

フラビリウムイオンをゼオライトに吸着させた 繰り返し利用可能なpH試験剤の調製

黒木千絵・有井秀和

Preparation of Flavylium Ion Adsorbed on Zeolite as a Repeatable pH Indicator

Chie KUROKI and Hidekazu ARII

要旨

植物などに見られるアントシアニン色素の発色団であるフラビリウム誘導体を合成し、無機固体材料の一つであるゼオライトに吸着させ、繰り返し利用できるpH試験剤の開発を目指した。4',7,8-トリヒドロキシフラビリウムクロリドは二段階の酸解離定数が確認され、 $pK_{a1} = 3.70(5)$, $pK_{a2} = 7.33(4)$ であった。この色素を2種類のゼオライトに吸着させると、いずれのゼオライトでも吸着が確認された。特に水素イオンで置換されたH-モルデナイトに吸着させたpH試験剤では酸性及びアルカリ性溶液に対して高い安定性を示し、0.1 mol/LのHCl水溶液と0.1 mol/LのNaOH水溶液を交互に30回反応させても退色は見られず、同様の色変化を示した。また、それぞれの溶液に一定時間浸漬させても液性に対応した色変化を保持していた。

1. 序論

中学校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、酸とアルカリの性質について学習する単元が設定されており、液性の判断にはリトマス紙やpH試験紙が用いられている。酸とアルカリの内容については近年教科書において増加傾向にあり、溶液中での基礎的な反応として児童・生徒の理解を促進する講義・実験が必要である。実験を行う上で、マイクロスケール実験は廃棄物が少ないため、実験の種類あるいは回数を増やすことができ、佐藤・柴原は呈色板を用いた教材開発と授業実践を報告している²⁾。

我々は繰り返し利用できる、あるいは試験剤を測定試料に常時接触させても利用できるpH試験剤に着目した。繰り返し利用できれば一つの試験剤で様々なサンプルを複数回確認することができ、また常時サンプルに浸すことができれば、実験中の経時変化を観察することができる。pH試験紙では複数の色素を紙に染み込ませているが、紙から色素が流失してしまうため、色素を流れ出ないようなものに吸着する必要がある。色素吸着の過程で、pH試験紙と同様に複数の色素を用いる場合、それぞれの色素の比率を一定に保つことは難しく、色彩の再現性が困難になる可能性がある。これらの点を踏まえ、我々は一つの色素で複数の色変化を示す化合物を、水溶液に安定な無機物質に吸着させる着想に至った。色素には水素イオンの解離点を複数有

し、複数の色変化を示すアントシアニン色素を用い、色素の吸着には無機固体材料であるゼオライトを選択した。植物のアントシアニン色素は糖鎖を持ち、分子量が大きいため吸着にやや不向きである（図1左）。また複数の類縁体が混じっているため、合成したものを評価することが難しくなる。そこでアントシアニン色素の発色団であるフラビリウム誘導体を合成して利用する。フラビリウム誘導体は酸性領域で正電荷を帯びており、ゼオライト中の陽イオンと交換することで吸着することが期待される。河野らはフラビリウム誘導体を、ゼオライト³⁾あるいはメソポーラスシリカ⁴⁾に吸着させ、光や熱に対して色素の安定性が向上することを報告している⁵⁻⁷⁾。この結果から酸性・アルカリ性水溶液に対する安定性の向上も期待される。

以上のことを踏まえ、これまでに我々はアントシアニン色素の発色団であるフラビリウム誘導体として3',4',7-トリヒドロキシフラビリウムクロリド（色素A, 図1右）を合成し、球状シリカゲルあるいはゼオライトの一つである水素イオン置換モルデナイト（以降、H-モルデナイト）に吸着させることでpH試験剤を作成し、その性能評価を行ってきた⁸⁾。球状シリカゲルはアルカリ性溶液に耐性が低く、HCl・NaOH水溶液と繰り返し反応させると徐々に退色する。一方、H-モルデナイトでは、30回にわたりHCl・NaOH水溶液に対して同じ色変化を示している。このとき用いたフラビリウム誘導体は酸性で黄色、アルカリ性で赤紫色を示し、どちらの液性でも暖色系の色彩になり、明瞭さという点で課題があった。

本研究では、暖色系と寒色系の間での色変化を目指し、フラビリウム誘導体として4',7,8-トリヒドロキシフラビリウムクロリド（色素B, 図1右）とゼオライトとの組み合わせで繰り返し利用可能なpH試験剤の作成について報告する。

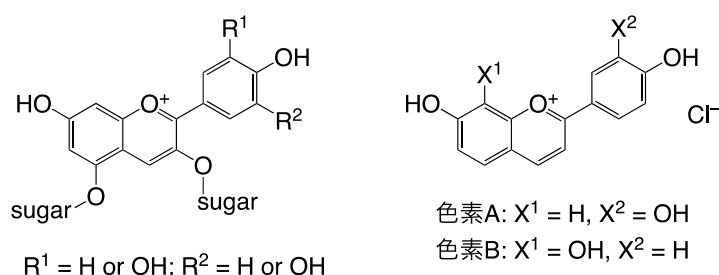


図1 アントシアニン色素（左）と、合成した色素（右）の構造。

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を用いた。ゼオライトは富士フィルム和光純薬から購入した（ゼオライトの名前の前の元素は、交換性カチオンを示している。H-Y型: $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$, 5.5; 表面積, 550 m^2/g , Na-モルデナイト: $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$, 18; 表面積, 表記なし, H-モルデナイト: $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$, 240; 表面積, 450 m^2/g ）。UV-vis スペクトルの測定は、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。粉末サンプルの測定は、積分球を用いて行った。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 (CDCl_3 , 7.26 ppm) で補正した⁹⁾。

2.1 4',7,8-トリヒドロキシフラビリウムクロリド（色素B）の合成

合成は、一般的なフラビリウムクロリドの方法を基に行った¹⁰⁾。二ロフラスコに2,3,4-トリヒドロキシベン

ズアルデヒド 0.50 g (3.2 mmol) , 4'-ヒドロキシアセトフェノン 0.44 g (3.2 mmol)を入れ, 酢酸エチル10 mLに溶かし, NaCl (15.0 g, 0.26 mol)にH₂SO₄ (20 mL)を滴下して発生させたHClガスを吹き込み, 0°Cで5時間攪拌した。その後, 容器を密閉し, 冷蔵庫で1日攪拌した。析出した固体を吸引ろ過及び圧搾後, 減圧下で乾燥し, 赤橙色粉末0.60 g (収率64%) が得られた。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.57 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, Ar), 10.51 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, Ar), 9.13-9.11 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, Ar), 8.48-8.46 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, Ar), 8.39-8.36 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, Ar), 7.73-7.71 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, Ar), 7.49-7.47 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz, Ar), 7.15-7.13 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, Ar).

2.2 溶液中での挙動

ねじ口瓶に色素 **B** 2.9 mg (10 μmol)を入れ, メタノール (5 mL)を加え, 超音波洗浄機で完全に溶解させた。この溶液 0.1 mL を, 0.1 mol/L HCl, 0.1 mmol/L HCl, 0.1 mmol/L NaOH, 0.1 mol/L NaOH を含む MeOH/H₂O = 9/1 混合溶媒 10 mL に加え, 写真を撮影し, UV-vis スペクトルを測定した。

2.3 酸解離定数の算出

ねじ口瓶に色素**B** 5.8 mg (20 μmol)とイオン交換水 (10 mL)を加え, 超音波洗浄機で完全に溶解させた。この溶液0.5 mLをビーカーに移し, 20 mmol/L NaClを含む0.1 mol/L HCl (49.5 mL)を加えガラス棒で攪拌した (濃度: 色素**B**, 20 μmol/L; NaCl, 20 mmol/L)。その後, NaOH水溶液 (1, 0.1, 0.01 mol/L)を滴下し, pH 1.84, 2.27, 2.61, 3.00, 3.41, 3.63, 3.94, 4.15, 4.36, 4.67, 4.99, 5.26でUV-visスペクトル測定を行い, p*K*_{a1}を算出した。p*K*_{a2}はpH 8.91, 8.58, 8.27, 7.90, 7.77, 7.58, 7.42, 7.28, 7.08, 6.92, 6.73, 6.65, 6.33, 6.03, 5.82, 5.59, 5.38で行った (濃度: 色素**B**, 10 μmol/L; NaCl, 20 mmol/L)。算出には既報の式(1)を用い, 最小二乗法により行った¹¹⁾。化学種として完全にイオン化されているものをAH₂⁺, 逐次的に水素イオンを解離したものを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 1.84のときの466 nmの吸光度, p*K*_{a2}ではpH 5.38のときの438 nmの吸光度) で*D*はpH変化後の吸光度, εは各化学種のその波長で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 色素のゼオライトへの吸着と酸・塩基との反応

ビーカーに色素**B** 2.5 mg (8.6 μmol)と, メタノール5 mLを加え, 超音波洗浄機で完全に溶解させた。この溶液を, ゼオライト0.5 gの入ったねじ口瓶に注ぎ, 30分間浸漬後, 吸引ろ過した。交換性カチオンが水素のゼオライトは0.5 M NaHCO₃, ナトリウムのは0.05 M NaHCO₃で洗浄した後, イオン交換水で洗浄した。圧搾後, 減圧下で乾燥し, 写真撮影と反射スペクトルの測定を行った。

濾紙の上に色素**B**を吸着させたゼオライトを少量置き, 0.1 mol/L HClと0.1 mol/L NaOHを交互に滴下して色変化を観察した。その際, 0.1 mol/L HClと0.1 mol/L NaOHを滴下する前にイオン交換水を滴下する作業を挟んだ。その後, 同様の作業を繰り返し行い, 写真を撮影し, 反射スペクトルを測定した。また, 色素**B**の吸着したH-モルデナイトについては, 0.1 mol/L HClと0.1 mol/L NaOHに2時間浸漬した後, 吸引ろ過・乾燥後, 写真を撮影した。

3. 結果

フラビリウム誘導体はアルカリ性水溶液中で安定性がやや低いので、メタノールが主成分の溶媒で塩酸と水酸化ナトリウムとの反応を行った。色素 **B** を 0.1 mol/L HCl を含む MeOH/H₂O = 9/1 に溶解すると、黄橙色を示し、酸性からアルカリ性においてそれぞれ黄橙、橙、青紫、緑の色変化を示した (図 2)。pH の高い領域では緑色を示しており、色の変化が明瞭であった。その後、少量の 0.1 mol/L HCl, 0.1 mol/L NaOH 水溶液を滴下すると、可逆性が確認できた。メタノールが主成分の溶液中では、イオン交換水のみで溶解させた時よりも色の持続時間は長い、1 日ほどで退色が見られた。UV-vis スペクトルを測定すると、0.1 mol/L HCl では 480 nm ($\epsilon = 2.4 \times 10^4$ L/mol·cm), 0.1 mmol/L HCl では 401 nm ($\epsilon = 1.3 \times 10^4$ L/mol·cm), 485 nm ($\epsilon = 1.4 \times 10^4$ L/mol·cm), 0.1 mmol/L NaOH では 580 nm ($\epsilon = 2.4 \times 10^4$ L/mol·cm), 0.1 mol/L NaOH では 468 nm ($\epsilon = 2.7 \times 10^4$ L/mol·cm), 625 nm ($\epsilon = 1.0 \times 10^4$ L/mol·cm) に極大吸収波長を観測した。pH 1.42 の水溶液から徐々に pH を上げていき、その UV-vis スペクトル変化から一段階目の酸解離定数 K_{a1} を算出した。得られた吸光度から式(1)に従い最小二乗法により K_{a1} を求めると、 $K_{a1} = 2.00(4) \times 10^{-4}$ ($pK_{a1} = 3.70(5)$) であった (図 3)。二段階目の酸解離定数は pH 9.76 から pH を徐々に下げて UV-vis スペクトル変化を測定して求め、 $K_{a2} = 4.67(8) \times 10^{-8}$ ($pK_{a2} = 7.33(4)$) であった (図 4)。さらに pH の高い領域に酸解離定数があることが推測されるが、色素 **B** が構造変化して求めることはできなかった。



図 2. 色素 **B** の MeOH/H₂O = 9/1 中での酸・塩基に対応した色変化：左から 0.1 mol/L HCl, 0.1 mmol/L HCl, 0.1 mmol/L NaOH, 0.1 mol/L NaOH.

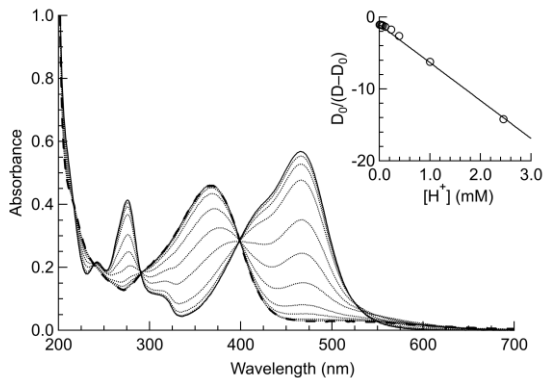


図 3. 色素 **B** の酸性領域における UV-vis スペクトル変化 (pH = 1.84 (実線), pH = 2.27 ~ 4.99 (点線), pH = 5.26 (破線)) : 挿入図は水素イオン濃度 $[H^+]$ に対する $D_0/(D-D_0)$ 変化。

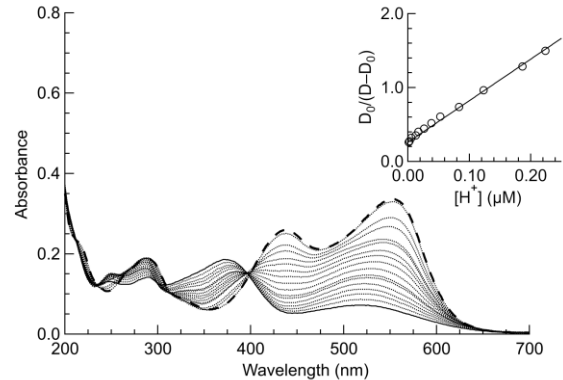


図 4. 色素 **B** の中性付近から弱アルカリ性領域における UV-vis スペクトル変化 (pH = 5.38 (実線), pH = 5.59 ~ 8.58 (点線), pH = 8.91 (破線)) : 挿入図は水素イオン濃度 $[H^+]$ に対する $D_0/(D-D_0)$ 変化。

色素 **B** を吸着させたゼオライトの中性付近での様子を観察するため、NaHCO₃ 水溶液と反応させた後、イオン交換水で洗浄し、写真撮影 (図 5) と反射スペクトルの測定を行った (図 6)。色素 **B** を H-Y 型に吸着させると緑褐色の粉末が得られ、反射スペクトルでは 418, 571 nm に吸収帯が観測された。この粉末に、0.1 mol/L HCl と 0.1 mol/L NaOH を反応させると、若干の色変化は見られるものの、ほぼ褐色のままであり、pH による色変化を識別することが困難であった (図 7 の (1))。また、0.1 mol/L HCl と 0.1 mol/L NaOH を交互に反応させると、徐々に色素が遊離していることが確認された。

Na-モルデナイトを用いた場合では色素 **B** の吸着量が低く、ほぼ白色の粉末が得られ、反射スペクトルにお

いても吸収帯はほとんど観測されなかった。0.1 mol/L HClと0.1 mol/L NaOHと反応させると、やや色変化は見られるものの、明瞭さを欠いていた（図7の(2)）。一方、H-モルデナイトを吸着剤に用いると、茶色の粉末になり、反射スペクトルでは422, 492 nmに吸収帯が観測された。0.1 mol/L HClと0.1 mol/L NaOHと反応させると、それぞれ橙色と青紫色に変化し、H-Y型やNa-モルデナイトと比べて明瞭さの点で良好な結果となった（図7の(3)）。0.1 mol/L HClと0.1 mol/L NaOHによる耐性試験を行うと、それぞれの反応液を30回反応させても1回目とほぼ同様の色変化を示していた。1回目の0.1 mol/L HClと0.1 mol/L NaOHとで反応させた後の色素Bの吸着したH-モルデナイトの反射スペクトルを測定すると、HClでは481 nm、NaOHでは392, 545 nmに吸収帯が観測された。



図 5. 色素 B を吸着させたゼオライト。

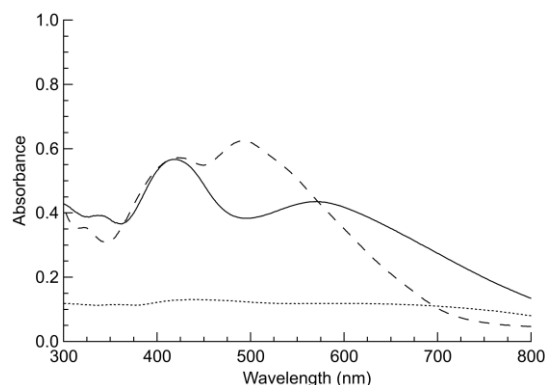


図 6. 色素 B を吸着させたゼオライトの反射スペクトル (H-Y 型 (実線), Na-モルデナイト (点線), H-モルデナイト (破線)) .

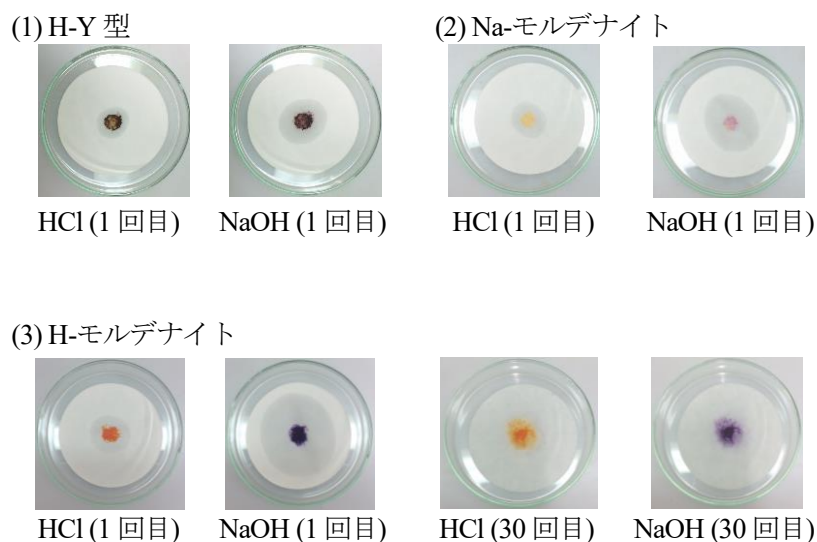


図 7. 色素 B を吸着させたゼオライトの酸・塩基に対する色変化。

色素Bの吸着したH-モルデナイトについては、酸性及びアルカリ性の溶液に接触させ続けた場合の耐性についても試験した。0.1 mol/L HClあるいは0.1 mol/L NaOHに2時間浸けると、HClでは色素の流出は認められなかったが、NaOHの方は上澄み液がやや着色し、色素の流出が見られた。ろ過後の粉末の色は、どちらもそれぞれの液性を示していた（図8）。

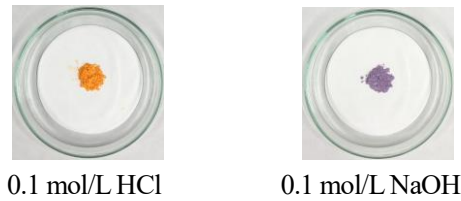


図 8. 色素 **B** を吸着させた H-モルデナイトを各水溶液に 2 時間浸漬した後の様子.

4. 考察

色素**B**はpHに対応して複数の色変化を示し、その酸解離定数は、 $pK_{a1} = 3.70(5)$ 、 $pK_{a2} = 7.33(4)$ であった。色素**A**の酸解離定数 pK_{a1} は4.35(7)、 pK_{a2} は7.349(6)であり⁸⁾、色素**A**と**B**の値を比べると pK_{a2} はほぼ同じ値であるが、 pK_{a1} はやや色素**B**の方が低くなっていた。このことは、8位のヒドロキシ基の電子的な影響や7位のヒドロキシ基との分子内水素結合が関与していることが考えられる。

色素**B**の三つ目の酸解離定数 (pK_{a3}) を求めることはできなかった。一般的にフラビリウム誘導体は中性領域で水あるいは水酸化物イオンと反応して開環し、異性化によって*trans*-カルコン誘導体を生じることが知られている (図9)^{12,13)}。 pK_{a3} はpHの高い領域で測定する必要があるが、図9に示す構造変化が進行するため、数値を得ることはできなかった。色素**B**の pK_{a2} は中性付近で測定を行っているが (図4)、等吸収点を持つスペクトル変化を示していることから色素**B**の多くはフラビリウム骨格を維持し水素イオンの解離が観測されている。このことから、少なくとも pK_{a2} 測定時間程度であれば中性付近で色素**B**は構造を維持できると推測される。また、小中学校の教科書で紹介されているアントシアニン色素において、一般的なpH指示薬のように可逆性が見られないことも、その発色団であるフラビリウム骨格の構造変化が起きるためである。メタノール中での色素の安定性の向上は、水の濃度が相対的に低く、開環反応が遅くなるためと考えられる。

H-Y型への吸着において色素**B**の色は大きく変化しており、HClとNaOHとの反応においても色変化は乏しかった。特に吸着させる前の酸性領域での色素の色から大きく変化していたことから、色素**B**がフラビリウム骨格を維持していないことが推測される。モルデナイトは、H-Y型と比べて開口径の大きさがやや小さく (モルデナイト $6.5 \times 7.0 \text{ \AA}^2$ 、H-Y型 $7.4 \times 7.4 \text{ \AA}^2$)、また内径はかなり小さい (モルデナイト 6.7 \AA 、H-Y型 11.24 \AA)^{14,15)}。Na-モルデナイト、H-モルデナイトどちらにも色素**B**は吸着することができ、酸・アルカリに対応した色変化を示した。モルデナイトの細孔はH-Y型と比べて小さいが、分子が内部に進入できる大きさであり、色素**B**が吸着できたと考えられる。また、酸と塩基を繰り返し反応させても色素が構造変化しないことは、細孔内に色素が吸着することで水や水酸化物イオンとの反応が抑制されていると言える。吸着量の差を明らかにするために、ゼオライトに浸漬させる前と後の溶液の吸収スペクトル測定を行ったが、吸着量が少ないためか精度の低い結果となり、吸着量を比較することができなかった。

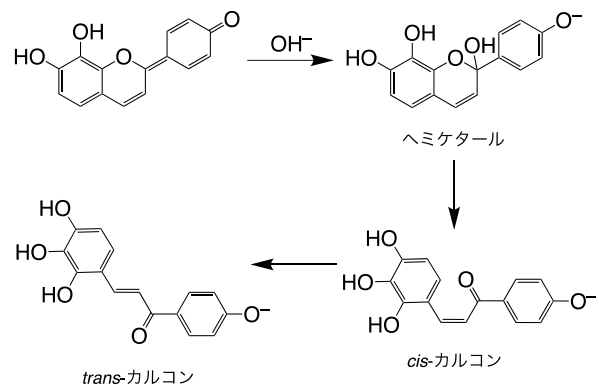


図 9. 色素 **B** の水あるいは水酸化物イオンが関与する構造変化.

H-モルデナイトと比べて、Na-モルデナイトでの色変化はかなり淡く、色素Bの吸着量が少ないことが推測される。このことは、 $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 比に起因していると考えられる。 $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 比は細孔内の親水性の指標となっており、 $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 比が高いと細孔内がやや疎水性へとシフトする¹⁶⁾。H-モルデナイトとNa-モルデナイトの $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 比はそれぞれ240と18であり、Na-モルデナイトの方がかなり低い。色素Bは正電荷を帯びたイオンであるが、分子は芳香環を有し疎水的な性質も持つため、溶媒への溶解度も水よりメタノールやアセトンの方が高い。そのため、親水的なNa-モルデナイトへの吸着量が低く、H-モルデナイトの方が高いと考えられる。この親和性の高さは酸・塩基との繰り返しの反応や長時間の浸漬において色素Bがゼオライトから流出しづらくなっている一因であると考えられる。

5. 結論

繰り返し使用可能な pH 試験剤の開発のために、アントシアニン色素から糖鎖を除いた4',7,8-トリヒドロキシフラビリウムクロリド (色素 B) を合成した。無機固体物質との複合化では H-モルデナイトに色素を吸着させることで、更なる安定性がみられた。また、0.1 mol/L HCl と 0.1 mol/L NaOH を用いた耐性試験において、30 回の色変化を繰り返すことが確認できた。色素 B を吸着させた H-モルデナイトはアルカリ性水溶液中で青紫色になり、色の識別が分かりやすくなった。以上より、色変化が明瞭な繰り返し利用できる pH 試験剤を作成することができた。

謝辞

本研究は JSPS 科研費 No.18K02983 の助成を受けたものである。

文献

- (1) 那須悦代, 紅露瑞代, 喜多雅一, “化学と教育”, 2015, 63, 310.
- (2) 佐藤美子, 芝原寛泰, “理科教育学研究”, 2016, 57, 123-131.
- (3) 窪田好浩, 辰巳敬, *J. Vacuum Soc. Jpn.* 2015, 49, 205-212.
- (4) 小川誠, “色材”, 1998, 71, 646-655.
- (5) Y. Kohno, Y. Shibata, N. Oyaizu, K. Yoda, M. Shibata, R. Matsushima, *Microporous Mesoporous Mater.* 2008, 114, 373-379.
- (6) Y. Kohno, Y. Shibata, N. Oyaizu, K. Yoda, M. Shibata, R. Matsushima, *Microporous Mesoporous Mater.* 2008, 116, 70-76.
- (7) Y. Kohno, R. Kinoshita, S. Ikoma, K. Yoda, M. Shibata, R. Matsushima, Y. Tomita, Y. Maeda, K. Kobayashi, *Appl. Clay Sci.* 2009, 42, 519-523.
- (8) 田中友子, 有井秀和, “宮崎大学教育学部紀要”, 2020, 94, 160-169.
- (9) G. R. Fulmer, A. J. M. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stoltz, J. E. Bercaw, K. I. Goldberg, *Organometallics* 2010, 29, 2176-2179.
- (10) H. E. Hajji, O. Dangles, P. Figueiredo, R. Brouillard, *Helv. Chim. Acta* 1997, 80, 398-413.
- (11) M. Elhaviri, P. Figueiredo, K. Toki, N. Saito, R. Brouillard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1997, 2, 355-362.
- (12) R. Brouillard, G. Mazza, Z. Saad, A. M. A. Gary, A. Cheminat, *A. J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 2604-2610.
- (13) G. Calogero, A. Sinopoli, I. Citro, G. D. Marco, V. Petrov, A. M. Dimiz, A. J. Perola, F. Pina, *Photochem. Photobiol. Sci.* 2013, 12, 883-894.
- (14) W. M. Meier, *Z. Kristallogr.* 1961, 115, 439-450.
- (15) W. H. Baur, *Am. Mineral.* 1964, 49, 697-704.
- (16) P. Atkins, T. Overton, J. Rourke, M. Weller, F. Armstrong, “無機化学 (上)”, 2008.