



フラビリウムイオン誘導体は無機固体材料に吸着させたpH 試験剤の合成とその性質

メタデータ	言語: jpn 出版者: 宮崎大学教育学部 公開日: 2020-06-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 田中, 友子, 有井, 秀和, Tanaka, Tomoko, Arii, Hidekazu メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10458/6930

フラビリウムイオン誘導体を無機固体材料に吸着させた pH 試験剤の合成とその性質

田中友子・有井秀和

Synthesis and Properties of Flavylium Ion Derivatives as a pH Indicator Adsorbed on Inorganic Materials

Tomoko TANAKA and Hidekazu ARII

要旨

リトマス試験紙や pH 試験紙は溶液の pH を確認する簡便なツールであり、小中学校の化学領域における溶液の性質を理解する上においても重要なものである。これらは紙に色素が染み込ませてあるので 1 回限りの利用に止まるが、繰り返し利用できるあるいは溶液に常時入れておける pH 試験剤があれば、より実験における適用範囲が広がることを期待される。本研究ではアントシアニン系色素に着目し、発色団である 3',4',7-trihydroxyflavylium chloride (色素 A) を合成し、シリカゲルやゼオライトへの吸着によって、色素の媒体からの流出を抑制した pH 試験剤の合成を行なった。

合成した色素 A は水酸基を三つ持つため、pH に対応して複数の色変化を示し、その pK_a は $pK_{a1} = 4.35(7)$, $pK_{a2} = 7.349(6)$ と見積もられた。色素 A をシリカゲルに吸着させ、酸・塩基による耐性試験を行うと、徐々に色素の流出と分解が観測された。一方、ゼオライトの一つである水素モルデナイトに吸着させると、色素の流出は抑えられ、塩酸あるいは水酸化ナトリウム水溶液をそれぞれ 30 回反応させても、色変化に違いは見られなかった。

以上の結果より、色素 A を水素モルデナイトに吸着させることで流出を抑え、繰り返し利用可能な pH 試験剤を合成することができた。

1. 序論

理科学習指導要領第 1 分野の内容 (6) 化学変化とイオンでは、酸・アルカリとイオンという単元が設定されており、液性の判断にはリトマス試験紙や pH 試験紙が用いられている。また、発展的な内容として、紫キャベツなどから色素を抽出し pH の変化を判断することができるということも紹介されている。小中学校でよく用いられているリトマス試験紙や pH 試験紙などは、色素を紙に染み込ませてあるため、非常に簡易的に液性を確認できるが、一回限りの

利用である。また溶液の液性の経時変化を追跡する場合（例えば水槽の水質管理）、試験紙を溶液に浸けておくことはできず、溶液を取り出して確認するか pH メーターを用いて確認する必要がある。これらのことから、我々は比較的簡便に液性を確認でき、かつ繰り返し利用可能な pH 試験剤の開発を研究目的とした。

リトマス試験紙や pH 試験紙では紙から色素が流失してしまうため、色素が流れ出ないようにものに固定化する必要がある。また、用いる色素に関しても pH 変化に対して可逆的なものでなければならない。pH 変化によって色を変える紫キャベツの色素はアントシアニン色素であり、単一の化合物であるにも関わらず、複数の pH 領域で固有の色を示す。この色素は紫キャベツだけでなく、ブルーベリー、すみれ、いちごなど私たちの身の回りの植物にも含まれている。しかし、天然色素は糖鎖を含み、その切断が分解を引き起こすことがわかっており¹⁾、繰り返し使うことはできない。天然物の構造から糖鎖を除いた発色団はフラビリウムイオンと呼ばれ、我々はその一つである 3',4',7-trihydroxyflavylium chloride (Figure 1, 以下、色素 A とする) を合成することにした。また、フラビリウムイオンは中性～塩基性条件下で安定性が低いが、無機固体材料との複合化により熱や光に対して安定性が向上するということが報告されており²⁻⁴⁾、pH に対しても安定性が向上することを期待し、無機固体材料との複合化を試みた。

本研究では、色素 A を合成し、溶液中での挙動を明らかにし、無機固体材料に吸着させ、酸・塩基に対する耐性評価を行った。色素を吸着させる無機固体材料の種類は様々考えられるが、中性の球状シリカゲルとゼオライトの一つである水素モルデナイトを用いることにした。

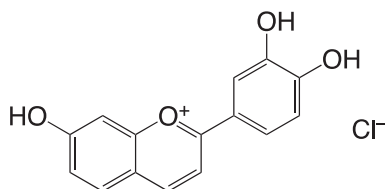


Figure 1. 3',4',7-Trihydroxyflavylium chloride
(色素 A) の構造.

2. 実験方法

試薬は東京化成もしくは関東化学から購入したものを用いた。UV-vis スペクトルの測定は、SIMADZU MultiSpec-1500 もしくは日本分光 V-750 紫外可視分光光度計を使用し、300-800 nm について測定した。セルは光路長が 1 cm の石英セルを使用した。pH の測定は、HORIBA LAQUAact ポータブル型 pH メーターを用いた。校正は pH 4.01, 6.86, 9.18 の標準液を用いて、2点もしくは3点校正を行った。NMR スペクトルの測定は、Bruker AVANCE 400 核磁気共鳴装置を使用した (¹H の共鳴周波数 400 MHz)。ケミカルシフトは、¹H は重溶媒の残留プロトン (CDCl₃, 7.26 ppm) で補正した。

2.1 3',4',7-Trihydroxyflavylium chloride (色素 A) の合成⁵⁾

二口フラスコに 3',4'-dihydroxyacetophenone (1.0 g, 6.6 mmol)、2,4-dihydroxybenzaldehyde (0.91 g, 6.6 mmol) を入れ、酢酸エチル (10 mL) に溶かし、NaCl (10.4 g, 0.18 mol) に H₂SO₄

(9.4 mL) を滴下して発生させた塩酸ガスを吹き込みながら 0 °C で 3 時間攪拌し、攪拌しながら冷蔵庫で冷却保管した。析出した固体を吸引ろ過及び圧搾後、真空ラインで乾燥したところ、赤色粉末 0.43 g が得られた (収率 22%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.3-9.9 (br, 1H, OH), 9.12 (dd, *J* = 9.2 Hz, *J* = 0.8 Hz, 1H, Ar), 8.38 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, Ar), 8.16 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, Ar), 8.02 (dd, *J* = 8.4 Hz, *J* = 2.4 Hz, 1H, Ar), 7.89 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Ar), 7.57 (dd, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.8 Hz, Ar), 7.43 (dd, *J* = 8.8 Hz, *J* = 2.4 Hz, 1H, Ar), 7.12 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, Ar).

2.2 色素 A の UV-vis スペクトル測定

ねじ口瓶に色素 A (2.0 mg, 7.0 μmol) を入れ、塩酸と水酸化ナトリウムを用いて目的の pH 領域にし、UV-vis スペクトルを室温で測定した。同様にイオン交換水の代わりにメタノールを用いて同様の実験を行った。またそれぞれの溶液の様子を写真で撮影した。

色素は溶液中での安定性を観測するため、色素の水溶液およびメタノール溶液の 1 時間後の UV-vis スペクトルも測定した。

2.3 色素 A の p*K*_a の算出

ビーカーに色素 A (7.2 mg, 24.8 μmol) とイオン交換水 (10 mL) を加え、超音波洗浄機で攪拌をし、完全に溶解させた。この溶液 (1 mL) を別のビーカーにうつし、NaCl (0.30 g, 5.1 mmol)、12 M 塩酸溶液 (1 mL)、イオン交換水 (98 mL) を加えガラス棒で攪拌した (24.8 μM)。その後、希釈した水酸化ナトリウム水溶液をパストゥールピペットで滴下し、pH 2.42, 2.64, 2.96, 3.13, 3.33, 3.53, 4.21, 4.33, 4.58, 4.86, 5.30, 5.80, 6.15 の UV-vis スペクトル測定を行い、p*K*_{a1} を算出した。p*K*_{a2} に関しては、pH 4.24, 7.37, 7.70, 8.16, 8.57, 8.93, 9.26, 9.63 で行った。二つの p*K*_a の算出には既報の以下の式 (1) を用い⁶⁾、化学種として完全にプロトン化されているものを AH₂⁺、逐次的にプロトン解離したものを AH, A⁻ と表し、*D*₀ は pH 変化前の任意の波長の吸光度 (p*K*_{a1} では pH 2.42 のときの 469 nm の吸光度、p*K*_{a2} では pH 4.24 のときの 550 nm の吸光度) で *D* は pH 変化後の吸光度、ε は各化学種のモル吸光係数である。

$$K_{a1} = \frac{[AH][H^+]}{[AH_2^+]}, \quad K_{a2} = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]}$$

$$\frac{D_0}{D - D_0} = \frac{[H^+]}{\left(\frac{\varepsilon_{AH}}{\varepsilon_{AH_2^+}} - 1\right) K_{a1}} + \frac{1}{\frac{\varepsilon_{AH}}{\varepsilon_{AH_2^+}} - 1} \dots (1)$$

2.4 無機固体材料への吸着と耐性試験

無機固体材料として、シリカゲルとゼオライトを用いた。シリカゲルはカラムクロマトグラフィー用の中性の球状シリカゲルを使用し、ゼオライトは合成ゼオライトの一つである水素モルデナイトを使用した。ビーカーに色素 A (2.5 mg, 8.6 μmol)、メタノール (5 mL) を加えて攪拌し、無機固体材料 (シリカゲル 1.0 g もしくは水素モルデナイト 0.50 g の入ったねじ口瓶に注いだ。1 時間浸漬後、上澄みをパストゥールピペットで取り除いた。その後イオン交換水をねじ口瓶に満たし、同様に上澄みを取り除く作業を 10 回繰り返したのち、メタノールでも 1 回

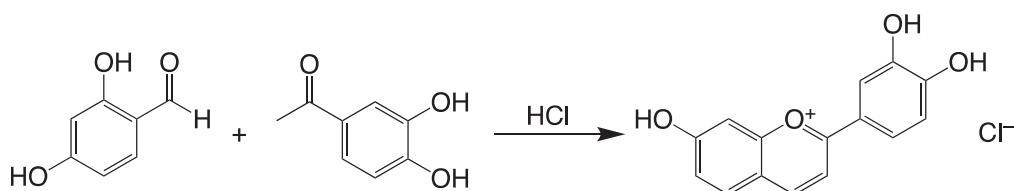
洗浄した。その後、ロータリーエバポレーターで溶媒を除いて冷蔵庫で保管した。

得られた色素の吸着した無機固体材料を、濾紙を3枚重ねた上に少量置き、0.1 M 塩酸と0.1 M 水酸化ナトリウムを交互に滴下して色変化を観察し、写真を撮影した。その後10回目、20回目、30回目と繰り返した時の写真も撮影し、記録を行なった。

3. 結果

3.1 合成

既存の合成法では、アセトフェノン誘導体及びベンズアルデヒド誘導体を酢酸エチル溶媒中で塩酸ガスを吹き込みながら0 °Cで90分攪拌し、その混合物を-18 °Cで3日間冷却保管することによって得られることが報告されている⁵⁾。色素Aでは、90分攪拌後にフラスコ内に析出物が確認できなかったため攪拌を続けると、3時間後、沈殿が生じ、その後冷蔵庫で保管した。¹H NMR スペクトルの測定結果より、色素Aの生成が確認された (Scheme 1)。



Scheme 1. 色素Aの合成.

3.2 溶液中の挙動

色素Aをイオン交換水に溶解すると、酸性～塩基性においてそれぞれ黄、橙、紫、黒のような4色の色変化を示した (Figure 2(a))。塩基性溶液についてはpH 8程度では1時間程度での明らかな退色は見られないが、pHが高くなるにつれて、速く退色しているように見えた。メタノール溶液中では0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液の添加によって水溶液中とは異なる色が確認され、5色の色を示した (Figure 2(b))。UV-vis スペクトルを測定すると、酸性溶液中での極大吸収波長はイオン交換水中においては469 nm ($\epsilon = 4.39 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)、メタノール中では488 nm ($\epsilon = 4.51 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)であり、メタノールの方が長波長側にシフトしていた。

溶液中での安定性を検討するため、0.01 M 塩酸水溶液と0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液に色素Aを溶かし、20分毎に1時間測定した。その結果、0.01 M 塩酸水溶液では1時間後もほとんど変化が見られなかったのに対し、0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液では20分後に561 nmの吸収はほとんど消失し、新たに487 nmに吸収が現れた (Figure 3)。このことは化学種の構造が大きく変化したことを示している。一方、0.01 M 塩酸と0.01 M 水酸化ナトリウムのメタノール溶液で同様の測定を行うと、どちらの溶液でも吸収帯に大きな変化は見られなかった (Figure 4)。

色素Aの水溶液のpHを徐々に変化させ、一段階目と二段階目の $\text{p}K_{\text{a}}$ の算出を行うと、どちらも式(1)に従い近似直線が得られ、傾きと切片から $\text{p}K_{\text{a}1}$ は4.35(7)、 $\text{p}K_{\text{a}2}$ は7.349(6)であった (Figure 5, 6)。三段階目の $\text{p}K_{\text{a}3}$ については、pHが高いため色素の分解が起き、算出することはできなかった。

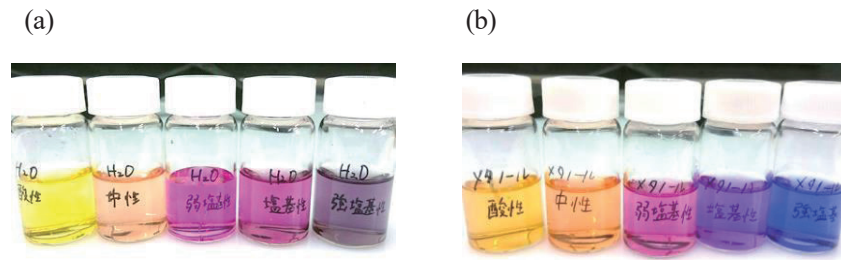


Figure 2. 色素 A の溶液中での色変化: (a) 水溶液, (b) メタノール溶液. (a), (b) ともに左から右の順で pH は高くなっている.

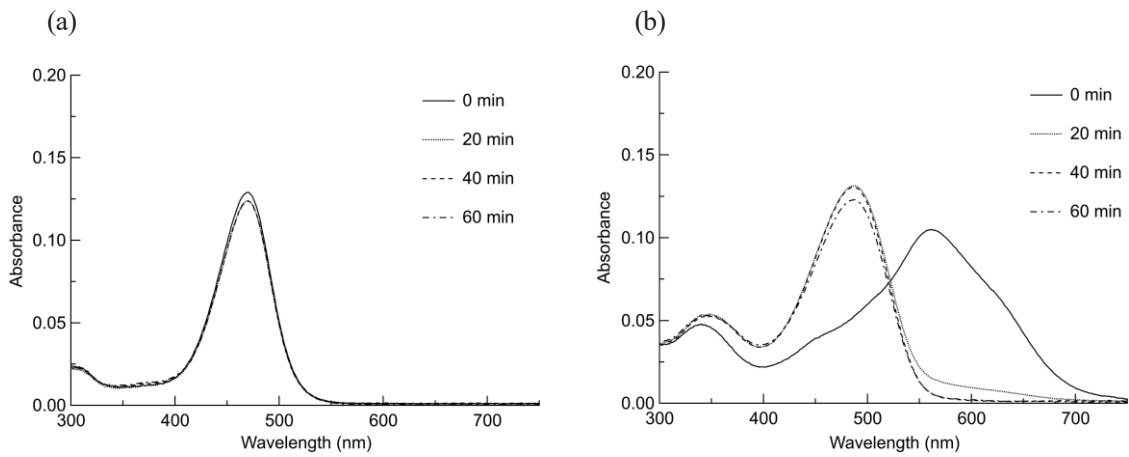


Figure 3. 水溶液中での色素 A の経時変化: (a) 0.01 M HCl, (b) 0.01 M NaOH.

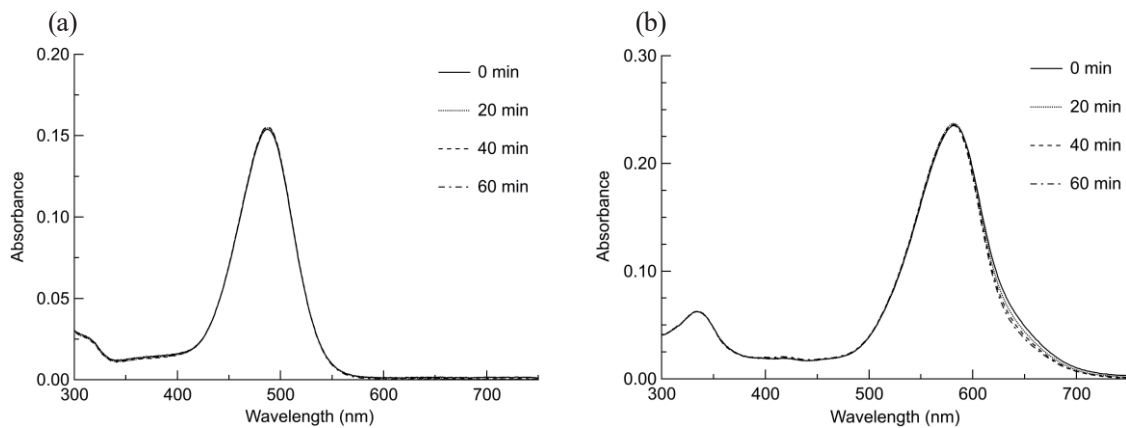


Figure 4. メタノール溶液中での色素 A の経時変化: (a) 0.01 M HCl, (b) 0.01 M NaOH.

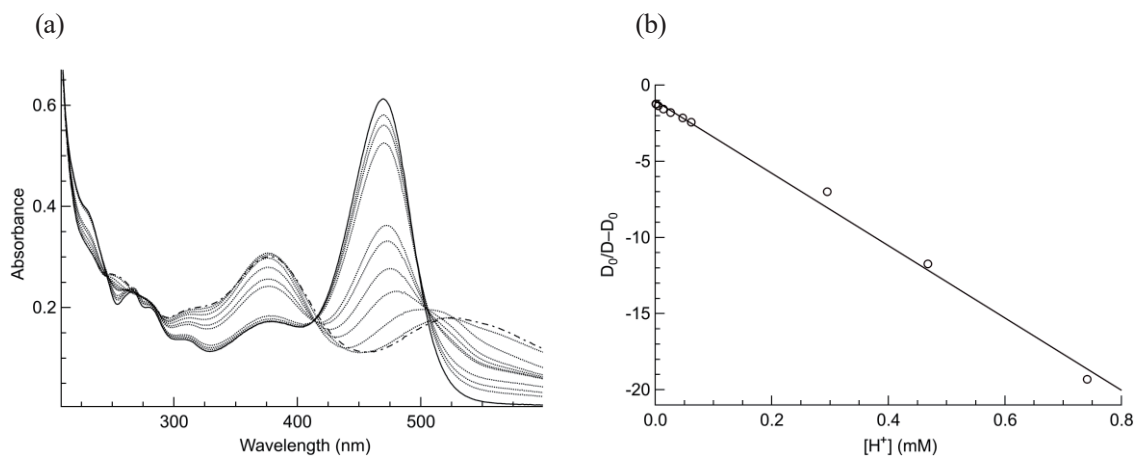


Figure 5. (a) pH 変化に対する色素 A の UV-vis スペクトル: 470 nm の吸光度の上から pH 2.42 (実線), 2.64, 2.96, 3.13, 3.33, 3.53, 4.21, 4.33, 4.58, 4.86, 5.3, 5.8 (以上点線), 6.15 (破線). (b) $D_0/D-D_0$ vs. $[H^+]$ プロット.

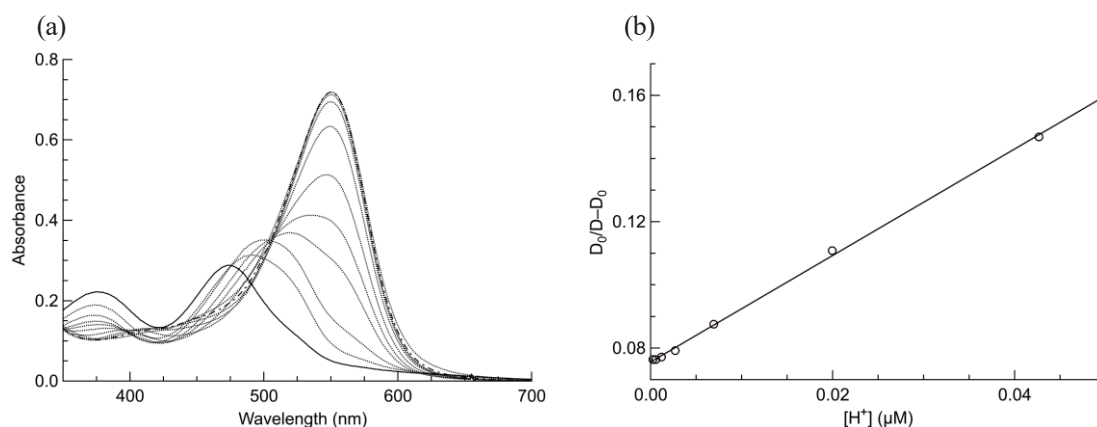


Figure 6. (a) pH 変化に対する色素 A の UV-vis スペクトル: 550 nm の吸光度の下から pH 4.24 (実線), 5.36, 6.35, 7.00, 7.37, 7.70, 8.16, 8.57, 8.93, 9.26 (以上点線), 9.63 (破線). (b) $D_0/D-D_0$ vs. $[H^+]$ プロット.

3.3 吸着

シリカゲルに色素 A を吸着させると、シリカゲルは紫色の粉末になった。0.1 M 塩酸水溶液と 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液を交互に反応させると 5 回目までは、はっきりと黄色、紫色と交互に色変化を示しているが、10 回目ではろ紙に色素が流出しており、20 回目では酸性側で示されていた黄色が退色し、薄い紫色を示し、色変化の判断ができない状態になっていた (Figure 7)。

一方、水素モルデナイトに色素 A を吸着させると、水素モルデナイトは黄色の粉末になった。0.1 M 塩酸水溶液と 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液を交互に反応させると、水素モルデナイトがかたまりになっている部分は反応が遅いが、薄く広げると反応が速くなった。水素モルデナイトを薄く広げた状態で酸、塩基を交互に反応させると、30 回目も 1 回目と同様の色変化を示していた (Figure 8)。水素モルデナイトに吸着した色素の安定性を確認するため、色素 A

の吸着した水素モルデナイトを、それぞれ 0.01 M 塩酸水溶液と 0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液に 1 時間浸漬した後、反射スペクトルを測定した (Figure 9)。0.01 M 塩酸水溶液で処理したものは 489 nm に、0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液のものは 537 nm に吸収帯が観測され、水溶液に色素 A を溶かした場合と異なり、それぞれの液性に特徴的な吸収帯を維持していることが示された。

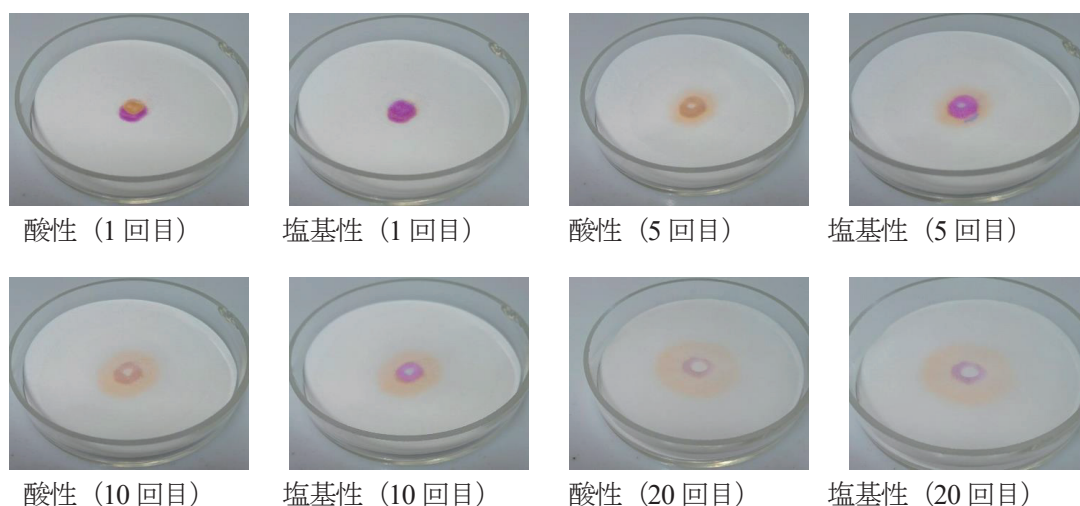


Figure 7. シリカゲルに吸着させた色素 A における酸・塩基の耐性試験.

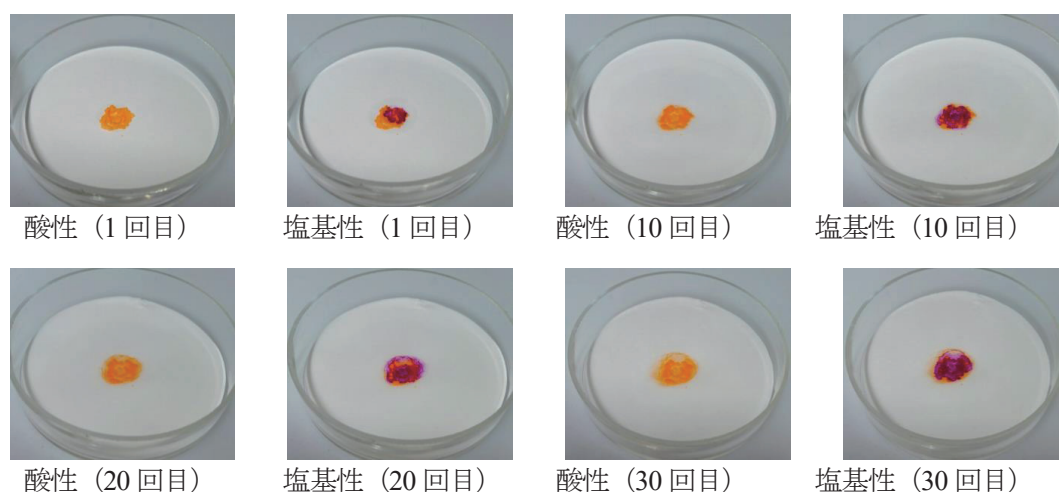


Figure 8. 水素モルデナイトに吸着させた色素 A における酸・塩基の耐性試験.

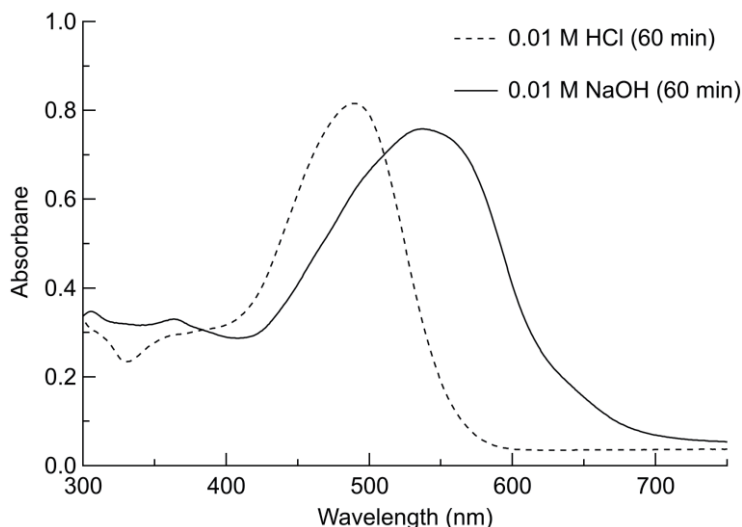
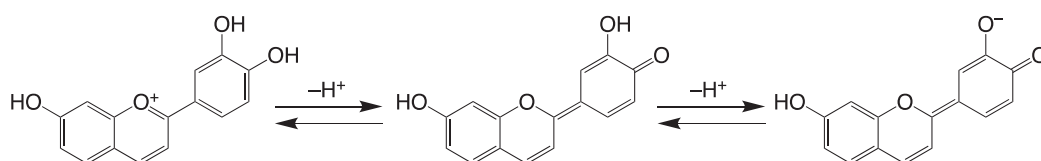


Figure 9. 水素モルデナイトに吸着させた色素 A の反射スペクトル.

4. 考察

4.1 UV-vis スペクトル測定

色素 A は酸・塩基に対して色変化を示しており、UV-vis スペクトルの測定結果からも変化していることを確認することができた。この酸・塩基による化合物の変化は化合物中の水酸基での H^+ の付加・解離によるものであり、水酸基を三つ持つ色素 A は一般的な pH 指示薬である BTB やフェノールフタレインと比べて複数の色変化を示したと考えられる。 H^+ の付加・解離の様子は Scheme 2 で示すとおりである。しかし、最初に 4' 位と 7 位のどちらの H^+ から解離が起こっているのか予測することは、どちらも同程度の共鳴構造の寄与があるため決定することは難しい。

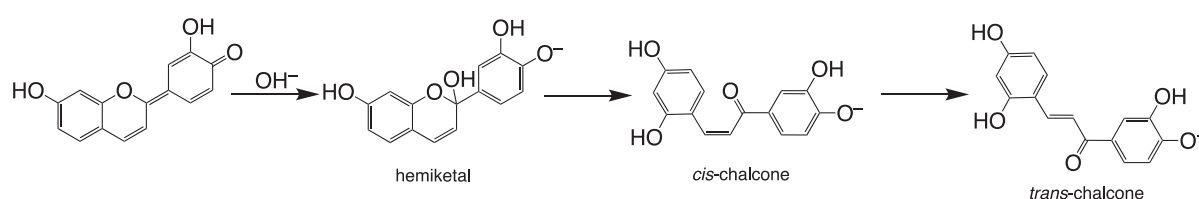


Scheme 2. 色素 A のプロトン解離.

水溶液中の塩基性条件下では徐々に青紫色が消失し、黄色へと変化してしまう様子が UV-vis スペクトルにより確認された。アントシアニン色素及びフラビリウムカチオンの性質として、中性～塩基性での不安定さは既に示されている²⁾。今回 UV-vis スペクトルを用いて経時変化を追跡した結果から、塩基性の水溶液中では明らかに速く分解した。0.01 M 水酸化ナトリウムのメタノール溶液中ではこの反応の進行が 1 時間程度では観測できなかったことから、原因は加水分解であると考えられる。塩基性条件では水酸化物イオンの求核攻撃を受けやすく、加水分解が進行しやすい。まずフラビリウムカチオンが水酸化物イオンの求核攻撃により、ヘミケタールへと転化する。ヘミケタールは開環して *cis*-カルコンとなり、さらに異性化して

trans-カルコンを形成すると、元の構造に戻るができなくなってしまう (Scheme 3)。しかしながら、実験を行っている際、塩基性で変色した後、すぐに水溶液を酸性にすることによって酸性溶液中の色が再現することがあった。これはシス・トランス異性化の前であるため、*cis*-カルコンから環化・脱水によって元の構造に戻ることができると考えられる。

またメタノール中において色素は、イオン交換水に溶解させたときよりも極大吸収波長が長波長側にシフトしていた。このことから HOMO と LUMO のエネルギー差が小さくなったことが推測され、その原因は水とメタノールの持つ水素結合力の違いによるものではないかと考えられる。水とメタノールでは水の方が立体的に小さいため水素結合力が強く、フラビリウムイオンの水酸基に強く相互作用することで、水酸基の芳香環への電子供与が低下する。そのため HOMO のエネルギーが低下し、吸収が短波長側にシフトしたと推測される。



Scheme 3. 色素 A の分解過程.

4.2 無機物質への吸着による安定性の向上

シリカゲルへ吸着させることにより、塩基性溶液への耐性が向上しており、0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液を滴下してもすぐに退色してしまうことはなく、その後 0.1 M 塩酸を滴下することによって酸性領域に特徴的な黄色を示していた。しかし、シリカゲルは繰り返し酸・塩基を滴下していくにつれて色素が流出し、繰り返し利用できるのはわずか数回程度である。シリカゲルの吸着は静電相互作用による吸着やシラノール基との相互作用によるものと考えられるが、酸や塩基を繰り返し反応させると色素の流出が観測されるため、吸着力が弱いことが示された。その流出はシリカゲルの表面修飾などを行うことで防ぐことができる可能性はあるが⁷⁾、特別な処理を行っていないシリカゲルでは、繰り返し使用可能な pH 試験剤として不十分であると言える。

一方、水素モルデナイトへの吸着もシリカゲルと同様に、塩基性溶液への耐性が向上しており、0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液を滴下してもすぐに退色せず、0.1 M 塩酸の滴下にも対応した色変化を示していた。色素 A の塩基性水溶液に対する安定性の向上は反射スペクトルの測定結果からも明らかで、色素を吸着した水素モルデナイトを 0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液に 1 時間浸漬させても吸収帯を維持していた。また、シリカゲルのように色素が流出してしまうことはなく、30 回使用した後でも 1 回目と同様の色変化を示していた。水素モルデナイトには分子レベルの細孔が存在しており、その細孔内に物質を吸着する性質がある。また、静電相互作用により、カチオンや極性の大きな分子と強く結びつくため、フラビリウムイオンが強く吸着したと考えられる。細孔内への色素の吸着は、水からの求核攻撃も抑制し、色素の安定化を導いていると考えられる。これらのことは、水素モルデナイトが繰り返し使用可能な pH 試験剤を作るための無機物質として適していることを示している。

5. 結論

繰り返し使用可能な pH 試験剤の作成のためにアントシアニン色素から糖鎖を除いた 3',4',7-trihydroxyflavylium chloride (色素 A) を合成した。色素 A は塩基性条件での安定性が低く、速やかに退色してしまうが、メタノール中もしくはゼオライトの一つである水素モルデナイトへの吸着によって塩基性水溶液に対し、大きな安定性の向上が見られた。色変化が多様な色素 A は、シリカゲルでは数回程度しか繰り返し用いることができなかったが、水素モルデナイトは 30 回を超えても繰り返し用いることができた。よって、色素 A を水素モルデナイトに吸着させたものが、繰り返し使用可能な pH 試験剤として利用できることが示された。

文献

- (1) M. Elhaviri, P. Figueiredo, K. Toki, N. Saito, R. Brouillard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1997**, 355-362.
- (2) 河野芳海, 無機ホストとの複合化による天然色素の安定性改善, **2007**.
- (3) Y. Kohno, Y. Shibata, N. Oyaizu, K. Yoda, M. Shibata, R. Matsushima, *Microporous Mesoporous Mater.* **2008**, *114*, 373-379.
- (4) Y. Kohno, Y. Shibata, N. Oyaizu, K. Yoda, M. Shibata, R. Matsushima, *Microporous Mesoporous Mater.* **2008**, *116*, 70-76.
- (5) H. E. Hajji, O. Dangles, P. Figueiredo, R. Brouillard, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 398-413.
- (6) R. Brouillard, G. Mazza, Z. Saad, A. M. A. Gary, A. Cheminat, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2604-2610.
- (7) 植松孝夫, 高田英史, 表面処理シリカゲル吸着剤及びアントシアニンの生成方法, **2009**.