても説明を加えるべきであろう。

謝辞 ソフトドリンク中の鉄を検出するという題材は、本短期大学部衛生技術学科2年の大沢美佳さんをはじめとする6名の学生が平成2年7月の学園祭で「鉄欠乏性貧血について」として取り組んだのに筆者がかかわったことに始まる。また同年9月には常盤木学園高等学校の生徒数名が学園祭でとりあげるために筆者に実験方法の教示を求めた。学園祭の様子は同校の田村やす子教諭が冊子にまとめて報告してくださった。本報をまとめるにあたり、以上の諸氏に感謝する。なお、本研究の一部は文部省科学研究費01580269ならびに06680166により行ったものである。

文 献

- 1) A. P. Zipp, *J. Chem. Educ.*, 66, 956 (1989).
- 2) たとえば、S. Thomson, *Chemtrek: Microscale Experiments for General Chemistry*, Allyn and Bacon, 1990.
- 3) 日本化学会編, *化学便覧*, 改訂4版, 基礎編II (1993).
- 4) The Merck Index, 11th Ed., Merck & Co., 1989; 岩波理化学辞典, 第4版, 岩波書店 (1987).
- 5) 藤田勲, 米沢剛至, 化学と教育, 41, 780 (1993).
- 6) J. Ealy, M. Pickering, *J. Chem. Educ.*, 68, A 120 (1991).
- 7) 厚生省保健医療局健康増進栄養課, 第四次改定日本人の栄養所要量, 第一出版 (1989).
- 8) 田中平三, 公衆栄養学, 南江堂 (1990), 82頁.
- 9) たとえば、山村雄一編, 新内科学, 第1巻, 南山堂 (1977), 501頁.

*4 *o*-phen以外の成分を試料溶液と同一にしたもので、 510 nm の吸光度は約0.01である。これは、試料溶液の吸光度の2%以下なので、今回の試料では対照溶液の吸光度は無視してもよい。