

和歌山県工業技術センター

研究報告

REPORTS OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY CENTER OF
WAKAYAMA PREFECTURE



WINTEC

未来に結ぶ技術の架け橋

令和6年度

研究報告発刊にあたって

和歌山県工業技術センターでは、研究紀要として「研究報告」を毎年1回発行し、当センター研究員を中心に行った研究の成果を皆様に御報告しています。

本年度については、令和2年度から令和5年度までの研究のうち、5報を掲載しています。これらの研究内容が、少しでも皆様方のお役に立つことを願っています。

参考

令和5年度に当センターで実施した研究事業は、以下のとおりです。これらの研究概要については、「令和5年度 業務年報」(令和6年9月発行)を御参照ください。

・県事業

地域産業活性化促進事業 13 件、コア技術確立事業 3 件、一般共同研究 8 件、農林水産業競争力アップ技術開発事業 1 件

・その他事業

農林水産研究推進事業委託プロジェクト研究(農林水産省)1件、成長型中小企業等研究開発支援事業(経済産業省)1件、オープンイノベーション研究・実用化推進事業(農林水産省)1件、環境対応革開発実用化事業(特定非営利活動法人 日本皮革技術協会)1件、科学研究費助成事業 基盤研究(C)(日本学術振興会)1件、公益財団法人水産無脊椎動物研究所 研究助成事業1件、一般財団法人内藤泰春科学技術振興財団 研究助成事業1件

・企業からの依頼による研究 14 件

本誌について、御意見、御質問等がある場合には、次の問合せ先まで気軽にお問合せください。

問合せ先 和歌山県工業技術センター 企画総務部 企画調整課
〒649-6261 和歌山市小倉 60 番地
電 話: (073) 477-1271
ファックス: (073) 477-2880
ウェブサイト: <https://www.wakayama-kg.jp/>

(ウェブサイトにおいて、本誌のカラー版や「業務年報」等の刊行物を公開しています。)

目次

- 1 地域の稼ぐ力を生むためのイタドリ加工について（Ⅱ）
～長期保存可能な一次加工品の試作～
木村美和子、小川大輔、上久奈緒 1
- 2 可視紫外光変換アップコンバージョンフィルム作製検討
齋藤 茜、森 岳志、森 智博、増田 剛 5
- 3 柑橘類の化粧品原料としての基礎研究
藤原麻紀子、石原理恵、大楠剛司、笠松隆二、森 めぐみ、宮井一行 9
- 4 固相誘導体化法を用いた GC/MS によるアミノ酸分析
大崎秀介、増田 剛 11
- 5 フェニルアゾメチン dendrimer 包接型 Pd サブナノ粒子
触媒の合成及び触媒反応への応用
藤井 亮、西山靖浩 14

地域の稼ぐ力を生むためのイタドリ加工について(Ⅱ)

～長期保存可能な一次加工品の試作～

(食品開発部) 木村美和子、小川大輔、上久奈緒

要 旨

和歌山の郷土山菜¹⁾であるイタドリの利用拡大を目指し「保存・流通に適した一次加工品(水煮イタドリ)」の開発を行った。イタドリは加熱すると軟化し、煮崩れしやすい。そこで、加熱による軟化を防止するため、軟化の一因であるイタドリの有機酸の効率的な除去方法を検討した。また、カルシウム塩によってペクチンを架橋して、溶出を防ぐことにより、食感を保持した水煮イタドリを作製した。さらに、保存液にアスコルビン酸を添加することで、保存中の褐変を抑制することができた。

1. 緒言

イタドリは、シャキシャキとした食感が特徴的な和歌山県の郷土山菜である(図1)。図2のとおり、近年、イタドリの栽培に取り組む地域が増加しており(平成27年:2市町村4地域→令和3年:12市町村20地域)、生産量も増加すると考えられる。しかし、現在のイタドリの販売形態は、収穫したそのままのものか塩蔵品に限られている。これらは、購入後、煩雑な下処理が必要であるため、販売は昔からイタドリが食べられていた地域にとどまっている。そのため、今後の消費拡大を目指し、利用しやすく長期保存可能な一次加工品が求められている。



図1 イタドリ

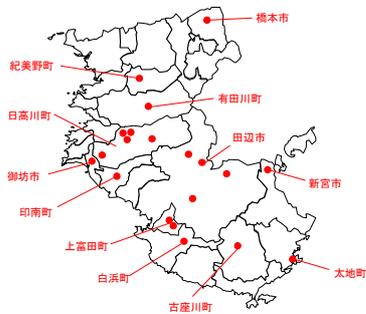


図2 イタドリの栽培地域

本研究において、イタドリの特徴(食感)を保持した加工技術の開発と保存・流通に適した一次加工品(水煮イタドリ)の開発を目指し検討を行ったので、これを報告する。

2. 実験方法

2. 1 試料

2. 1. 1 イタドリ試料

令和3年4月及び令和4年4月に和歌山県日高郡日高川町弥谷で栽培されたイタドリの若芽を採取した。

収穫については根元直径1.5cm以上、長さ40~60cmのものを収穫対象とした。収穫したイタドリは皮を剥き、約5cmにカットしたものを試験に供した。

2. 1. 2 冷凍イタドリ試料

皮を剥いたイタドリ試料を約20cmにカットし、-15℃で保存した。保存した試料は室温(23℃)で一晩放置し、解凍後、約5cmにカットして冷凍イタドリ試料として試験に供した。前報より、-15℃で保存したイタドリは、試験試料としての利用が可能であることを確認している²⁾。

2. 2 水への浸漬処理

これまでの研究²⁾において、イタドリ自身に含まれている有機酸がイタドリの軟化の一因であることが確認されている。そこで、効率的な有機酸の除去方法について検討を行った。無処理のイタドリ試料、10秒間煮沸・水冷したイタドリ試料、冷凍イタドリ試料、各50gを、それぞれ室温下(23℃)で蒸留水300mLに3時間浸漬し、吸引ろ過した。水に浸漬する前の試料及び、水に浸漬後、回収した試料について有機酸の定量を行った。

2. 3 有機酸の定量方法

2. 2の試料を粉碎後、蒸留水で5分間振とうし、10分間超音波抽出を行い、一晩静置後、遠心上清を精密ろ過し、分析試料とした。また、2. 2のろ液についても、精密ろ過したものを分析試料とした。

高速液体クロマトグラフィー分析((株)島津製作所製Prominence有機酸分析システム)により、クエン酸、リンゴ酸、酒石酸の定量を行った。また、イオンクロマトグラフィー分析(サーモフィッシャーサイエンティフィック(株)製ICS-2100)により、水溶性シュウ酸の定量を行った。

2. 4 水煮イタドリの試作

図3のとおり、水煮イタドリの試作加工を行った。

すなわち、(1)前処理として、イタドリ試料50gを10秒間煮沸し、水冷後、(2)100mLの0.1M酢酸カルシウム溶液に、1時間、室温(23℃)下で浸漬した。浸漬溶媒を取り除き、水洗し、100mLの水に1時間浸漬したのち、水洗後、ざるで水を切り、(3)試料と50mLの水を真空袋(疆美人、クロリン化成(株)製)に同封し、小型高温高圧調理器「達人窯」を用い、芯温が85℃の状態に30分間、殺菌処理した。このとき、真空袋に同封した水を保存液とした。

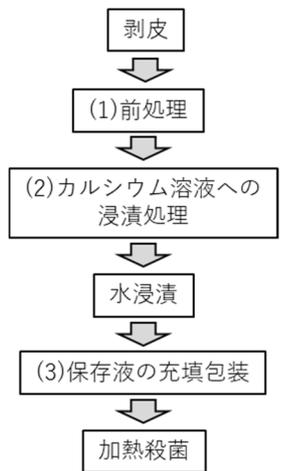


図3 水煮イタドリの加工工程

安定した品質の水煮イタドリを製造するために、以下のとおり、各加工工程が食感にもたらす影響を調査し、最適な加工条件の検討を行った。

(1) 前処理

剥皮したイタドリに対して、前処理なし、前処理あり(ブランシング(沸騰水に10秒間浸漬)又は、冷解凍)とし、図3のとおり水煮イタドリを試作した。

(2) カルシウム溶液への浸漬処理

イタドリの加熱による軟化を防止するために必要な乳酸カルシウム濃度の検討を行った。浸漬するカルシウム溶液を0.025M、0.05M、0.1M乳酸カルシウム溶液とし、水煮イタドリを試作した。試作した水煮イタドリは、暗所、室温下で保管し、経時的に破断荷重の測定を行った。

(3) 保存液の充填包装

水煮イタドリを長期間保存すると、褐変が認められた。この褐変の原因は、ポリフェノールの酸化であると推察された。そこで、食品の酸化による褐変防止に有効であるアスコルビン酸を保存液に添加し、保存試験を行った。(3)の保存液を水、0.05%、0.1%、0.2%アスコルビン酸溶液とし、水煮イタドリを試作した。試作した水煮イタドリは、暗所、室温下で保管した。

2.5 イタドリ試料の破断荷重の測定

試料を茎の長軸方向に切開し、10mm×10mmに切取り強度測定用試料とした。破断強度測定は、クリープ

メーター(山電(株)製RE2-3305C)にくさび治具(幅13mm×くさび角度30°先端1mm幅平面くさび)を茎繊維方向と平行に配置し、外層部から内層部に向かい、試験速度1mm/秒で強度を測定した。初期の荷重の山の最大値を破断荷重とした。

3. 結果と考察

3.1 イタドリの特徴を保持した加工技術の開発

3.1.1 効率的な有機酸の除去

野菜や果実の細胞壁には多量のペクチン質が含まれており、これが細胞の接着剤の役割を果たし、一定の形を保っている。野菜や果実を加熱すると、軟化するのは、このペクチンが分解、又は溶解するためであるといわれている³⁾。また、加熱時に、キレート作用を持つ有機酸が存在すると、ペクチンが加水分解し、軟化することが知られている⁴⁾。これまでの検討で、加熱による軟化は、イタドリに含まれる有機酸の存在が一因であることが判明している¹⁾。そこで、効率的な有機酸の除去方法の検討を行った。その結果、図4のとおり、水への浸漬前に短時間の煮沸処理や冷解凍処理を行うことで、無処理で水に浸漬するより、効率的に有機酸の除去ができることがわかった。これは、煮沸や冷解凍を行うことで、細胞壁にダメージが加わり、細胞内の有機酸が溶出しやすくなるためと考えられる⁵⁾。

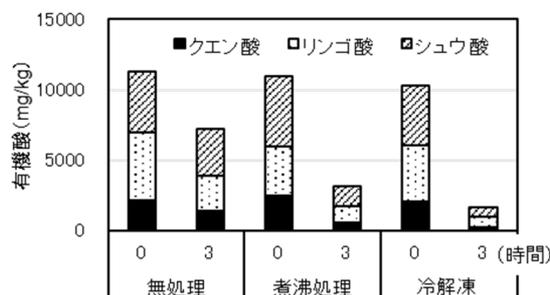


図4 水への浸漬による有機酸の除去

3.1.2 カルシウム塩への浸漬による軟化防止処理

今回、試作した水煮イタドリは、芯温が85℃の状態に30分以上加熱殺菌を行った。しかし、この条件で加熱すると有機酸を除去しても、図5のとおり、イタドリは軟化し、煮崩れた。

一般的にペクチンは多価陽イオンと架橋結合することで、網状構造が緻密化することが報告されている⁶⁾。このため、加熱による軟化を防ぐために、カルシウム塩を添加してペクチンの分解を防ぎ、食感を維持する加工方法が多数報告されている^{7,8)}。そこで、乳酸カルシウム溶液に浸漬することによる軟化防止作用の検証を行った。その結果、乳酸カルシウム溶液に浸漬することで、加熱による軟化を防止し、食感を保つことが

できた。

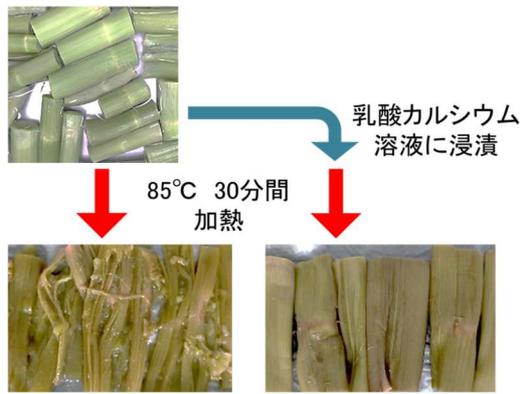


図5 乳酸カルシウム溶液への浸漬による加熱殺菌後の軟化

3. 2 長期保存可能な一次加工品の試作

図3のとおり、水煮イタドリを試作した。このとき、各工程が水煮イタドリの仕上がりに及ぼす影響について検討した。

(1) 前処理

前処理(ブランチング又は冷解凍)を行わず乳酸カルシウム溶液に浸漬した場合、加熱により軟化し、煮崩れたが前処理を行ったものは形を保つことができた。これは、前述のとおり、前処理を行わなかった場合、有機酸が除去できず残存してしまったと考えられる。さらに、煮沸や冷解凍を行うことで、細胞壁や細胞膜にダメージが加わることで、組織の内部までカルシウムが侵入し、隣接するペクチン鎖と架橋構造を形成して、軟化が抑制されたと考えられる。

(2) 乳酸カルシウム溶液への浸漬処理

イタドリが加熱殺菌によって軟化することを防止するために必要な乳酸カルシウム濃度の検討を行った。その結果、カルシウム溶液の濃度が高いほど、破断荷重は高くなった(図6)。

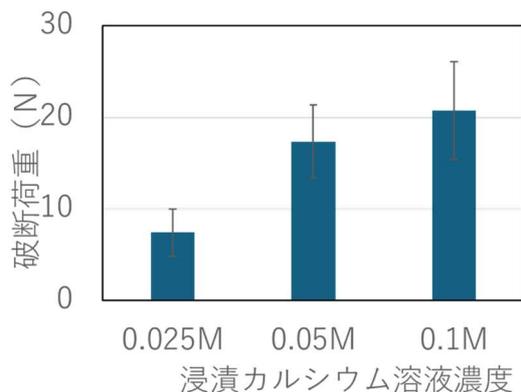


図6 乳酸カルシウム溶液濃度別破断荷重(N)

イタドリ試料を乳酸カルシウム溶液に浸漬した際、カルシウムはペクチンとの架橋だけでなく、シュウ酸等有機酸と結合し消費される。このことから、イタド

リ試料に含まれる有機酸の濃度を加味した乳酸カルシウム溶液に浸漬する必要があると考えられる。

(3) 褐変を防止するための加工方法の検討

食品の酸化による褐変防止に有効であるアスコルビン酸を保存液に添加し、保存試験を行った結果、10か月保存後も保存液を0.1%以上のアスコルビン酸液とした場合、褐変を防ぐことができたが、0.05%アスコルビン酸液では、部分的に褐変がみられた。しかし、図7のとおり0.1%以上のアスコルビン酸液では組織の崩壊がみられた。一方、冷凍イタドリ試料を用いた場合、組織の崩壊はみられなかった。

アスコルビン酸の添加による軟化の原因は、アスコルビン酸のキレート作用によりペクチンと架橋していたカルシウムが除かれ、ペクチンが可溶化した可能性が考えられる。冷凍イタドリ試料が軟化しなかった理由として、冷凍イタドリ試料の方が組織構造へのダメージが大きいとカルシウムが浸透しやすくカルシウムによるペクチンの架橋がより強固なネットワークを築いていたのではないかと推察された。このため、ブランチングによる前処理を行った試料に対してアスコルビン酸を添加する場合、乳酸カルシウム溶液への浸漬時間を延長するか、より高濃度の乳酸カルシウム溶液に浸漬することで、軟化が防止されると推測される。

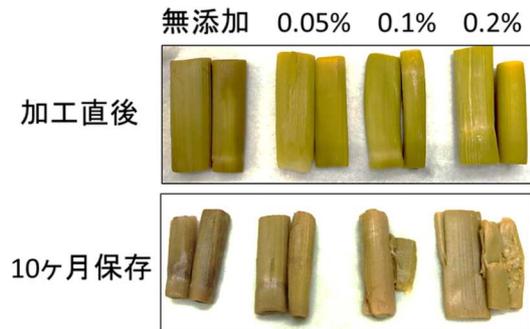


図7 保存液へのアスコルビン酸添加による褐変防止試験

4. まとめ

イタドリの特徴である食感を保持するための加工技術の検討を行った。その結果、短時間の煮沸や冷解凍による効率的な有機酸の除去とカルシウム処理による加熱殺菌を行うことで食感を保持することができた。

また、保存・流通に適した一次加工品(水煮イタドリ)の開発のための加工方法の確立を目指した。水煮イタドリの加工において、カルシウム溶液に浸漬する前に、ブランチングや冷解凍などの前処理を行うことが重要であることがわかった。今回、前処理を行ったイタドリ試料をカルシウム溶液に浸漬することでペクチンの分解を防ぎ、食感を維持することができた。しかし、カルシウムはペクチンを架橋するためだけでなく、イタドリに含まれるシュウ酸やクエン酸などの有

機酸と結合し消費されるため、それを考慮した濃度のカルシウム溶液に浸漬する必要があった。また、イタドリの褐変を防止する方法として、保存液へのアスコルビン酸の添加が有効であったが、食感が低下する事例がみられた。これは、アスコルビン酸が共存する状態で加熱することにより、アスコルビン酸のキレート作用によりペクチンと架橋していたカルシウムが除かれ、ペクチンが可溶化した可能性が考えられる。

参考文献

- 1) 和歌山県林業試験場, 和歌山県工業技術センター わかりやすいイタドリの昔ながらの加工と新たな活用 改訂版 2023.
- 2) 木村美和子、廣田彩花、高垣昌史、阪井幸宏、前田拓也 和歌山県工業技術センター研究報告, 2021, 1-3.
- 3) 洲上倫子 日本家政学会誌 2014, 65, 9, 479-491.
- 4) 洲上倫子ほか 日本家政学会誌 2008, 59, 11, 871-879.
- 5) 今泉鉄平 日本食品微生物学会雑誌 2019, 36(1), 4-8.
- 6) 金子憲太郎ほか 日本食品工業学会誌 1982, 29, 11, 665-671.
- 7) 真部正敏、樽谷隆之 日本食品工業学会誌 2019, 24, 2, 77-81.
- 8) 中山由佳、野田寧 日本食品工業学会誌 1977, 66, 9, 346-350.

可視紫外光変換アップコンバージョンフィルム作製検討

(化学技術部) 齋藤 茜、森 岳志、森 智博、増田 剛

要 旨

可視光を紫外光へ変換する光アップコンバージョンフィルムの開発を目指し、PVA 水溶液に適合できる水溶性色素を選定し、フィルム化の検討を行った。その結果、ピレン酪酸及び $\text{Ir}(\text{C6})_2(\text{HPA})$ を用いてフィルムを作製することで、アップコンバージョン発光が確認できた。

1. 緒言

太陽光のうち、紫外光はエネルギーが高く、光触媒や光反応への応用が期待されている有用な光である。しかしながら、太陽光に含まれる紫外線は5%程度と照射量が少なく、可視光から紫外光に変換する光アップコンバージョン(UC)による波長変換材料の開発が注目されている^{1,2)}。なかでも三重項-三重項消滅光アップコンバージョン(TTA-UC)は、太陽光強度でもUC発光を示すことから、自然エネルギーの有効活用にも期待される技術である^{3,4)}。そのため実用化に向けた多くのコンセプトが報告されており^{5,6)}、特に大面積で太陽光を受けるフィルム形態での利用が求められている。しかしながら、TTA-UC 固体材料の発光効率などの光学特性は溶液系と比較すると劣っており⁷⁻⁹⁾、特に可視光から紫外光への変換においては研究例が非常に少ない¹⁰⁾。

当センターでは、TTA-UC 固体材料の開発を目指し、色素とマトリックスの混合方法、そしてフィルムへの加工方法の研究開発に取り組んできた。これまでの研究で、ポリビニルアルコール(PVA)をマトリックスとして使用し、TTA を阻害する酸素の侵入を抑えることで、空気中でも安定にUC発光するフィルムの作製に成功している。その際、湿式延伸することでUC発光強度が大きくなり、緑から青への可視光-可視光変換を達成している^{11,12)}。そこで湿式延伸UCフィルムの技術を応用し、色素の組合せを変えることで、可視光-紫外光変換UCフィルムの開発を行った。通常、変換波長域は色素の組合せに依存し、溶液系では比較的容易に選択できる。しかし、フィルムのような固体系では色素の集合状態が変化することから、溶液系と同様なUC発光特性を示さない。そこで本研究では、PVA フィルム中での色素の分光特性を解析することで適応する可視光-紫外光変換色素の組合せを選定した。さらに、それらを用いてフィルム化の条件検討及びUC発光特性を調べ、湿式延伸UCフィルムの可視光-紫外光変換への応用について考察した。

2. 実験方法

2. 1 材料

アクセプターとしては、Sigma-Aldrich 社製のピレン

カルボン酸(図1(a))及び東京化成工業(株)社製のピレン酪酸(図1(b))を使用した。また、ドナーとしては $\text{Ir}(\text{C6})_2(\text{HPA})$ (図2)を2. 1. 1の手順で合成した。延伸浴に用いたホウ酸は富士フィルム和光純薬(株)社製のものを用いた。使用した溶媒、試薬についてはいずれも市販のものをそのまま使用した。

PVAは9wt%になるようPVA粉末(重合度1700、けん化度96~98%)と水を混合し、95°Cで4時間攪拌して十分溶解させた。透明な粘性のある溶液になっていることを確認し、フィルム作製に使用した。

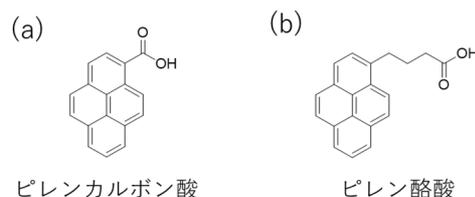


図1 ピレン誘導体の構造

2. 1. 1 $\text{Ir}(\text{C6})_2(\text{HPA})$ の合成

クマリン6 0.77g(2.2mmol)と塩化イリジウム 0.34g(1mmol)を50mL ニロナスフラスコに入れ2-エトキシエタノール10mL及び水3mLを加えて、アルゴン雰囲気下で24時間還流した。空冷後、吸引ろ過して中間体を回収した。得られた中間体1 0.14g(0.08mmol)と3-ヒドロキシピコリン酸 27.8mg(0.2mmol)、炭酸ナトリウム 0.53g(5mmol)をナスフラスコに入れ、2-エトキシエタノール20mLを加えてアルゴン雰囲気下で28時間還流した。減圧して溶媒を除去し、酢酸エチルを加えた後水洗した。ヘキサン：酢酸エチル=2：5(R_f 値0.5)でカラムクロマトグラフィーにて分離後、酢酸エチル/ヘキサンで再結晶を行い $\text{Ir}(\text{C6})_2(\text{HPA})$ 10mgを得た(図2)。

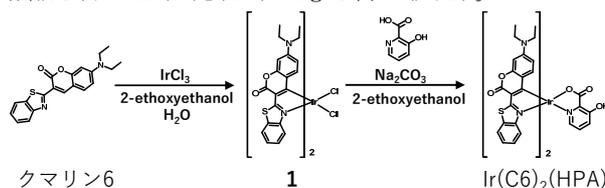


図2 $\text{Ir}(\text{C6})_2(\text{HPA})$ の合成

2. 2 PVA フィルムの作製

0.5mol/L テトラブチルアンモニウムヒドロキシド (TBAOH) 水溶液を用いて水に溶解させた色素を PVA 水溶液に混合した。この PVA 溶液を基板に厚み 700 μ m で塗布し(図 3①)、80 $^{\circ}$ C のオーブンで 30 分乾燥させて未延伸フィルムを得た(図 3②)。このフィルムを切り出し(図 3③)、3wt% ホウ酸水溶液中で延伸後、60 $^{\circ}$ C のオーブンで 5 分間乾燥して延伸フィルムを作製した(図 3④)。

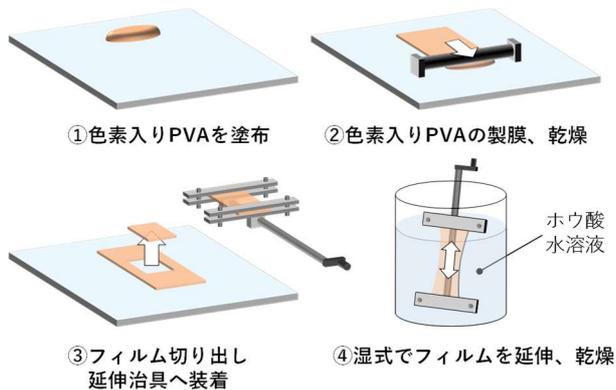


図3 PVA フィルムの作製方法

2. 3 溶液およびフィルムの評価

色素をアルゴン雰囲気下で溶媒に溶解させ、スクリーキャップ付きセルに入れた。励起光は 450nm のレーザーを用いて 63.8mW/cm² で照射した。図 4 のように設置した光ファイバーで分光器に導光し、分光器 iHR320 ((株)堀場製作所製)で分光して SincerityCCD((株)堀場製作所製)で発光スペクトルを測定した。また、フィルムの発光については、溶液用のセルと同じ場所にフィルムを置き、同様の光学系を用いて空気中で測定を行った。

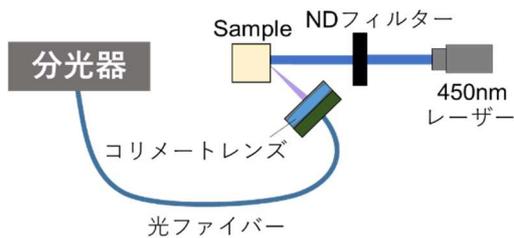


図4 発光スペクトル測定

吸収スペクトルは UV-3600 ((株)島津製作所製)、蛍光スペクトルは FP-6500 (日本分光(株)製)を用いて測定した。

フィルムの相対蛍光量子収率は、標準として水溶性ジフェニルアントラセン誘導体(WS-DPA4、図 5)を混合して作製したフィルム用い、式(1)より相対蛍光量子収率 Φ_F を計算した。ここで、 Φ は蛍光量子収率、 I は

積分蛍光強度、 A は励起光での吸光度、 F は未知試料、 R は標準試料を示す。WS-DPA4 フィルムの蛍光量子収率は浜松ホトニクス製絶対 PL 量子収率装置 C9920 を用いて測定した。

$$\Phi_F = \Phi_R \frac{I_F}{I_R} \times \frac{A_R}{A_F} \quad \dots (1)$$



図5 WS-DPA4 の構造

量子化学計算は DFT による B3LYP/6-311G-d 関数を用いて構造最適化及びエネルギー計算を実施した。

3. 結果と考察

3. 1 溶液系での光学特性評価

UC 発光が報告されているピレン及び Ir 錯体の組合せ^{13,14}を基に、アクセプターとしてピレン骨格にカルボン酸部位を有するピレンカルボン酸またはピレン酪酸、ドナーとして Ir 錯体にヒドロキシピコリン酸とクマリン 6 を配位させた Ir(C6)₂(HPA)を用いて溶液系での検討を行った。DMF 溶液中での発光スペクトル測定の結果(図 6)、450nm の励起光に対して 350nm~410nm の領域に UC 発光が検出され、いずれの組合せでも TTA-UC が起こることが確認できた。

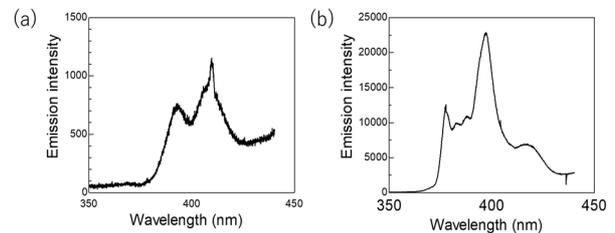


図6 DMF 溶液中の UC 発光スペクトル

(a) 1mM ピレンカルボン酸-0.01mM Ir(C6)₂(HPA)

(b) 1mM ピレン酪酸-0.01mM Ir(C6)₂(HPA)

3. 2 フィルムの UC 発光特性

溶液系で UC 発光が確認されたことから、3. 1 の色素の組合せでフィルムを作製し、450nm の励起光を照射した際の発光スペクトルを測定した(図 7 (a)、(b))。その結果、ピレン酪酸を用いた場合は未延伸のフィルムで UC 発光が検出され、可視光-紫外光変換 UC フィルムが得られた。一方で、ピレンカルボン酸を用いた場合は、溶液中では確認できていた UC 発光がフィルム状態では得られず、ピレンカルボン酸とピレン酪酸では TTA-UC 効率等に差が生じていることが示唆された。

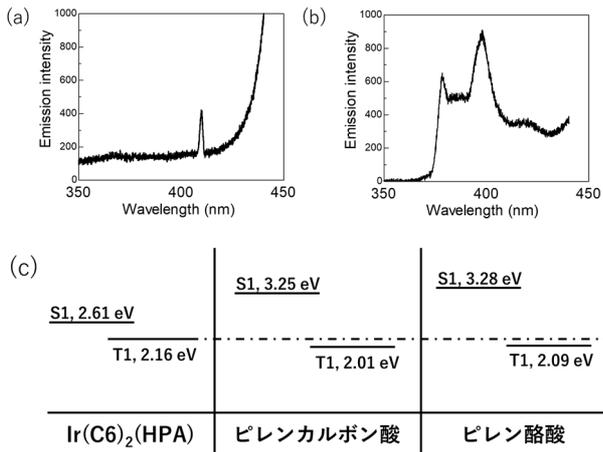


図7 PVA フィルムの発光スペクトル

- (a) ピレンカルボン酸 : 239 μ mol/PVAg, Ir(C6)₂(HPA) : 2.39 μ mol/PVAg
- (b) ピレン醜酸 : 239 μ mol/PVAg, Ir(C6)₂(HPA) : 2.39 μ mol/PVAg
- (c) 各色素のエネルギー計算値

ピレンカルボン酸及びピレン醜酸のUC発光の強度差の原因を調べるため、アクセプターのみを混合したフィルムを作製し、相対蛍光量子収率 Φ_F を比較した。式(1)より350nm励起時のピレンカルボン酸の相対蛍光量子収率は0.059、ピレン醜酸は0.314となった。ここでUC発光の量子収率 η_{UC} は式(2)によって算出される。 Φ_{ISC} は系間交差収率、 Φ_{TTET} は三重項エネルギー移動収率、 Φ_{TTA} は三重項がTTAによって消費される確率である。式(2)より、UC発光の量子収率はアクセプターの蛍光量子収率に比例することから、ピレン醜酸よりもピレンカルボン酸の方が、UC発光が起こりにくく、同じドナーを用いてもピレンカルボン酸をアクセプターとして用いた方がUC発光は弱くなったと考えられる。

$$\eta_{UC} = \Phi_{ISC} \Phi_{TTET} \Phi_{TTA} \Phi_F \quad \dots (2)$$

また、各色素のエネルギー値を計算した結果(図7(c))、ドナーであるIr(C6)₂(HPA)のT1軌道は2.16eV、ピレンカルボン酸は2.01eV、ピレン醜酸は2.09eVであることから、ピレンカルボン酸の方がIr(C6)₂(HPA)との差が大きく、Ir(C6)₂(HPA)からのエネルギー移動が起こりにくいと推察され、ピレンカルボン酸のUC発光強度が非常に小さくなった原因の一つと考えられる。

次に、未延伸フィルムでUC発光が確認されたピレン醜酸-Ir(C6)₂(HPA)用いて作製したフィルムをホウ酸浴中で4倍に湿式延伸し、450nm励起光照射により発光スペクトルを測定した(図8(a))。その結果、延伸することで未延伸フィルムでは確認できていたUC発光が検出できなかった。延伸によるUC発光消滅の原因としては、色素の凝集や濃度消光等による発光効率の低下、または架橋

剤であるホウ酸によってTTA-UC発光過程が阻害されている可能性が考えられた。そこで、まずPVAフィルム中での各色素の分散状態の評価を行った。図8(b)、(c)に示す各色素を混合したフィルムの吸収・蛍光スペクトルより、どちらの色素もスペクトルの形状がほとんど変化していないことから、延伸しても色素は凝集していないことが示唆された。

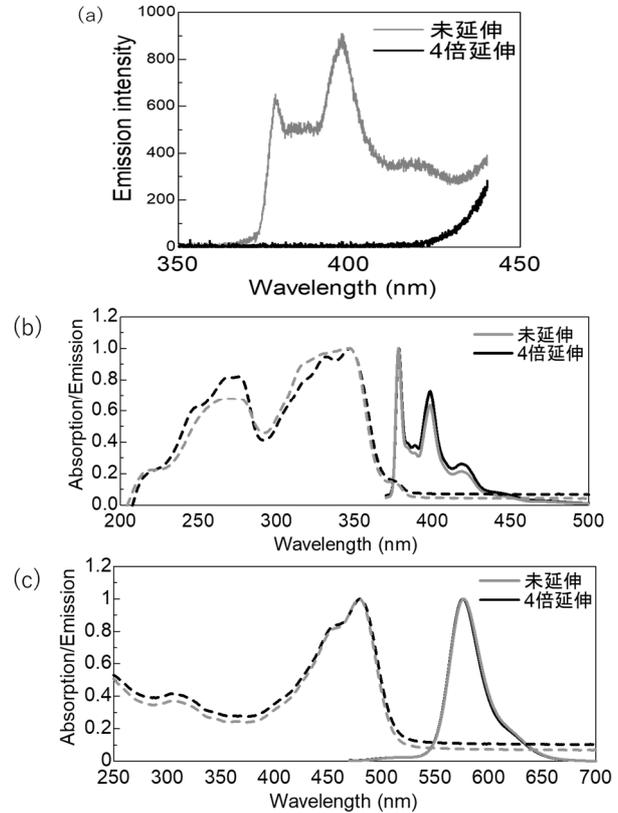


図8 (a)PVA フィルムの発光スペクトル(ピレン醜酸 239 μ mol/PVAg, Ir(C6)₂(HPA) : 2.39 μ mol/PVAg)
 (b)ピレン醜酸フィルムの吸収・蛍光スペクトル
 (c)Ir(C6)₂(HPA) フィルムの吸収・蛍光スペクトル
 (実線: 吸収スペクトル, 破線: 蛍光スペクトル)

そこで、ホウ酸の影響を確認するため、未延伸フィルムをホウ酸水溶液に30秒間浸漬後乾燥し発光スペクトルを測定した結果、延伸フィルムと同様にUC発光が消滅した。これらのことから、TTA-UCの過程においてホウ酸がエネルギー移動を阻害している可能性が考えられる。近年の研究で議論されているが^{15,16)}、市販のホウ酸から固体状態において室温で400nm~700nmに寿命の長い発光成分が確認されている。本研究で使用しているホウ酸は市販品であり、同様の現象が起こっている場合、ドナーのりん光が何らかのエネルギー移動を起こしている可能性も考えられる。しかしながら、ドナーの延伸フィルム(ホウ酸含有)からはりん光発光が未延伸と同等に強く確認できており、この結果からドナーから

三重項エネルギーがホウ酸に移動していたとしても、その影響はわずかであると考えられる。さらにPVA中のホウ酸の光学特性を調べるため、色素の含まれていないPVAフィルムをホウ酸浴中で湿式延伸し、吸収及び蛍光スペクトルを測定した。結果として、色素の蛍光やりん光を吸収するような吸収ピークは確認されず、また報告されているようなブロードな発光成分は検出されなかった。

UC 発光の消光はホウ酸添加が原因であることは明らかであるが、消光に至る経路については未解明である。今後は各色素の励起状態の詳細を時間分解発光・吸収測定等により消光メカニズムを把握することで、湿式延伸の有用性の判断および高効率化につながる解決策を見出すことができると考えられる。

4. まとめ

本研究では、PVA 水溶液に混合できる水溶性色素としてピレンカルボン酸もしくはピレン酪酸及び Ir(C6)₂(HPA)を選定し、可視光-紫外光変換UCフィルム作製検討を行った。その結果、ピレン酪酸及び Ir(C6)₂(HPA)をPVAに混合してフィルム化することで、空气中で可視光-紫外光変換できるUCフィルムの作製に成功した。一方で、このフィルムをホウ酸浴中で湿式延伸することでUC発光が消滅したため詳細について検討した結果、ホウ酸による影響が明らかとなったが、原因解明には至らなかった。現状では湿式延伸への応用が難しく、まずは未延伸フィルムでの高効率化を目指していく。一方で、延伸技術の独自性は当センターの強みであることから、

UC 発光消滅のメカニズムを明らかにすることで、改善策または新しい知見を見出すことができると考えている。

5. 謝辞

本研究は、一般財団法人内藤泰春科学技術振興財団「調査・研究開発助成」によるものであり、感謝の意を表する。

参考文献

- 1) Duan, P. *et al. Chem. Commun.*, **2014**, 50, 13111-13113.
- 2) Olesund, A. *et al. J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144, 3706-3716.
- 3) Zhao, J. Z. *et al. RSC Adv.*, **2011**, 1, 937-950.
- 4) Ronchi, A. *et al. Chem. Phys. Rev.*, **2022**, 3, 041301.
- 5) McCusker, C. E.; Castellano, F. N. *Top. Curr. Chem. (Cham)*, **2016**, 374, 19.
- 6) Simon, Y. C.; Weder, C. *J. Mater. Chem.*, **2012**, 22, 20817-20830.
- 7) Duan, P. *et al. J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137, 1887-1894.
- 8) Kim, J-H. *et al. Chem. Mater.*, **2012**, 24, 2250-2252.
- 9) Kamada, K. *et al. Mater. Horiz.*, **2017**, 4, 83-87.
- 10) Harada, N. *et al. J. Mater. Chem. C*, **2023**, 11, 8002-8006.
- 11) Mori, T. *et al. Mol. Syst. Des. Eng.*, **2018**, 3, 908-916.
- 12) Mori, T. *et al. ACS Appl. Polym. Mater.*, **2020**, 2, 1422-1428.
- 13) Du, Y. *et al. Adv. Photonics Res.*, **2021**, 2, 2000213.
- 14) Zhao, W. *et al. J. Phys. Chem. A*, **2006**, 110, 11440-11445.
- 15) Wu, Z. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 61, e202200599.
- 16) Cao, P.; Wang, Y.; Zheng, H.; Wu, P. *Aggregate*, **2024**, 5, e468.

柑橘類の化粧品原料としての基礎研究

(薬業振興部) 藤原麻紀子、石原理恵、大楠剛司、笠松隆二、森 めぐみ、宮井一行

要 旨

本研究では、柑橘類の果皮を化粧品原料として利用するため、シラヌイ及びキヨミ果皮を用いてそのエキスを抽出し、抽出したエキスの医薬部外品原料規格¹⁾(外原規)による確認及び高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による成分分析を行った。その結果、抽出したシラヌイ果皮エキス及びキヨミ果皮エキスは、外原規に適合した。また、ウンシュウミカン果皮エキスと同様にナリルチン及びヘスペリジンのピークを確認した。このことから、シラヌイ及びキヨミの果皮は、化粧品原料として利用可能であることが分かった。

1. 緒言

和歌山県では温暖な気候を生かした柑橘類栽培が盛んであり、代表的な柑橘類であるウンシュウミカンの果皮は、食品、医薬品等に利用されている。医薬品の規格等が定められている日本薬局方²⁾において「チンピ」の基原は、*Citrus unshiu* Marcowicz 又は *Citrus reticulata* Blanco (*Rutaceae*) の成熟した果皮と規定されている。そのため、国内でウンシュウミカン以外の柑橘類の果皮は、医薬品のチンピとして利用できない。

一方、外原規には、「チンピ末」及び「チンピエキス」が記載されており、その基原はウンシュウミカン *Citrus unshiu* (Swingle) Marcow. (*Rutaceae*) 又はその他近縁植物 (*Rutaceae*) の成熟した果皮と規定されており、ウンシュウミカン以外の柑橘類果皮を化粧品原料に利用することが可能である。

そこで本研究では、ウンシュウミカンの近縁種であるシラヌイ及びキヨミ果皮のエキスの抽出方法を検討し、外原規に適合するか確認を行った。また、HPLC による分析を行い、市販品のウンシュウミカン果皮から抽出したエキスの分析結果と比較した。

2. 実験方法

2. 1 試料

シラヌイは、令和4年3月に有田市で採取したものを、キヨミは、令和5年3月に有田市で採取したものを果皮と果実に分け、果皮を日陰で乾燥後、粉碎したものをを用いた。また、ウンシュウミカン果皮は、和歌山県産の市販品を購入し、粉碎したものをを用いた。

2. 2 エキスの抽出方法・抽出溶媒の検討

外原規において、チンピエキスは、エタノール、1, 3-ブチレングリコール、水又はこれらの混液にて抽出して得られるエキスであると規定されている。そこで、抽出方法として、溶媒をわずかに煮沸する程度に 60 分間加熱する方法(温浸)又は5日間室温で静置する方法(冷浸)を用い、抽出溶媒として、エタノール、50%エ

タノール及び水を用い、抽出後ろ過して、各エキスを調製した。

なお、温浸の 50%エタノール及び水で抽出したエキスは、減圧下でろ過を行った。

2. 3 外原規による試験

外原規に基づき、各エキス(シラヌイ果皮エキス6種、キヨミ果皮エキス6種)の性状の確認、確認試験(フラボノイドの呈色反応)及び純度試験(重金属及びヒ素)を行った。

2. 4 HPLC による成分分析

各エキス及びウンシュウミカン果皮エキス(温浸、50%エタノールで抽出) 1 mL を正確に量り、水/メタノール混液(1 : 1)で正確に 25 mL とした後、分析法マニユアル³⁾を参考に、HPLC により下記の測定条件で分析を行った。

<測定条件>

検 出 器 : 紫外吸光光度計(285nm)

カ ラ ム : SimpackVP-ODS, 5 μ m, 4.6mm ϕ \times 15cm

カ ラ ム 温 度 : 40°C

移 動 相 A : アセトニトリル/10mM リン酸混液
(20 : 80)

移 動 相 B : アセトニトリル/10mM リン酸混液
(70 : 30)

移動相の送液 : 移動相A及び移動相Bの混合比を表1のように変えて濃度勾配制御する。

表1 混合比の濃度勾配制御(流量 : 0.6mL/分、注入量 : 10 μ L)

注入後の時間(分)	移動相A (Vol%)	移動相B (Vol%)
0 ~ 20	100	0
20 ~ 25	100 \rightarrow 60	0 \rightarrow 40
25 ~ 40	60	40
40 ~ 45	60 \rightarrow 0	40 \rightarrow 100
45 ~ 55	0	100
55 ~ 60	0 \rightarrow 100	100 \rightarrow 0

3. 結果と考察

3. 1 外原規による確認

調製した各エキスについて、外原規に基づき、規格試験を行った結果を以下に示す。

(1) 性状

いずれのエキスも淡黄色～褐黄色の液で、特異なおおいであった。エタノール濃度が低いほど黄色が薄くなる傾向であった。

(2) 確認試験

いずれのエキスも淡紅色～濃紅色を呈した。

抽出方法が同じ場合はエタノール>50%エタノール>水の順で濃い紅色であり、抽出溶媒が同じ場合は、温浸>冷浸で濃い紅色であった。

(3) 純度試験

いずれのエキスも、重金属は20ppm以下、ヒ素は2ppm以下であった。

以上の結果から、今回調製した12種類のシラヌイ及びキヨミ果皮エキスは、外原規のすべての項目に適合した。

3. 2 HPLCによる成分分析

HPLCを用いて、成分分析を実施した結果、いずれのエキスにおいても、ナリルチン及びヘスペリジンのピークを確認した。図1に50%エタノールで、温浸で抽出した各エキスのクロマトグラムを示す。

以上の結果からシラヌイ及びキヨミ果皮エキスは、ウンシュウミカン果皮エキスと同様の成分を有していることを確認した。

4. まとめ

いずれのエキスも外原規に適合した。また、シラヌイ及びキヨミ果皮エキスは、ウンシュウミカン果皮エキスと同様の成分を含有することから、化粧品原料として利用できることがわかった。

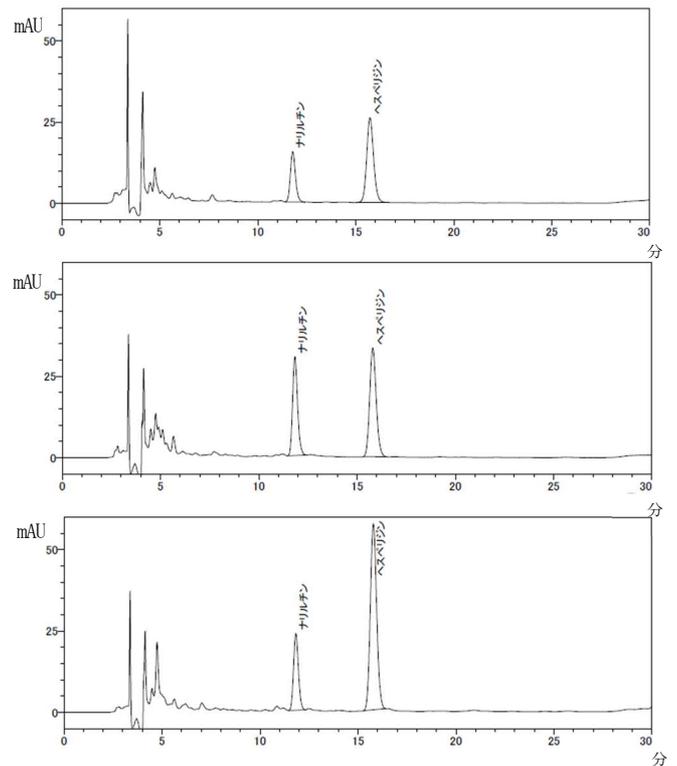


図1 HPLCによるクロマトグラム

上：シラヌイ果皮エキス(温浸、50%エタノール)

中：キヨミ果皮エキス(温浸、50%エタノール)

下：ウンシュウミカン果皮エキス(温浸、50%エタノール)

参考文献

- 1) 令和3年3月25日薬生発0325第1号医薬・生活衛生局長通知「医薬部外品原料規格2021について」.
- 2) 令和3年6月7日厚生労働省告示第220号「第18局日本薬局方」.
- 3) 大野一仁、笹山新生 食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル 柑橘のヘスペリジン 四国地域イノベーション創出協議会地域食品・健康分科会編, 2010.

固相誘導体化法を用いた GC/MS によるアミノ酸分析

(化学技術部) 大崎秀介、増田 剛

要 旨

アミノ酸混合標準溶液に対して、固相誘導体化法で前処理を行い GC/MS による測定を行った。前処理に要した時間は約 3 分程度であり、本手法を用いることで簡便・迅速にアミノ酸の誘導体化が可能であることが確認された。また、GC/MS 測定の結果、13 種類のアミノ酸が検出され、各ピーク (n=5) の面積値の相対標準偏差 (RSD (%)) は、ほとんどのピークにおいて 10% 未満となり、比較的良好な再現性が確認された。

1. 緒言

水酸基、アミノ基及びカルボキシル基等の極性基を有し、かつ揮発性が低い化合物に対してガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) を行う場合、測定対象成分の揮発性を高め、GC カラム内での吸着を防ぐ等の目的でトリメチルシリル化 (TMS 化) 等の誘導体化が行われる¹⁾。通常、この誘導体化を行うためには、抽出や濃縮などの煩雑な操作を要する前処理が必要となる。特に、生体試料を扱う場合は脱水操作として凍結乾燥を行うため、前処理に要する時間が 1 日以上必要となる場合もある。

一方、固相カートリッジ中の担体に測定対象成分を濃縮・保持した状態で誘導体化反応を行う「固相誘導体化法²⁾」を利用する場合、アセトニトリルなどの親水性有機溶媒を通液することで脱水が完結する。その後、誘導体化試薬を添加し数分間静置することで反応が終了するため、従来であれば 1 日以上時間を要した前処理が数分で完結する。また、作業も固相カートリッジに必要な溶液を通液するだけであるため、迅速・簡便な前処理法である (図 1)。

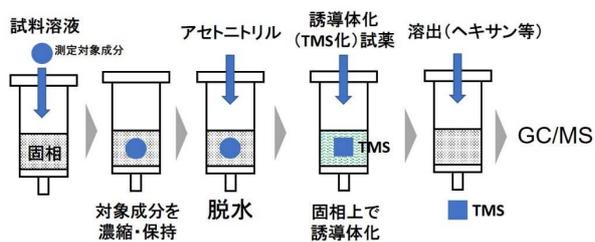


図 1 固相誘導体化法の概要

今回は、アミノ酸を測定対象として、固相誘導体化法による前処理の迅速性と GC/MS におけるデータの再現性を確認する目的で測定を行ったので報告する。

2. 実験方法

2. 1 用いた試薬

測定試料として、種々のアミノ酸が約 0.25mM の濃度で調製されたアミノ酸混合標準溶液、H型 (富士フイルム和光純薬 (株)) を用いた。固相誘導体化処理に使用した溶媒は Infinity Pure グレードのアセトニトリル及びヘキサン (富士フイルム和光純薬 (株)) を用いた。また、誘導体化試薬には *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (MSTFA) (GLサイエンス (株)) を用いた。

2. 2 試料溶液の調製

アミノ酸混合溶液 100 μ L を 880 μ L のアセトニトリル/水 (1/1) で希釈した。その後、固相上にイオン性の相互作用でアミノ酸を保持させるために、0.2M の塩酸水溶液または 0.2M の水酸化ナトリウム水溶液を 20 μ L 加え、pH を酸性 (アミノ基のプロトン化: $-\text{NH}_2 \Rightarrow -\text{NH}_3^+$) または塩基性 (カルボキシル基の脱水素: $-\text{COOH} \Rightarrow -\text{COO}^-$) の状態にした 2 種類の試料溶液を調製した。

2. 3 固相誘導体化反応

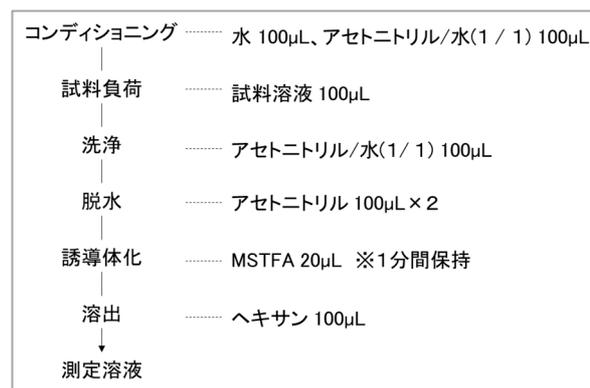


図 2 固相誘導体化処理の操作スキーム

固相カートリッジには、カチオン性及びアニオン性の強イオン交換樹脂が担持された固相カートリッジ (Presh-SPE ACXs, (株) アイスティサイエンス製) を用いた。固相誘導体化法の操作手順は、固相カートリッジに水及びアセトニトリル/水 (1/1) を通液することで

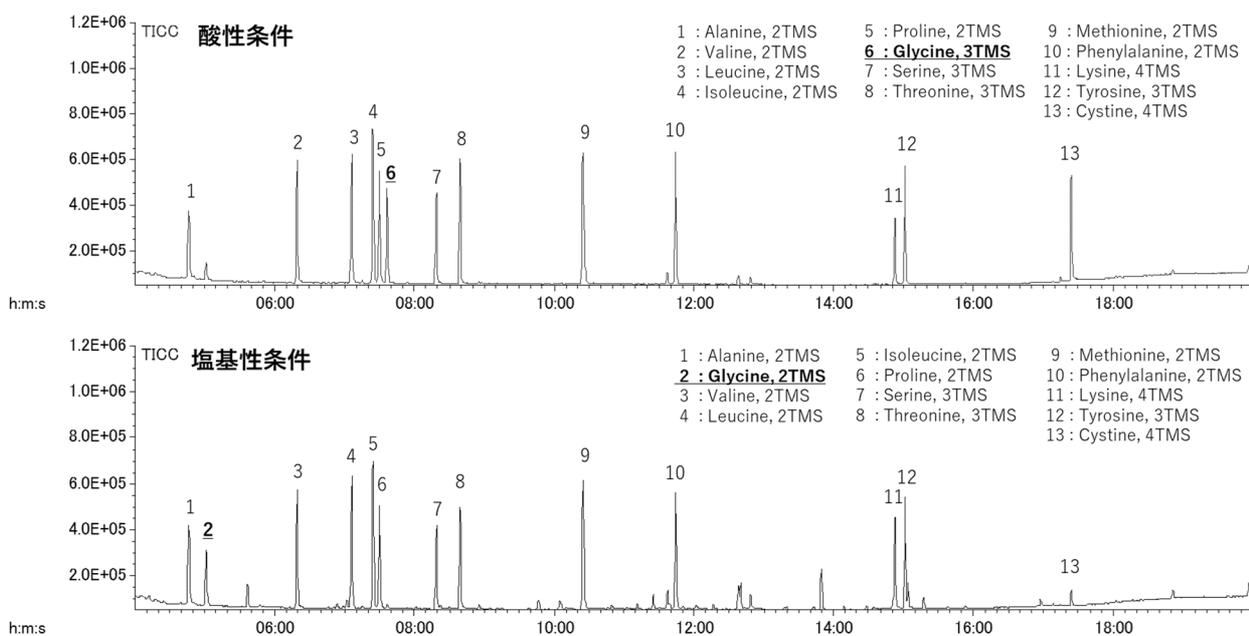


図3 アミノ酸混合標準溶液のトータルイオンカレントクロマトグラム(TIC)

コンディショニングを行った後に、試料溶液を負荷した。その後、脱水のためにアセトニトリルを通液し、誘導体化試薬である MSTFA を固相上に直接添加することで誘導体化を行い、ヘキサンで溶出し測定溶液とした。詳細については図2に示す。

なお、今回の一連の操作に要した時間は、約3分間であった。

2. 4 装置及び測定条件

GC/MS 装置 (GC:8890, Agilent 製、MS:JMS-Q1600, JEOL 製) を用い、表1に示す条件にて測定を行った。

表1 GC/MS 測定条件

注入量	1 μ L
気化室温度	290°C
注入条件	スプリット比 5:1
キャリアガス	ヘリウム
制御モード	流量一定/コンスタントフロー (1 mL/分)
カラム	DB-5MS UI (30m, 250 μ m, 0.25 μ m)
オープン温度	100°C (2分) \rightarrow 10°C/分 \rightarrow 220°C \rightarrow 30°C/分 \rightarrow 320°C (5分)
溶媒待ち時間	4分
GCITF温度	290°C
イオン源温度	260°C
スキャン範囲	50-500m/z

3. 結果と考察

3. 1 アミノ酸の検出

アミノ酸混合標準溶液に対して固相誘導体化処理を行い、GC/MS 測定を行った。試料溶液の pH が酸性 (塩酸水溶液を添加) の場合と塩基性 (水酸化ナトリウム水溶液を添加) の場合のトータルイオンカレントクロマトグラム (TIC) を図3に示す。検出ピークの MS スペクトルをデータベースと照合した結果、それぞれの TIC で TMS 化された 13 種類のアミノ酸が検出されていることが確認された。データベースの MS スペクトルとの類似度を示す M.F. (マッチングファクター) は、ほとんどの場合で 900 以上であり、良好な一致を示す値であ

った。図4に一例として、ピーク1の MS スペクトルとそのデータベース検索の結果を示す。

試料溶液の pH が酸性の場合と塩基性の場合とを比較すると、グリシンに由来するピークにおいて、異なる誘導体化挙動が確認された (酸性: ピーク6 Glycine, 3TMS、塩基性: ピーク2 Glycine, 2TMS)。これは、

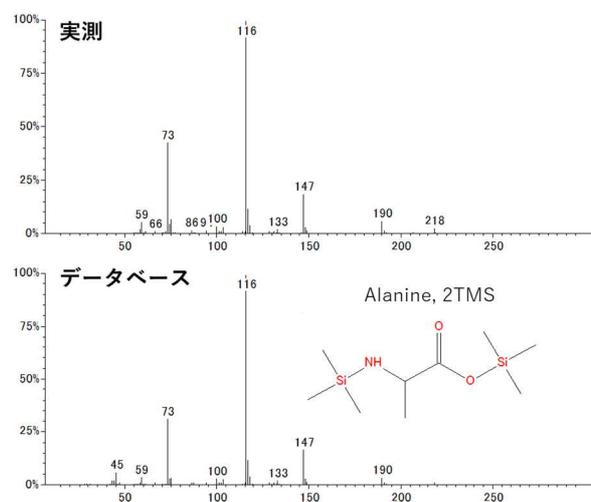


図4 ピーク1のMSスペクトル

試料溶液の pH の違いによりグリシンの固相への吸着状態が異なるため、TMS 化反応にも違いが生じたためと考えられる。グリシンにのみこの様な違いが生じる原因については不明であるが、この現象は溶液中での TMS 化反応では見られない固相誘導体化反応特有の挙動であると考えられる。

3. 2 再現性

本法における GC/MS 測定の再現性を確認するために、酸性状態の試料溶液に対し固相誘導体化処理を 5 回行

い、それぞれの溶液における検出ピークの面積値を比較した(表2)。その結果、各ピークの再現性を示す相対標準偏差(RSD(%))は、ほとんどのピークで10%未満の値を示した。また、面積値のばらつきが見られるピーク1及び5においても20%未満の値を示し、比較的良好な再現性が確認された。

表2 ピーク面積の再現

	1st	2nd	3rd	4th	5th	平均値	RSD(%)
1 Alanine, 2TMS	640980	587984	571239	828454	822293	690190	18.3
2 Valine, 2TMS	1140214	1059577	1008705	1180402	1161728	1110125	6.6
3 Leucine, 2TMS	1189480	1084026	1011188	1124376	1101315	1102077	5.9
4 Isoleucine, 2TMS	1514154	1413222	1373494	1462791	1456974	1444127	3.7
5 Proline, 2TMS	830065	758582	728987	1030828	1038218	877336	16.9
6 Glycine, 3TMS	910143	881292	872742	786236	789854	848053	6.7
7 Serine, 3TMS	935360	832609	795736	920445	902846	877399	6.9
8 Threonine, 3TMS	1148654	1017489	924951	1058808	1040995	1038179	7.7
9 Methionine, 2TMS	1572306	1411137	1311748	1618822	1598480	1502499	9.0
10 Phenylalanine, 2TMS	1139430	1046051	964369	1078056	1086529	1062887	6.1
11 Lysine, 4TMS	563946	518588	490317	453431	447804	494817	9.7
12 Tyrosine, 3TMS	1026799	918468	858425	852836	851056	901517	8.4
13 Cystine, 4TMS	885710	801504	731545	746870	730916	779309	8.5

4. まとめ

アミノ酸混合標準溶液に対して、固相誘導体化法を前処理としたGC/MSによる測定を行った。前処理に要

した時間は約3分程度であり、本手法を用いることで簡便・迅速にアミノ酸の誘導体化が可能であることが確認された。また、GC/MS測定の結果、13種類の誘導体化されたアミノ酸が検出され、各ピーク(n=5)のRSD(%)は、ほとんどのピークにおいて10%未満となり、比較的良好な再現性が確認された。また、試料溶液のpHの違いにより、誘導体化反応に異なる挙動を示す成分が見られた。この現象は溶液中でのTMS化反応では見られない固相誘導体化反応特有の挙動であり、本法特有の反応機構を理解するために、今後その詳細を明らかにしていきたい。

本稿は、成長型中小企業等研究開発支援事業(Go-Tech事業)で得られた成果の一部を掲載しています。

参考文献

- 1) 小川茂 ぶんせき, **2008**, 7, 332-336.
- 2) Takeo, E.; Sasano, R.; Shimma, S.; Bamba, T.; Fukusaki, E. *J. Biocsi. Bioeng.*, **2017**, 24, 700-706.

フェニルアゾメチン dendroliマー包接型 Pd サブナノ粒子触媒の合成及び触媒反応への応用

(化学技術部) 藤井 亮、西山靖浩

要 旨

クロスカップリングにおける触媒のリーチングに対して、抑制効果が期待されるフェニルアゾメチン dendroliマー包接型 Pd ナノ粒子固定化触媒を合成した。合成した固定化触媒を用いて鈴木・宮浦カップリングを行ったところ、市販触媒よりも高い触媒活性を示した。触媒リーチングを調べたところ、反応の初期段階では Pd 種の溶出は少なかったが、今回反応を行った条件下では、時間経過とともに Pd 種が溶出することがわかった。

1. 緒言

近年、化成品製造において送液しながら反応を行うフロー合成法が注目されている¹⁾。フラスコや反応釜を用いるバッチ法と異なり、細い流路を流れるフロー合成法は、高速混合や熱伝導に優れるため、危険な反応でも、比較的容易かつ安全に行うことができる²⁾。また、光透過性の問題からバッチ法では工業的に実施困難である光反応においても、細い流路を反応空間とするフロー合成法では効率的に行うことができる³⁾。

触媒反応においても様々なメリットが挙げられる。例えば、固定化触媒をカラムに充填し、そこに反応液を流しながら反応を行うことで、反応と触媒の分離を一挙に行うことができる⁴⁾。また、異なる触媒カラムを連結することで、複数ステップの化学反応を連続して実施することも可能である⁵⁾。これは長い合成ステップを要する医薬品等の複雑な構造の化合物合成においては非常に効果的な合成手法である。

現在、従来のバッチ法からフロー合成法への展開を目指し、酸化や還元、エステル・アミド化や炭素-炭素結合反応等、様々なフロー系触媒反応が開発されてきている^{4b)}。また、化合物の骨格を組み上げる上で、鈴木・宮浦カップリングに代表されるクロスカップリング反応も、フロー系触媒反応開発における重要なターゲットである^{4b)}。

このフロー系クロスカップリング反応において、反応中に生じる触媒のリーチングは解決すべき課題の一つである⁶⁾。Pd ナノ粒子触媒を用いた鈴木・宮浦カップリング反応を例に挙げると、反応メカニズム上、反応基質との結合に際し Pd 種が一度ナノ粒子表面から脱離して反応が進行する。その際、溶液中で Pd 種同士が凝集することがあり、これによる大きな粒子形成が活性低下の原因となることが知られている。なお、バッチ法では適切な担体にナノ粒子を固定化することで、反応終了後にリーチングした Pd 種がナノ粒子表面に再結合することが可能である。これは活性種が担体と溶

液を往復するブーメラン型触媒として、均一系触媒と不均一系触媒の両方の利点を持つためである⁷⁾。一方、常に送液しながら反応を行うフロー合成法では、触媒のリーチングは活性種が触媒カラムから徐々に流失することを意味し、製品中への触媒金属混入の原因にもなるため、回避すべき現象である。

触媒リーチングに対する方策の一つとして、ナノ粒子をポリマーで覆うことによる安定化が挙げられる。過去の研究では、ポリマーでナノ粒子を包接することで、リーチングした Pd 種が大きな凝集体を形成することなく、触媒の顕著な失活も見られなかった例が報告されている⁸⁾。しかし反応の最中では Pd 種は一度ポリマー外へ溶出していることが示唆されている。

そこで、より Pd 種を強く補足できるポリマーの利用が触媒リーチングに対する解決策になると考え、フェニルアゾメチン dendroliマーに着目した。この dendroliマーは最外層から内部への電子密度勾配があり、構造中のイミン窒素が金属イオンを強く結合することが知られている⁹⁾。すなわち、フェニルアゾメチン dendroliマーで Pd ナノ粒子を包接することによって、反応中ナノ粒子表面から脱離した Pd 種の溶媒中へのリーチングを効果的に抑制できるのではないかと考えた(図1)。

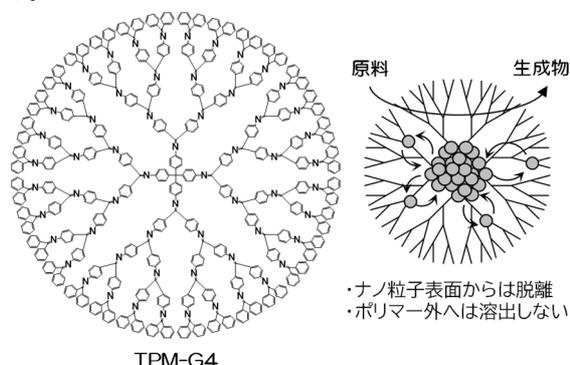


図1 フェニルアゾメチン dendroliマーの構造と期待される触媒リーチング抑制効果

以上の背景のもと、本研究ではフェニルアゾメチン dendroliマー包接型 Pd ナノ粒子触媒を合成し、鈴木・宮浦カップリング反応を検討するとともに、Pd 種のリーチング抑制効果の検討を行った。

2. 実験方法

2. 1 フェニルアゾメチン dendroliマーの合成

既報¹⁰⁾を参考にし、第4世代 tetraphenylmethane core phenylazomethine dendrimer (TPM-G4)の合成を行った。典型的な手法として第2世代の合成と TPM-G4 の例を示す。

(1) 第2世代 predendron (G2 predendron)の合成

4,4'-diaminophenylmethane 4.96g (25mmol)、acetophenone 9.48g (52mmol)とクロロベンゼン 100mL をアルゴン置換した二口フラスコに加えた。続いて 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octane (DABCO) 16.83g (150mmol)を加えアルゴン雰囲気下、125°Cで30分程度攪拌した。その後 TiCl₄ 7.11g (37.5mmol)をゆっくり滴下し、引き続き24時間加熱攪拌した。24時間後、室温まで放冷し、不溶成分をろ過によって除去した。溶媒をエバポレーターで留去した後、酢酸エチル/水系で洗浄と抽出を行い、その後溶媒を留去した。得られた固体について、酢酸エチル/ヘキサン系で再沈殿を行い、薄黄色の固体を得た。

(2) 第2世代 dendron (G2 dendron)の合成

G2 predendron 10g (18.99mmol)、KMnO₄ 9g (56.96mmol)、tetrabutylammonium bromide (TBAB) 1.84g (5.70mmol)とベンゼン 80mL を二口フラスコに加えてアルゴン雰囲気下、溶液を80°Cで加熱しながら18時間攪拌した。その後、KMnO₄ 9g (56.96mmol)及び TBAB 1.84g (5.70mmol)を追加し、80°Cでさらに24時間攪拌した。24時間後、室温まで放冷し、反応液に亜硫酸水素ナトリウム水溶液と酢酸エチルを加え、洗浄及び抽出を行った。有機層の溶媒を留去した後、クロロホルム/メタノール系で再沈殿を行い、黄色の固体を得た。

第3及び第4世代の predendron と dendron についても同様の反応によって合成を行った。

(3) TPM-G4 の合成

G4 dendron 400mg (0.149mmol)、tetrakis (4-aminophenyl)methane (0.025mmol)、DABCO 410mg (3.655mmol)とクロロベンゼン 5mL を三口フラスコに加えてアルゴン雰囲気下、90°Cで10分間攪拌した。その後 TiCl₄ 173mg (0.912mmol)を滴下し、125°Cで20時間攪拌した。20時間後室温まで放冷し、不溶成分をろ過により除去した。溶媒をエバポレーターで留去した後、クロロホルム/水系で洗浄と抽出を行い、その後溶媒を留去し、黄色の固体を得た。

2. 2 Pd²⁺との結合形成の確認

合成したフェニルアゾメチン dendroliマーと Pd²⁺と

の結合形成を確認するため、MeCN/クロロホルム(7/5)にフェニルアゾメチン dendroliマーを3μMになるように溶解し、そこに3mM Pd(BF₄)₂(MeCN)₄/MeCN を添加した。結合形成の様子はUV-Vis スペクトル測定によって確認した。

2. 3 dendroliマーを鋳型とした Pd ナノ粒子合成¹¹⁾

dendroliマー最外層までの全窒素数と当量、又は最外層の窒素を差し引いた残りの窒素数と当量の Pd(BF₄)₂(MeCN)₄を加えたフェニルアゾメチン dendroliマーに対し、0.2M NaBH₄/MeOH 溶液を用いて Pd²⁺を還元することで Pd ナノ粒子を合成した。その後活性炭を加え、フェニルアゾメチン dendroliマー包接型 Pd ナノ粒子触媒が担持された固定化触媒を調製した。

2. 4 鈴木・宮浦カップリング反応の実施

(1) 塩基及び反応溶媒の検討

合成した固定化触媒を用いて鈴木・宮浦カップリング反応における塩基と反応溶媒の検討を行った。基質は4-iodoacetophenone と phenylboronic acid を用いた。また、穏和な条件で反応の進行を調べるため、Pd換算で0.025mol%の触媒を用い、50°Cで反応を行った。

(2) 触媒検討

(1)で最も反応効率が高い条件において、今回合成した固定化触媒と市販の Pd/C の触媒活性を比較した。

(3) 触媒リーチングテスト¹²⁾

触媒リーチングテストは、0.25μm シリンジフィルターを用いて、反応開始10分後の溶液を熱時ろ過し、得られたろ液のみでの反応が進行するかどうかを調べる方法で行った(図2)。

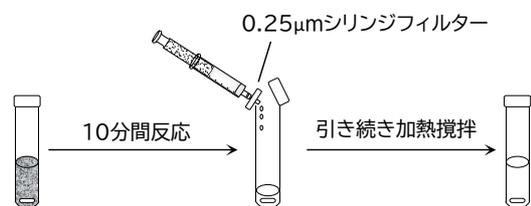


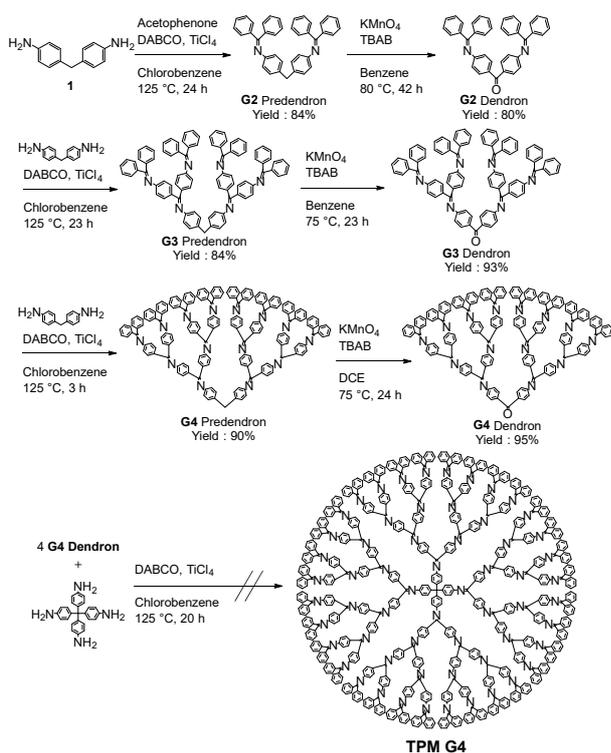
図2 触媒リーチングテストの操作

3. 結果と考察

3. 1 フェニルアゾメチン dendroliマーの合成

既報に従い predendron と dendron 合成を繰り返して、良好な収率で G4 dendron が得られた(式1)。その後 TPM-G4 の合成を行ったが、反応後の GPC 分析では様々な分子量成分が観測された。これは立体障害が原因で単一分子量の TPM-G4 が合成できなかったと考えられる。そこで新たに、G4 dendron 2分子がコアに結合した第4世代 dendritic phenylazomethine (DPA-G4) (窒素数 第一層: 2個、第二層: 4個、第三層: 8個、第四層: 16個)と、G3 dendron 4分子がコアに結合した第3世代 tetraphenylmethane core phenylazomethine dendrimer TPM-G3 (窒素数 第一層: 4個、第二層: 8

個、第三層：16個)の合成を2. 1(3)と同様に行い、それぞれ収量 1.1g(収率：50%)、660mg(収率：43%)で目的物を得た(図3)。



式1 フェニルアゾメチンデンドリマーの合成

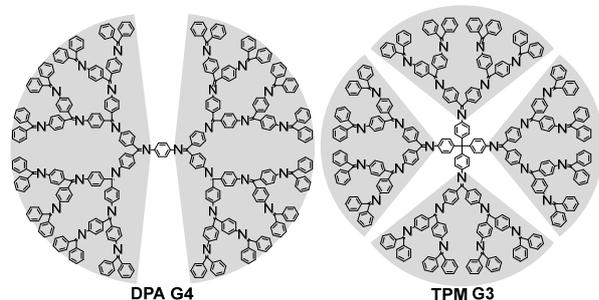


図3 DPA-G4及びTPM-G3の構造

3. 2 Pd²⁺との結合形成の確認

DPA-G4 及び TPM-G3 に対して Pd(BF₄)₂(MeCN)₄ を添加すると、既報¹¹⁾と同様にデンドリマー内のイミンと Pd²⁺との錯形成による UV-Vis スペクトルの変化が見られた(図4)。この変化はデンドリマー内の窒素数に相当する Pd(BF₄)₂(MeCN)₄ を添加するまで見られたが、窒素数以上の Pd(BF₄)₂(MeCN)₄ を加えても変化は見られなかった。これにより、デンドリマー窒素が Pd²⁺と量論的に結合していることが示唆された。

3. 3 デンドリマーを鋳型としたPdナノ粒子合成

DPA-G4 及び TPM-G3 に対して、それぞれの窒素数と当量の Pd を添加しナノ粒子化した Pd30@DPA-G4/C 及び

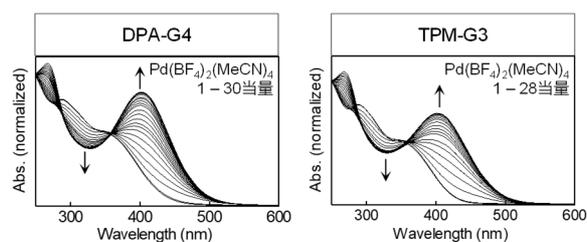


図4 Pd²⁺添加によるDPA-G4とTPM-G3のUV-Visスペクトル変化

Pd28@TPM-G3/C と、最外層の窒素数を差し引いた量の Pd を添加しナノ粒子化した Pd14@DPA-G4/C 及び Pd12@TPM-G3/C を合成した(図5)。

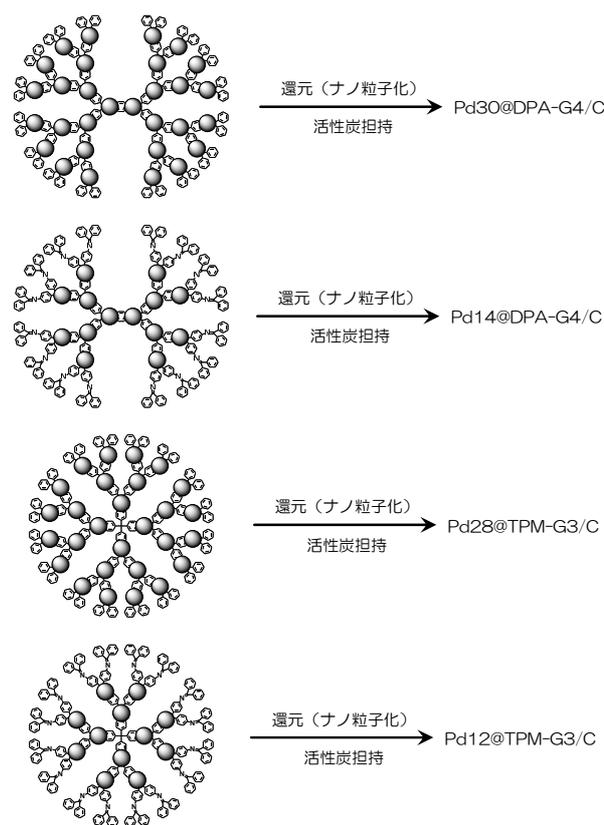


図5 DPA-G4及びTPM-G3を鋳型としたPdナノ粒子の調製

3. 4 鈴木・宮浦カップリング反応の実施

(1) 塩基及び反応溶媒の検討

Pd30@DPA-G4/C を用いて塩基及び反応溶媒の検討を行った。その結果、NaOHを用いてEtOH中で反応を行うと効率よく反応が進行することが分かった(図6)。

(2) 触媒検討

(1)で得られた条件下において、Pd30@DPA-G4/C、Pd28@TPM-G3/C、Pd14@DPA-G4/C、Pd12@TPM-G3/C 及び市販のPd/Cを触媒として鈴木・宮浦カップリング反応を行い、各触媒の活性を比較した(図7)。その結果、本研究で合成した触媒は市販触媒と同等かそれ以上の活性を有することが示された。また、Pd30@DPA-G4/C は Pd28@TPM-G3/C と比較して高活性であった。これは、

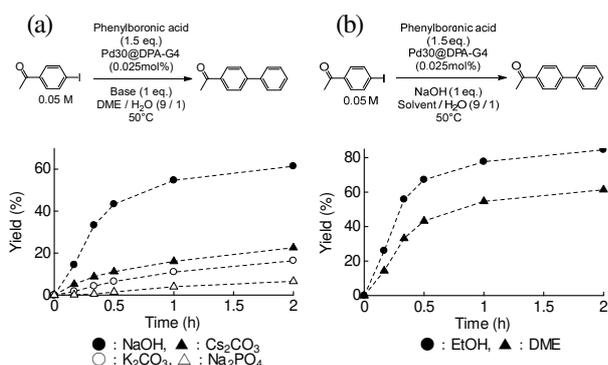


図6 鈴木・宮浦カップリング反応における条件検討
(a) 塩基の検討、(b) 溶媒の検討

DPA-G4がTPM-G3よりも内部空間が広く、反応基質とのアクセスが促進されていることが原因と考えられる。さらに、同じTPM-G3包接型Pd触媒でもPd12の方がPd28よりも高い活性を示した。この原因として、Pd12の方が dendroliマー内部に占めるPdナノ粒子の体積が小さいため、Pd28よりも dendroliマー内部の疎水空間が広く、反応基質の取り込みに適していることが考えられる。

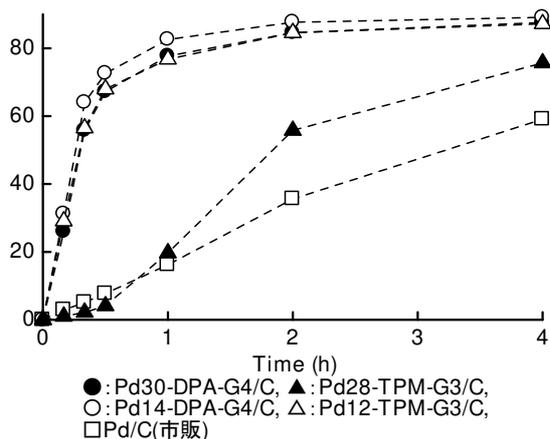


図7 合成した触媒を用いた鈴木・宮浦カップリング反応

(3) 触媒リーチングテスト

まず、Pd30@DPA-G4/CをEtOH中で加熱攪拌・ろ過を行った後、ろ液に反応基質を加えても反応は全く進行しなかった。このことから dendroliマー自体が活性炭表面から脱離していないことが示唆された。次に、合成した各触媒を用いて(2)と同条件で10分間鈴木・宮浦カップリング反応を行い、0.25 μ mシリンジフィルターを用いてろ過を行った後、ろ液のみでの反応の進行を調べた(図8)。

反応中、Pd種が溶媒中にリーチングしていなければ、ろ液のみを加熱攪拌しても反応は進行しないはずであるが、Pd30@DPA-G4/C、Pd14@DPA-G4/C及びPd12@TPM-G3/Cにおいてはろ液のみでも反応が進行した。一方で、

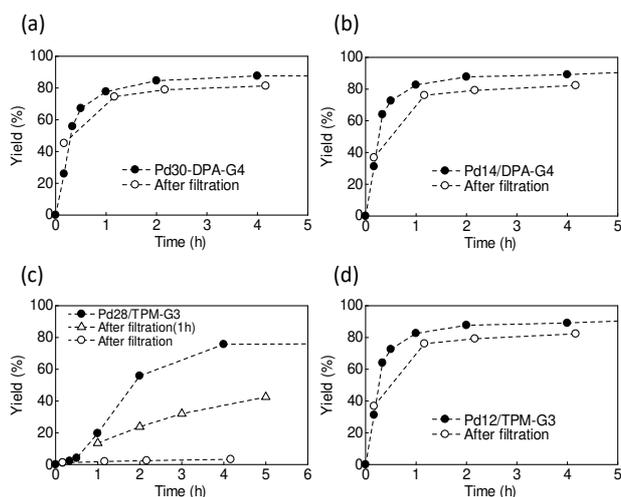


図8 触媒リーチングの確認

- (a) Pd30@DPA-G4/C (b) Pd14@DPA-G4/C
(c) Pd28@TPM-G3/C (d) Pd12@TPM-G3/C

- : ろ過せずに触媒反応を行った場合
○: 反応開始10分後にろ過したろ液による反応
△: 反応開始1時間後にろ過したろ液による反応

反応中、Pd種が溶媒中にリーチングしていなければ、ろ液のみを加熱攪拌しても反応は進行しないはずであるが、Pd30@DPA-G4/C、Pd14@DPA-G4/C及びPd12@TPM-G3/Cにおいてはろ液のみでも反応が進行した。一方で、Pd28@TPM-G3/Cを用いた反応曲線は他の3つの触媒とは異なり、反応開始後30分間は反応の進行が遅い。これは、反応初期に誘導期があることを意味し、Pd種に対する反応基質と dendroliマー内窒素の相互作用が競合していることを示唆している。そこで、ある程度反応が進行した1時間後に同様の操作をしたところ、ろ液のみでも反応は進行した。このことから、Pd30@DPA-G4/C、Pd14@DPA-G4/C及びPd12@TPM-G3/Cは反応中、Pd種が dendroliマー外へ溶出しており、Pd28@TPM-G3の場合、誘導期の間では dendroliマーがPd種を効果的に補足していることが考えられる。しかしPd28@TPM-G3においても、反応の進行とともにPd種が溶出していることが示唆された。

鈴木・宮浦カップリング反応のどの段階でPdが dendroliマー外へ溶出しているかを考えた際、主に4つの段階が挙げられる(図9)。①～③の中間体形成の際、 dendroliマー内部よりも溶媒への親和性が向上すると、Pd種が dendroliマー外へ溶出しうる。その場合は、反応溶媒や水の割合、また塩基の種類を詳細に検討することでPd種の溶出を抑制することは可能であると考えられる。一方で、④の段階でPd種が溶出している場合、本研究で用いたフェニルアゾメチン dendroliマーの補足能が不十分である可能性が挙げられる。

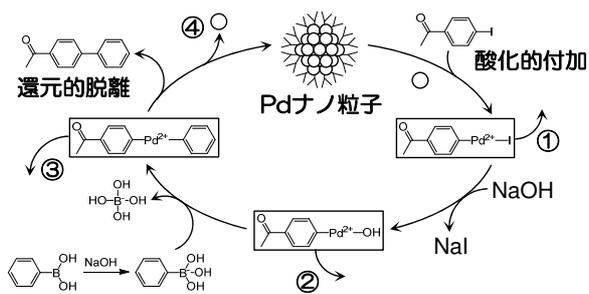


図9 鈴木・宮浦カップリング反応メカニズム

4. まとめ

本研究では、フェニルアゾメチン dendrimer 包接型 Pd ナノ粒子触媒を合成し、鈴木・宮浦カップリング反応へ応用した。合成した触媒は市販触媒よりも高い活性を示したものの、本研究で行った反応条件では触媒リーチングを効果的に抑制することは困難であった。しかし Pd₂₈@TPM-G3 の場合、反応初期段階においては Pd 種を補足できていることが示唆されているため、今後この TPM-G3 の実験結果を基に dendrimer 構造や反応条件の最適化を行うことで、フロー系カップリング

反応にも適用可能な、触媒リーチングの少ない固定化触媒の開発が期待できる。

参考文献

- 1) 「フロー合成、連続生産のプロセス設計、条件設定と応用事例」技術情報協会, **2020**.
- 2) Machitani, K. *et al. J. Flow Chem.*, **2020**, *10*, 491.
- 3) Mizuno, K. *et al. J. Photochem. Photobiol. C*, **2016**, *29*, 107.
- 4) (a) Masuda, K. *et al. Tetrahedron*, **2018**, *74*, 1705. (b) Hattori, T. *et al. Catalysts*, **2015**, *5*, 18.
- 5) Tsubogo, T. *et al. Nature*, **2015**, *520*, 329.
- 6) (a) Redón, R. *et al. Recent Pat. Nanotechnol.*, **2014**, *8*, 31. (b) Ichitsuka, T. *et al. ChemCatChem*, **2019**, *11*, 2427.
- 7) Gruttadauria, M. *et al. Green Chem.*, **2013**, *15*, 2608.
- 8) Giacalone, F. *et al. ACS Nano*, **2016**, *10*, 4627.
- 9) Yamamoto, K. *et al. Nature*, **2002**, *415*, 509.
- 10) (a) Takanashi, K. *et al. Org. Lett.*, **2004**, *6*, 1709. (b) Enoki, O. *et al. Org. Lett.* **2006**, *8*, 569.
- 11) Huda, M. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, *58*, 1002.
- 12) Ohtaka, A. *et al. ChemCatChem*, **2013**, *5*, 2167.

和歌山県工業技術センター研究報告（令和6年度・第34号）

令和7年2月発行

編集・発行 和歌山県工業技術センター

和歌山市小倉 60 番地

TEL (073) 477-1271

FAX (073) 477-2880

印刷所 株式会社 土井印刷

TEL (073) 431-4981

FAX (073) 431-8475



WINTEC

未来に結ぶ技術の架け橋
和歌山県工業技術センター