

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K02983

研究課題名(和文)天然色素誘導体を用いた繰り返し利用可能なpH試験剤の開発

研究課題名(英文)Development of Repeatable pH Indicator Utilizing Natural Pigment Derivatives

研究代表者

有井 秀和(Arii, Hidekazu)

宮崎大学・教育学部・准教授

研究者番号：80384733

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：小・中学校で学習する酸性・中性・アルカリ性の溶液の性質を簡便に測る方法の一つとして、繰り返し利用できるpH試験剤の開発を目指した。植物に幅広く分布するアントシアニン色素に着目し、その発色団である塩化フラビリウム誘導体を合成し、無機固体材料への吸着について検討した。様々な組み合わせの結果、塩化フラビリウム誘導体をゼオライトの水素モルデナイトに吸着したものが、酸性・アルカリ性の識別に明瞭な色変化を示し、繰り返し利用しても退色が見られなかった。また、作成したpH試験剤は溶液に浸したままでも利用できた。この結果から、繰り返し利用での利用や溶液に浸したままでも利用可能なpH試験剤を開発することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

繰り返し利用できるpH試験剤は、複数のサンプルを何回でも測定することが可能になる。実験は複数回実施できる方が理想的で、その過程で思考が整理され理解が深まることが期待される。本研究で開発したものはサンプルに常時浸すこともできるので、時間経過によるpH変化や容器の局所的なpH変化も観察することができ、実験の幅を広げることができる。また、開発したpH試験剤は作成過程が比較的簡便であるので、適切な指導のもとで児童・生徒が作成すれば、化学物質の特性に関心を持つ機会になることも期待している。

研究成果の概要(英文)：We aimed to develop a repeatable pH indicator which is utilized readily in a laboratory for the acid-neutral-base solution of elementary and junior high school science. We synthesized the flavylium ions known as a chromophore of anthocyanin pigments in widely common plants, and investigated the inorganic materials adsorbed them. As a result of the various combination between them, the proton-form mordenite adsorbed the flavylium ion maintained the pH-dependent color change through 30 times, and few flavylium ions were liberated when the mordenite kept in solution. Consequently, we achieved the preparation of pH indicator which measures samples repeatedly and utilizes in solution.

研究分野：科学教育

キーワード：アントシアニン系色素 繰り返し利用 pH試験剤 フラビリウムイオン

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

小学校での理科教科において、酸性・中性・アルカリ性は水溶液の性質を示す因子の一つであると共に、水溶液中で電解質が陽イオンと陰イオンの二つになることを理解させる上で、重要な単元の一つである。小・中学校ではアレニウスの酸・塩基として導入され、酸は水素イオン ( $H^+$ )、塩基は水酸化物イオン ( $OH^-$ ) として定義される。これを踏まえて、高校から大学へ至る過程においてブレンステッドの酸・塩基、さらにはルイスの酸・塩基と、より広義の解釈へとつながっていくことになり、小学校での導入は大きな意味を持つ。したがって、小学校や中学校での理科の実験において、酸・塩基の性質を授業や実験を通して理解し、実感するためには、化学薬品だけでなく身の回りの河川や食品などの様々なサンプルについて簡便に利用できる pH 試験剤があることが望ましいと考えている。

現在、学校教育現場で利用されているリトマス試験紙や pH 試験紙は、薬品を調整する必要なく、液体サンプルを付けるだけで液性が判断できる点で優れている。しかしながら、リトマス試験紙は酸性・アルカリ性の識別には適しているものの、その強さは不明である。また、どちらの試験紙も色素を紙に染み込ませてあるため 1 回限りの利用にとどまり、繰り返し利用することやサンプルに常時浸すことはできない。また、視覚的な色変化は生徒にとって関心の高い現象であるものの、色変化がどこから生じるのか分りにくい。このような素朴な疑問は科学に対する関心を高めるために非常に重要であるだけでなく、物事に対する理解を深めるためにも必要である。これらのことから、我々は pH 変化に応答する一つの化合物を用いて繰り返し利用できる pH 試験剤の開発を目指す。この pH 試験剤により、小・中学校での酸性・アルカリ性に関する実験において測定手段を増やせると考えている。

### 2. 研究の目的

本研究では、繰り返し利用可能な pH 試験剤の開発を目的としている。植物に幅広く存在し、pH 応答物質として知られているアントシアニン系色素 (Figure 1) に着目し、その発色団であるフラビリウムイオンを合成し、シリカゲルあるいはゼオライトへ吸着させ、pH 試験剤として評価する。アントシアニン系色素は小・中学校の教科書でも紹介される天然物の pH 指示薬であり、その化合物の役割や特徴を知ることによって、生徒の pH に対する理解を深めることが期待される。また、天然の色素をターゲットとし、それを合成することで、化学と生物の分野が関連していることを意識づけるねらいもある。

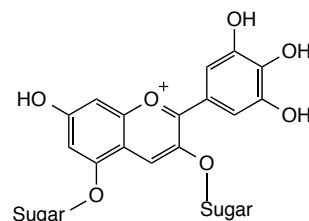


Figure 1. アントシアニン系色素

### 3. 研究の方法

サリチルアルデヒド誘導体とベンゾフェノン誘導体を塩酸存在下で反応させることで、塩化フラビリウム誘導体を得ることができる。フラビリウムイオンのヒドロキシ基の数や置換位置を変えると、寒色系から暖色系まで多彩な色変化を導くことができ、またヒドロキシ基の数があればプロトンの解離が多段階になるため、複数の領域の pH を示すことができる可能性がある。またヒドロキシ基以外にメトキシ基を置換することも可能で、フラビリウムイオンの電子状態を変化させることができる。

塩化フラビリウム誘導体を無機固体材料であるシリカゲルまたはゼオライトに吸着させ、以下のような評価を行う。(i) 吸着量を紫外可視分光光度計を用いて見積もる。(ii) pH の異なる溶液を付けて、水溶液中で見られた色変化が起きるか観察する。(iii) 作成した pH 試験剤で「サンプル測定→水で洗浄」の操作を繰り返し、紫外可視分光光度計でフラビリウムイオンの流出の程度を評価する。

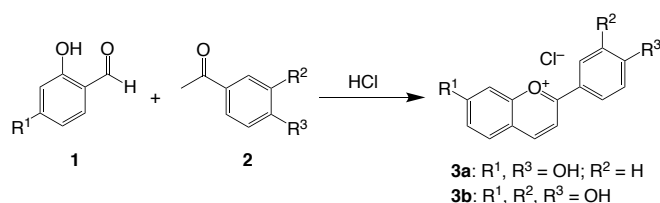
シリカゲルは球状シリカゲルあるいはナノメートルサイズの細孔を持つメソポーラスシリカを用いて、塩化フラビリウム誘導体のメタノール溶液に浸すことで吸着させる。同様の手法でゼオライトにも塩化フラビリウム誘導体の吸着が可能である。ゼオライトの細孔の形状や大きさ、そしてゼオライトを構成する  $SiO_2/Al_2O_3$  比の違いにより、塩化フラビリウム誘導体の吸着量や安

定性が変化することが予想される。

#### 4. 研究成果

##### (1) 塩化フラビリウム誘導体の合成とシリカゲル及び水素モルデナイトへの吸着

塩化フラビリウム誘導体 **3** の合成は、ベンズアルデヒド誘導体 **1** とアセトフェノン誘導体 **2** の酢酸エチル溶液に塩化水素ガスを吹き込む方法で行った (Scheme 1)。0°C で 2~3 時間攪拌すると徐々に固体が析出し、ろ過することで目的とする化合物 **3** を得ることができた。



Scheme 1. 塩化フラビリウム誘導体 **3** の合成.



Figure 2. 化合物 **3b** のメタノール溶液中での色変化：左から右の順で pH は高くなっている。

化合物 **3** をそれぞれメタノールに溶解し、NaOH 水溶液で徐々にアルカリ性にすると、ヒドロキシ基を二つ持つ **3a** では黄から赤紫への色変化であったが、ヒドロキシ基を三つ持つ **3b** では黄~赤紫~青紫と複数の色変化を示した (Figure 2)。ヒドロキシ基の増加によって水素イオンの解離点が増えたことで、**3b** がより複数の色変化を示したと考えられる。これ以降は、複数の色変化を示した化合物 **3b** について検討を進めた。水溶液中で化合物 **3b** の UV-vis スペクトルを測定すると、各 pH での極大吸収波長 (括弧内はモル吸光係数、M は mol/L である) は、pH = 2.42 で 470 nm (24000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)、pH = 6.15 で 377 nm (12000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) と 550 nm (7200 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)、pH = 9.26 で 550 nm (29000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) であった。pH を 10 以上にすると **3b** 由来の紫色が徐々に退色し、pH 変化に対する色変化を示さなくなった。強アルカリ性の水溶液中で、フラビリウムイオンは加水分解による開環反応とそれに続く異性化が起きて徐々に退色することが知られており、化合物 **3b** においても同様の反応が進行したと考えられる。化合物 **3b** の酸解離定数は二段階観測され、それぞれ pK<sub>a1</sub> = 4.35(7)、pK<sub>a2</sub> = 7.349(6) であった。

化合物 **3b** を無機固体材料である球状シリカゲルと、ゼオライトの一つである水素モルデナイトへの吸着を試みた。化合物 **3b** のメタノール溶液にそれぞれ 1 時間浸漬することで、吸着させることができた。**3b** の吸着量の算出を試みたが、どちらの吸着剤に対しても吸着の絶対量が少なく、また時間経過に伴ってフラビリウムイオンの分解がわずかに進行していたために、求めることができなかった。化合物 **3b** の吸着したシリカゲルを 0.1 M HCl 水溶液あるいは 0.1 M NaOH 水溶液と反応させると、それぞれ黄色と紫色になり、球状シリカゲルに吸着した後も水溶液の pH に対応した色変化を示した。化合物 **3b** の吸着した球状シリカゲルに対し、0.1 M HCl 水溶液と 0.1 M NaOH 水溶液を繰り返し反応させると、少しずつ化合物の流出が観測され、それぞれの水溶液と 10 回反応させると液性に対する色変化を識別することが困難になった。

一方、**3b** の吸着した水素モルデナイトでは、0.1 M HCl 水溶液と 0.1 M NaOH 水溶液を 30 回繰り返し反応させても 1 回目と同じ色を維持しており、HCl で黄色、NaOH で紫色を示していた (Figure 3)。化合物 **3b** の吸着した水素モルデナイトを 0.01 M HCl 水溶液あるいは 0.01 M NaOH 水溶液と反応させた後の反射スペクトルを測定すると、それぞれ 489 nm と 537 nm に極大吸収波長を観測した。また、水素モルデナイトに吸着した **3b** は 0.01 M NaOH 水溶液に 1 時間浸漬させても退色することなく、紫色を維持していた。水素モルデナイトへ吸着した **3b** の高い安定性は、細孔内への吸着に起因していると考えられる。モルデナイトは内径 6.7 Å の細孔を有しており、内部へ吸着した **3b** は水素イオンの脱着はできるものの、加水分解に伴う開環反応のような大きな構造変化は抑制され、強アルカリ性条件下でも本来の色を維持することができた。

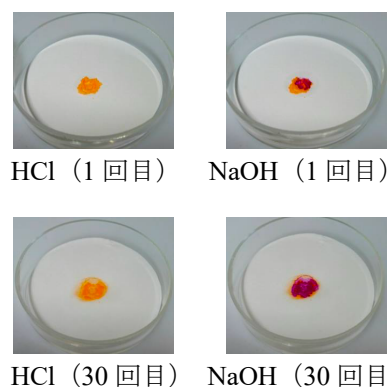


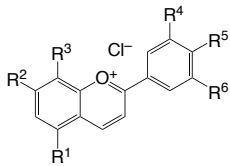
Figure 3. **3b** の吸着した水素モルデナイトの酸・塩基の耐性試験.

と考えられる。また細孔内では分子と吸着剤との相互作用点が増え、吸着剤からの流出も限定的であったと推測される。一方、細孔を持たない球状シリカゲルでは、分子の構造変化を抑制することや分子との親和性を高めることができなかつたと考えられる。

## (2) pH 変化に対し明瞭な色変化を示す pH 試験剤の合成

塩化フラビリウム **3b** の吸着した水素モルデナイトは、HCl と NaOH との反応でそれぞれ黄色と紫色で繰り返し利用できることが示されたが、紫は赤紫に近い色彩であるために酸性・アルカリ性の色変化は暖色系どうしになり、明瞭さにやや欠けていた。そこで、アルカリ性で寒色系を示す塩化フラビリウム誘導体の合成を目指した。

Table 1. 化合物 **3c-g** の構造



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	R <sup>6</sup>
<b>3c</b>	OH	OH	H	H	OH	H
<b>3d</b>	OH	OH	H	OMe	OH	H
<b>3e</b>	OH	OH	H	OH	OH	H
<b>3f</b>	H	OH	OH	H	OH	H
<b>3g</b>	H	OH	OH	OMe	OH	OMe

(A)



(B)



HCl (30 回目)      NaOH (30 回目)

Figure 4. (A) 左から 0.1 M HCl, 0.1 mM HCl, 0.1 mM NaOH, 0.1 M NaOH の MeOH/H<sub>2</sub>O = 9/1 溶液中の **3f**、(B) **3f** の吸着した水素モルデナイトの酸・塩基の耐性試験.

塩化フラビリウム誘導体 **3c-g** の合成は、ベンズアルデヒド誘導体 **1** とアセトフェノン誘導体 **2** のメタノール溶液にクロロトリメチルシランを加えて行った。反応は 0 °C で 30 分攪拌すると徐々に固体が析出し、ろ過により目的とする化合物 **3c-g** を得た (Table 1)。それぞれの化合物をメタノールに溶解し、NaOH 水溶液を加えて色変化を確認すると、**3c-e** は黄から赤紫への変化であり、寒色系の色彩は見られなかつた。一方で R<sup>3</sup> にヒドロキシ基を持つ **3f,g** はそれぞれ特徴的な色変化を示した。化合物 **3g** は黄～赤～青紫～緑と多様な色彩変化であり (Figure 4(A))、**3f** は赤～青～緑と、どちらもアルカリ性領域で寒色系の色彩を示した。アルカリ性水溶液中の UV-vis スペクトルを比較すると、**3f** は pH = 8.91 で 438 nm (13000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) と 555 nm (17000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)、**3g** は pH = 8.43 で 597 nm (4300 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) であり、**3g** の吸収帯は **3f** と比べて 40 nm 程度長波長側にシフトしていた。この長波長シフトは、R<sup>4</sup>, R<sup>6</sup> に置換した二つのメトキシ基による電子供与により、**3g** の最高被占軌道 (HOMO) のエネルギーが上昇して、最低空軌道 (LUMO) とのエネルギーギャップが小さくなったためと考えられる。

化合物 **3f,g** をそれぞれ水素モルデナイトに吸着させ、0.1 M HCl と 0.1 M NaOH 水溶液と 30 回反応させても 1 回目の色変化を保っており、**3f** は HCl で黄、NaOH で青紫 (Figure 4(B))、**3g** は HCl で黄橙、NaOH で青紫を示した。水溶液中の化合物 **3g** で見られた青色は、水素モルデナイトに吸着した後はどの pH 領域においても見られなかつた。化合物 **3g** の吸着した水素モルデナイトを 0.1 M NaOH 水溶液と反応させた固体の反射スペクトルを測定すると、吸収帯は 551 nm に観測され、水溶液のものとは比べて短波長シフトしていた。この原因は、分子間相互作用が溶媒と吸着剤では異なっているため、その差が分子の電子的性質に現れたと推測される。しかしながら、**3b** と比較すると **3f,g** 共に色変化が暖色系と寒色系との間で起きるため、酸性・アルカリ性の識別が明瞭になったと言える。

化合物 **3f** を用いて他の無機固体材料への吸着を試みた。細孔内径がモルデナイトよりも大きいゼオライトの水素 Y を用いると、**3f** は吸着するものの色は緑褐色になり、また HCl や NaOH 水溶液と反応させても緑褐色のまま色変化が見られなかつた。HCl を作用させてもフラビリウムイオンに特徴的な黄～橙色にならなかつたので、ゼオライト上で大きな構造変化があつたと推測されるが、具体的には分らなかつた。水素モルデナイトとは交換性カチオンが異なるナトリウムモルデナイトに **3f** の吸着を試みたが、ほとんど吸着しなかつた。用いた水素モルデナイトとナトリウムモルデナイトでは交換性カチオンが違うことに加え、SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 比も異なっており、前者は 240、後者は 18 である。一般的に SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 比が高いと細孔内は疎水的に、低いと親水的になることが知られている。化合物 **3** は複数のヒドロキシ基を持つイオンであるが、分子

にはベンゼン環もあるため、疎水的な性質も併せ持っている。そのため溶媒に対する化合物 **3** の溶解度は、水よりもアルコールの方がやや高い傾向にあり、吸着剤への吸着においてもより疎水的な水素モルデナイトの方が親和性が高かったと考えられる。また、ナノメートルサイズの細孔を持つメソポーラスシリカ (MCM-41) には、化合物 **3f** を吸着させることができた。0.1 M HCl と 0.1 M NaOH 水溶液と反応させると、水素モルデナイトと同様の色変化を示すものの、1 回目の NaOH との反応でフラビリウムイオンが流出し、繰り返し利用することができなかった。分子に対して細孔径がかなり大きい吸着剤では、分子と吸着表面との相互作用点が減少することが予想されるため、メソポーラスシリカではフラビリウムイオンが細孔内に留まることができずに流出したと考えられる。

塩化フラビリウム **3** と各種無機固体材料を用いて、繰り返し利用可能な pH 試験剤の作成を試みた。化合物 **3f** あるいは **3g** と水素モルデナイトの組み合わせにより、酸性・アルカリ性の識別が最も明瞭になり、耐性試験においても良好な結果を示し、繰り返し利用できる pH 試験剤の開発に成功した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 田中友子、有井秀和	4. 巻 94
2. 論文標題 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	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 宮崎大学教育学部紀要	6. 最初と最後の頁 160-169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 黒木千絵、有井秀和	4. 巻 8
2. 論文標題 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	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 九州地区国立大学教育系・文系研究論文集	6. 最初と最後の頁 No5 (1-7)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 田中友子、黒木千絵、有井秀和	4. 巻 98
2. 論文標題 青色フラビリウムイオンの合成と無機固体材料への吸着による繰り返し利用可能なpH 試験剤への利用	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 宮崎大学教育学部紀要	6. 最初と最後の頁 102-111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hidekazu Ariei, Kenichi Nakao, Hideki Masuda, Takayuki Kawashima	4. 巻 7
2. 論文標題 Synthesis of 1-Silabenzo[d,e]isochromanes via Electrophilic Aromatic Substitution of Aldehydes Activated by Silylium Ion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 5166-5175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.1c06228	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 黒木千絵、田中友子、有井秀和
2. 発表標題 アントシアニン系色素を用いた複数の領域を検出する繰り返し利用可能なpH 試験剤
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 T. Kawashima, H. Arii, Y. Iwanami, K. Mochida
2. 発表標題 Synthesis of Germacyclic Compounds by Intra- and Intermolecular Reactions Using In-situ Generated Germyl Cations
3. 学会等名 International Conference on the Coordination and Organometallic Chemistry of Germanium, Tin and Lead (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川島隆幸、有井秀和
2. 発表標題 シリルカチオンによるアルキンの活性化を活用した含ケイ素環状化合物の合成(2): 4 - ジイソプロピルシリル-1-メチル-1H-インドールを用いた反応
3. 学会等名 第46回有機典型元素化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Kawashima, H. Arii
2. 発表標題 Synthesis of Silacyclic Compounds Utilizing Cumulated Double-Bond Compounds Activated by In-situ Generated Silyl Cations
3. 学会等名 the 15th International Symposium on Inorganic Ring Systems (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Kawashima, H. Arii
2. 発表標題 Synthesis of Silacyclic Compounds Utilizing Aldehydes Activated by Silyl Cations
3. 学会等名 9th European Silicon Days (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川島隆幸、有井秀和、岩波彌生子、持田邦夫
2. 発表標題 系中で発生させたゲルミルカチオンを用いる含ゲルマニウム環状化合物の合成
3. 学会等名 第45回有機典型元素化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Kawashima, H. Arii
2. 発表標題 Synthesis of Silacyclic Compounds Induced by Addition of In-situ Generated Silyl Cations to Multiple Bonds
3. 学会等名 Chemistry 2019 2nd Edition EuroSciCon Conference on Chemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	中林 健一  (Nakabayashi Kenichi)  (60201670)	宮崎大学・教育学部・教授   (17601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件



8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------