全反射フーリエ変換赤外分光法による透析膜分析

鈴木 好夫 藤本 悦子^{*1} 永岡 隆^{*2} 山田 明^{*3}大妻女子大学家政学部 大妻女子大学短期大学部^{*1} 相模原クリニック^{*2} 虎の門病院腎センター^{*3}

key words: 透析膜, FTIR 法, 赤外分光法

〈要旨〉

これまで透析膜の分析には使用されることがない全反射 (attenuated total reflection) フーリエ変換赤外分光法 (Fourier transform infrared spectroscopy) (FTIR-ATR) 法で各種膜素材ダイアライザーファイバー外表面の使用前後と使用後、使用後については動脈側 (A 側) と静脈側 (V 側) の赤外線吸収スペクトルを測定した。その結果、使用前の Cu アンモニウム膜、改質セルロース DEAE 膜、改質セルロース Vit. E 膜、改質セルロース PEG 膜の赤外線吸収スペクトルは同じであった。使用後には赤外線吸収スペクトルの吸収バンドから、Cu アンモニウム膜では V 側にアミド結合に起因するカルボニル基およびアミノ基が、DEAE 膜では A 側にアミド結合に起因するアミノ基が、Vit. E 膜では A 側にアミド結合に起因するカルボニル基が観察された。PEG 膜は使用前後で吸収スペクトルに変化が認められなかった。使用前のセルローストリアセテート膜は Cu アンモニウム膜と異なる吸収スペクトルを示し、使用後は膜素材のアセチル基の C=O の低周波側へのシフトが観察された。FTIR-ATR 法は透析膜素材の分析法になりうると考えられた。

Analysis of hemodialysis membrane surface with Fourier transform infrared spectroscopy

Yoshio Suzuki, Etsuko Fujimoto^{*1}, Takashi Nagaoka^{*2}, Akira Yamada^{*3}Faculty of Home Economics, Otsuma Women's University; Otsuma Women's Junior College^{*1}; Sagami Clinic^{*2}; Department of Nephrology, Toranomon Hospital^{*3}

Infrared absorption spectra of several kinds of HD membranes before and after HD treatment were obtained by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy fitted with an attenuated total reflection (ATR) attachment with Ge reflection elements in order to analyze the external membrane surface.

For cases of cuproammonium rayon membrane and modified cellulose membranes such as DEAE and Vit. E-coated cellulose membrane, two new bands assigned to C=O stretching vibration mode (amide I band) and N-H deforming vibration mode (amide II band) were observed after use, indicating adsorption of proteins on the membrane surface. For PEG-coated modified cellulose membrane, there was no change in the spectrum after use. For cellulose triacetate membrane, C=O stretching vibration band assigned to acetyl groups of the membrane shifted to a lower wavenumber after use, indicating chemical adsorption of proteins on the acetyl groups of membrane.

The FTIR-ATR method is one of the methods of analyzing the external membrane surface.

緒 言

透析膜の新素材の開発や膜質の改質が今もなお行われているが、その際の検討には膜-血液界面の膜局所

での反応を補体、サイトカインの定量や、使用後ダイアライザーへの免疫グロブリン沈着を蛍光顕微鏡で半定量することや電子顕微鏡による膜面観察が行われている。今回全反射フーリエ変換赤外分光法 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR-ATR) によ

鈴木 好夫 大妻女子大学家政学部 〒102-8357 千代田区三番町 12 (03-5275-6074)

Yoshio Suzuki Fax 03-5275-3210

〔受付:平成 11 年 6 月 14 日, 受理:平成 11 年 10 月 4 日〕

り使用前後の各種ダイアライザーファイバーの外表面を観察し、赤外線吸収スペクトルを検討した。

I. 対象および方法

対象としたダイアライザーは再生繊維であるキュプロアンモニウムレーヨン膜 (Cu アンモニウム膜)、セルローズトリアセテート膜、改質セルローズ膜のひとつであるセルロース膜表面の OH 基を diethylaminoethyl (DEAE) 基で置換した DEAE コーティング膜 (DEAE 膜)、同じくセルロース膜表面の OH 基をビタミン E で置換したビタミン E コーティング膜 (Vit. E 膜)、同じくセルロース膜表面の OH 基を polyethyleneglycole (PEG) で置換した PEG コーティング膜 (PEG 膜) である。

赤外線吸収スペクトルの測定は日本分光社製 7300 型 FTIR 装置に多重反射装置 ATR-500/M を設置し

行った。

ダイアライザーは使用前および使用後、使用後についてはいわゆる動脈側 (A 側) と静脈側 (V 側) のファイバーの赤外線吸収スペクトルを測定した。すなわちダイアライザーハウジング両端を切断してファイバーを取り出し、はさみで切断したその適当量 (ひとつまみ) を ATR-500/M のゲルマニウム (Ge) プリズムに密着させ (図 1)、ファイバーの外表面の赤外吸収スペクトルを積算回数 200 回、分解能 4 cm^{-1} (wave number) の条件で測定した。

II. 結 果

赤外線吸収スペクトルの測定結果を図 2～図 4 に示した。ここで、実線は使用前、点線は使用後 V 側、破線は使用後 A 側の赤外線吸収スペクトルを示す。

使用前の Cu アンモニウム膜、DEAE 膜および Vit. E 膜の赤外線吸収スペクトルは同じである。図 2 には、これら 3 種類の膜の使用前に比べ使用後に変化が観測された領域の赤外線吸収スペクトルを示した。ここで、 1650 cm^{-1} の吸収バンドは透析膜に付着した水によるものである。使用前、使用後の V 側および A 側でこのバンドの強度が異なるのは試料作成時における含水状態が異なるためである。Cu アンモニウム膜の場合には使用後 V 側に 1750 cm^{-1} と 1550 cm^{-1} に新しいバンドが観測された。前者のバンドはアミド結合の $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動に、後者のバンドはアミド結合の $\text{N}-\text{H}$ 変角振動に帰属され、使用後 V 側の透析膜にタンパク質が付着していることを示している。DEAE の場合には、使用後 A 側に $\text{N}-\text{H}$ 変角振動バンドが観測された。Vit. E の

図 1 Sample holder with dialysis membrane fibers on germanium (Ge) element

図 2 Changes of FTIR-ATR spectra of cuproammonium rayon membrane (left), modified cellulose DEAE membrane (center) and modified cellulose Vit. E membrane (right) before and after HD treatment [—before use,after use (V side), ----- after use (A side)]

図 3 FTIR-ATR spectra of modified cellulose PEG membrane

図 4 Changes of FTIR-ATR spectra of cellulose triacetate membrane before and after HD treatment

場合には、使用後 A 側に C=O 伸縮振動バンドが観察された。DEAE と Vit. E の場合にも使用後 A 側の透析膜にタンパク質が付着していることを示している。

図 3 には、PEG 膜の赤外吸収スペクトルを示した。使用前後で V 側にも A 側にもスペクトルの変化は認められず、セルロース膜表面を PEG でコーティングすることにより、タンパク質の付着が阻止されることを示唆している。

図 4 には、セルローストリアセテート膜について、使用前と使用後で変化が観察された領域の赤外吸収スペクトルを示した。この図から膜素材のアセチル基の C=O 伸縮振動バンドが帰属される 1743 cm^{-1} バンドが使用後に低周波数側にシフトしていることがわかる。これは、膜素材のアセチル基の C=O にタンパク質が化学吸着していることを示唆している。

III. 考 察

今世紀のはじめに多くの物質の赤外スペクトルが測

図 5 Illustration of germanium (Ge) prism loaded with sample (IR infrared rays)

定された。1940 年代に近赤外分光法が開発され、同時に近年コンピューターの著しい進歩があって、分光器が測定した測定量をフーリエ変換という数学処理を瞬時に行って目的とする吸収スペクトルを得ることが可能となった^{1,2)}。図 5 は FTIR-ATR 法の試料設置部分の図解である。ゲルマニウムプリズムを通過した赤外線は試料界面で全反射する際に 2000 cm^{-1} の領域で試料中に約 $0.1\text{ }\mu\text{m}$ 潜り込む。その際に試料化合物中の結合原子間の振動エネルギーに相当する特定の波長の赤外線が吸収される。従って吸収された赤外線を FTIR-ATR 法によって測定することにより、試料化合物の化学構造および化学結合状態についての知見を得ることができる。

非破壊検査法のなかで最も進んだ方法である近赤外分光法は、食品一般、医薬品、繊維³⁾など液体、固体の区別なく検査対象を広げ、品質管理上の重要な方法である。さらに人体への非侵襲的な検査法として皮膚表面からの血液中酸素濃度モニターや体脂肪測定器などに用いられている。

今回我々は近赤外分光法で各種ダイアライザーの透析膜外表面スペクトルを測定し、透析膜種ごとのスペクトルの異同と透析治療使用前後の透析膜のスペクトル

表 Change of FTIR-ATR spectra of dialysis membrane after HD treatment

membrane	change of spectra	comment
cuproammonium rayon	+	Two bands assigned to C=O and N-H were observed after use (V side).
modified cellulose DEAE	+	Band assigned to N-H was observed after use (A side).
modified cellulose Vit. E	+	Band assigned to C=O was observed after use (A side).
modified cellulose PEG	-	No change was observed.
cellulose triacetate	+	Band assigned to C=O shifted to the lower number after use.

ル変化を知ることができた。表に使用前後での変化の有無、内容を挙げてある。今回の近赤外分光法による研究で透析膜ファイバーの外表面のスペクトルという制約があるが、透析膜と血液の化学的反応を膜の化学構造の変化として知ることができた。Cu アンモニウム膜の OH 基を PEG で置換した PEG 膜では、使用前と使用後に吸収バンドに変化がなく、PEG 膜が補体を活性化しない事実⁴⁾と考え合わせると興味深い。Sotonyi ら⁵⁾は血液透析膜を再使用したときの変化の検討を FTIR 法で行っている。

1 本の透析膜ファイバーを縦方向に切断し、内面を顕微赤外分光法という方法により吸収スペクトルを測定する方法も考えられるが技術的検討が必要である。

結 論

以上の成績および考察に基づいて、観察した限りの透析膜種に関して以下の結論を得た。

1) 透析膜種別の化学構造に応じて固有のスペクトルが得られた。

2) 透析膜種によっては使用後のスペクトルに新しいバンドの出現と固有吸収バンドのピークシフトが観察され、タンパク質の透析膜への化学吸着が認められた。

3) FTIR-ATR 法は使用前後の透析膜外表面の分析法となり得ると考えられた。

文献

- 1) 錦田晃一, 岩本令吉: 赤外法による材料分析. 講談社サイエンティフィク, 1996
- 2) 田隅三生編著: FT-IR の基礎と実際. 東京化学同人, 1994
- 3) 藤本悦子: 繊維の偏光全反射赤外吸収スペクトル. 大妻女子大学紀要一家政系-30 号: 51-64, 1994
- 4) 鈴木好夫, 蟹由 斉, 那須野修一, 柴田 猛, 二瓶 宏, 三村信英: Modified cellulose 膜ダイアライザー (MC-120) の生体適合性の研究. 人工臓器 16: 812-816, 1997
- 5) Sotonyi P, Jaray J, Padar Z, Woller J, Furedi S, Gal T: Comparative study on reused haemodialysis membranes. Int J Artif Organs 19: 387-392, 1996