

東京工科大学

博士学位論文

無機担体との複合化によるアントシアニン色素及び
フィコエリスリン色素の安定化に関する研究

平成27年 1月 7日

林 怡宏

目次

| | |
|---------------------------------------|----|
| 第1章 緒言 | 1 |
| 1.1 有機無機複合色材研究の背景 | 1 |
| 1.2 本研究で用いる天然色素について | 1 |
| 1.2.1 アントシアニン色素 | 3 |
| 1.2.2 フィコエリスリン色素 | 6 |
| 1.3 有機無機複合色材の目的と現状 | 8 |
| 1.4 有機無機複合化に関する現行技術(市販品) | 9 |
| 1.4.1 レーキ顔料 | 9 |
| 1.4.2 有機色素被覆雲母チタン | 10 |
| 1.5 有機無機複合化に関する研究動向 | 11 |
| 1.5.1 無機ホストとしての層状粘土鉱物 | 11 |
| 1.5.2 カチオン性色素と層状粘土鉱物の複合化 | 12 |
| 1.5.3 アニオン性色素と陽イオン性層状鉱物の複合化研究 | 14 |
| 1.5.4 アニオン性色素と層状粘土鉱物の複合化 | 15 |
| 1.5.5 無機ホストとしてのメソポーラスシリカ | 17 |
| 1.5.6 合成色素(アニオン性)とメソポーラスシリカの複合化の研究 | 20 |
| 1.5.6 合成色素(カチオン性色素)とメソポーラスシリカの複合化の研究 | 22 |
| 1.6 本論文の目的 | 23 |
| 第2章 ぶどう果皮色素とMCM-41型メソポーラスシリカの複合体 | 26 |
| 2.1 緒言 | 26 |
| 2.2 実験 | 26 |
| 2.2.1 色素の調製 | 26 |
| 2.2.2 MCM-41型メソポーラスシリカの合成 | 27 |
| 2.2.3 複合体の調製 | 29 |
| 2.2.5 メソポーラスシリカの特長 | 29 |
| 2.2.4 安定性試験 | 30 |
| 2.3 結果及び考察 | 31 |
| 2.3.1 MCM-41へのアントシアニン色素及びアントシアニン色素の吸着 | 31 |
| 2.3.2 アントシアニン色素とAl含有MCM-41の吸着挙動 | 34 |
| 2.3.3 アントシアニン色素とFe含有メソポーラスシリカの吸着挙動 | 36 |
| 2.2.4 複合体の安定性 | 41 |
| 2.4 結論 | 43 |
| 第3章 ぶどう果皮色素とHMS型メソポーラスシリカの複合体 | 45 |
| 3.1 緒言 | 45 |
| 3.2 実験 | 45 |

| | | |
|-------|--------------------------------------|----|
| 3.2.1 | 色素の調製 | 45 |
| 3.2.2 | HMS 型メソポーラスシリカの合成 | 46 |
| 3.2.3 | 複合体の調製 | 47 |
| 3.2.4 | メソポーラスシリカの特性 | 48 |
| 3.2.5 | Ca ²⁺ の測定 | 48 |
| 3.2.6 | 安定性試験 | 49 |
| 3.3 | 結果及び考察 | 49 |
| 3.3.1 | Al-HMS の物性 | 49 |
| 3.3.2 | Al-HMS へのアントシアニン色素の吸着 | 50 |
| 3.3.3 | Al-HMS を NaOH で洗浄効果 | 53 |
| 3.3.5 | 複合体の安定性 | 59 |
| 3.4 | 結論 | 61 |
| 第 4 章 | フィコエリスリン色素の粘土鉱物への吸着と安定化 | 62 |
| 4.1 | 緒言 | 62 |
| 4.2 | 実験 | 62 |
| 4.2.1 | 原料 | 62 |
| 4.2.2 | 色素抽出 | 62 |
| 4.2.3 | 粘土鉱物の性質 | 63 |
| 4.2.4 | 複合体の調製 | 64 |
| 4.2.5 | 複合体のキャラクタリゼーション | 64 |
| 4.2.6 | 安定性試験 | 65 |
| 4.3 | 結果及び考察 | 66 |
| 4.3.1 | 海苔色素溶液の性質 | 66 |
| 4.3.2 | 粘土鉱物の性質 | 68 |
| 4.3.3 | 粘土へのフィコエリスリン色素の吸着 | 69 |
| 4.3.4 | フィコエリスリン色素/粘土鉱物複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル | 71 |
| 4.3.5 | 色素水溶液の pH 及び塩添加の影響 | 73 |
| 4.3.6 | 塩添加時の PE 色素複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル | 76 |
| 4.3.7 | 色素/ヘクトライト複合体の構造 | 77 |
| 4.3.8 | 色素/粘土鉱物複合体の蛍光スペクトル | 80 |
| 4.3.9 | 複合体の安定性 | 81 |
| 4.4 | 結論 | 83 |
| 第 5 章 | フィコエリスリン色素のシリカ粒子への吸着と安定化 | 84 |
| 5.1 | 緒言 | 84 |
| 5.2 | 実験 | 84 |
| 5.2.1 | 原料 | 84 |
| 5.2.2 | 色素抽出 | 84 |

| | | |
|-------|-----------------------------|-----|
| 5.2.3 | 多孔質シリカの疎水性表面処理 | 85 |
| 5.2.4 | 複合体の調製 | 85 |
| 5.2.5 | 複合体のキャラクタリゼーション | 86 |
| 5.2.6 | 安定性試験 | 87 |
| 5.3 | 結果及び考察 | 87 |
| 5.3.1 | 多孔質シリカへのフィコエリスリン色素の吸着 | 87 |
| 5.3.2 | 色素水溶液の pH の影響 | 89 |
| 5.3.3 | 色素水溶液の塩添加の影響 | 90 |
| 5.3.4 | 多孔質シリカの疎水化の影響 | 93 |
| 5.3.6 | 蛍光発色 | 95 |
| 5.3.5 | 色素/多孔質シリカ複合体の状態 | 97 |
| 5.3.7 | 複合体の安定性 | 99 |
| 5.4 | 結論 | 101 |
| 第 6 章 | 総括 | 102 |
| 第 7 章 | 参考文献 | 107 |

第 1 章 緒言

1.1 有機無機複合色材研究の背景

現在、化粧品の着色剤やインクジェット用インクなど身近な色材として使用されている有機色素は、ほとんどが合成色素である。合成色素は枯渇資源である石油を原料としており、また人体に悪影響を与える場合もある。また、石油由来の製品であるというイメージから嫌悪感を消費者も多い。そのため、体に直接触れたり摂取したりする色材としては、天然由来の原料が好まれる傾向にある。

食品や化粧品などで工業的に利用されている天然色素(有機色素)は、ブドウやバナナのような植物から抽出されるものがほとんどである。原料が食品に利用されているものも多く、合成性色素よりも身体に対する安全性が高いことが長所とされている。その一方で、天然色素は耐光性や熱安定性に劣り、また、水や有機溶媒へと溶出しやすいといった欠点も有する。そのため天然色素をより広範囲の産業分野で利用する上で大きな制約となる。そこで天然色素をはじめとする有機色素を無機ホストと複合化することによって、水や溶剤への溶出性を抑制したり、光や熱安定性を高める研究が進められている[1]。

本研究では、安定性の低さと水や溶媒への溶出性が課題である 2 種類の植物由来の天然色素である「アントシアニン色素」と「フィコエリスリン色素」を題材に、天然色素と無機ホストの複合化について、担体の開発および複合化の方法についての検討を行った。

1.2 本研究で用いる天然色素について

本研究では、天然色素の化粧品分野への応用をとくに目指している。

化粧品分野で現在使用されている着色材は有機色素、無機顔料、パール顔料、天然色素の 4 つに分けることができる。有機色素は合成色素また法定色素とも呼ば

れ、鮮やかな色味と豊富な色調を有している。無機顔料は酸化鉄、酸化チタン、カーボンブラックなどがある。水への溶出性が低いこと、隠蔽性が高いことが特徴だが、色味の鮮やかさには欠ける。パール顔料は、二酸化チタンを被覆したマイカなどで、メタリックのようなきらきらとした光沢を与えるものとして、利用されている。

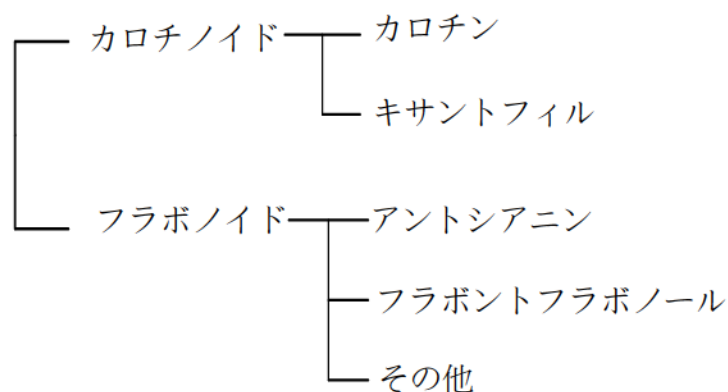
一方、現在の化粧品で天然色素が用いられることは極めて希で、合成の有機色素を用いないことを特徴とする化粧品製品において、ベニバナ、コチニール、クチナシなどが用いられるのみである。コチニール色素は昆虫の乾燥体から抽出した色素であり、着色顔料として、古くから食品や化粧品で使用されている。ただし、アレルギーの報告により、最近では化粧品への配合は忌避されている。ベニバナは植物由来の紅色染料として、古来より口紅に配合されている。

着色剤由来の化粧品のアレルギーや肌トラブルは多数報告されており、その多くは合成有機色素に関するものである。一方、植物由来天然色素は食用植物から抽出されるものも多く、安全性が高いとされ、また環境にも優しいため、古来の化粧品に使われていた天然色素への注目が再び集まっている。しかしながら、前述のように天然色素は熱、光に対して色調が変化しやすく、水溶出性も高いので、現状では合成の有機色素の代替とすることは不可能である。そこで、新技術の開発として、天然色素と無機担体の複合化が検討されている。

本研究では、安定性に課題がある2種類の天然色素をその対象とした。一つは維管束植物に大量に含まれるフラボノイド系色素であるアントシアニン色素であり、もう一つは海苔に含まれる色素タンパクであるフィコエリスリン色素である。前者はその豊富な色相が魅力であり、後者は紫外線の照射によって蛍光色を発するという機能を有する。

1.2.1 アントシアニン色素

植物に含まれる天然色素はカロチノイド系とフラボノイド系の2種類が主である。



フラボノイド系色素であるアントシアニン色素は植物に広く分布しており、イチゴ、リンゴ、バラなど果実や花卉に存在している[2]。色素の色はオレンジから、赤色、紫色、青色、黒色まで幅広い[3]。食用色素としても使用されている。

アントシアニン色素は C6-C3-C6 の骨格を持っている。アントシアニン色素の色素本体(アグリコン、アントシアニンジンと呼ばれる)は様々の糖と結合し、アントシアニンとなる。現在 23 種類のアントシアニンジンと 500 種以上のアントシアニンが発見されている。アントシアニジンの基本骨格を図 1 に示した。アントシアニンは 3-位で糖が 1 個結合しているもの、3-位と 5-位で糖が 2 個結合しているもの、3-位と 7-位で糖が 2 個結合しているものがある。自然には 3-位で糖が 1 個結合しているアントシアニンが 3-位と 5-位で糖が 2 個結合しているアントシアニンの 2.5 倍存在している。シアニンジン-3-O-グリコシドはもっともよく見られるアントシアニンの形である。

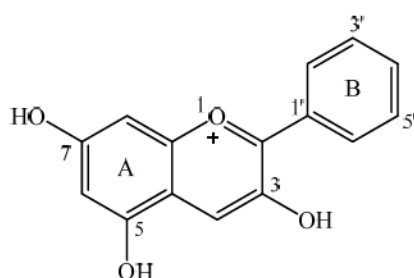


図 1 3,5,7-トリヒドロキシ-2-フェニルベンゾピリリウム

植物で、よく見られるアントシアニジンはペラルゴニン、シアニン、デルフィニン、ペオニン、ペツニン、マルビジンの6種類であり、構造式を図 2 に示した。その中で、メキシ基をもたないペラルゴニン、シアニン、デルフィニンが自然の中で多い(80%)。B 環の 3' または 5' に OH 基が多くついている場合、色素は赤色から青色に変化する。ペラルゴニンはオレンジ色、シアニンは鮮赤色あるいは深赤色、マルビジンは青色である。また、置換基がメキシ基に変わると、色素の赤みが増加する。

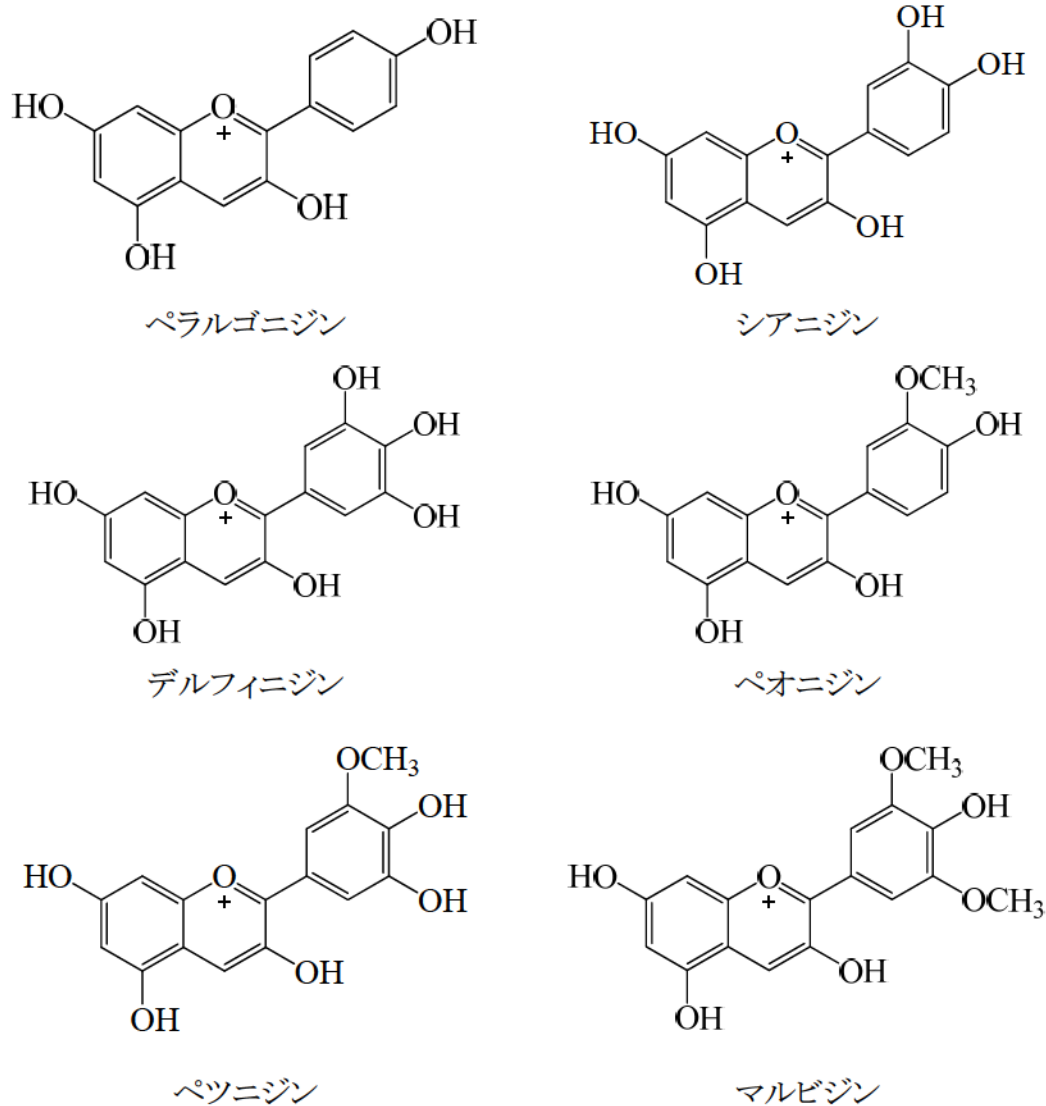


図 2 アントシアニジンの構造式

アントシアニンは植物から単離すると安定性が低下する。pH、温度、光、酸素、金属イオンなどの因子がアントシアニンの安定性に影響を与える。この不安定さのためにアントシアニンの工業的な応用が限られている。

水溶液の pH によってアントシアニンは異なる構造式を表す(図 3)。強酸性では、アントシアニンフラビリウムカチオン型で存在し、赤色を示す。pH が上がるにつれ、キノン型構造で青味が増え、中性に近いと、擬塩基(pseudo-base)となり、無色になる。塩基性条件では、アントシアニンはレトロカルコン型を経て、分解しやすくなる[2, 4]。

B 環に存在する OH 基及びメキシ基が増加するとアントシアニンおよびアントシアニンの安定性は低下する。従って、アントシアニン中では、ペラルゴニジンの安定性が一番高い。

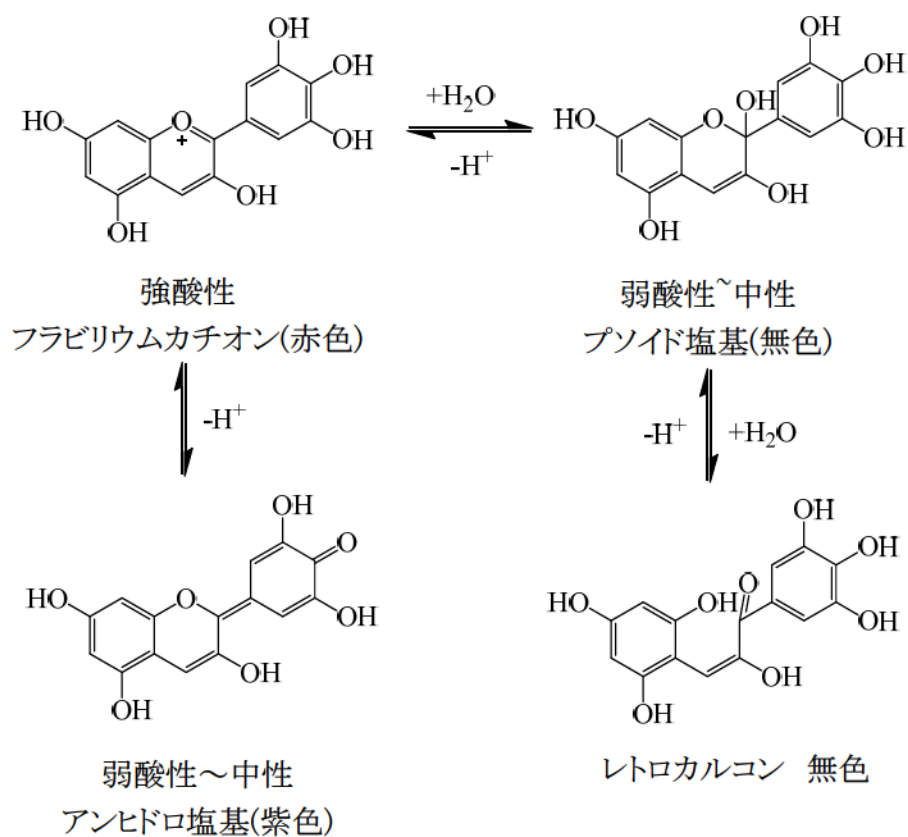


図 3 pH によるアントシアニンの構造の変化

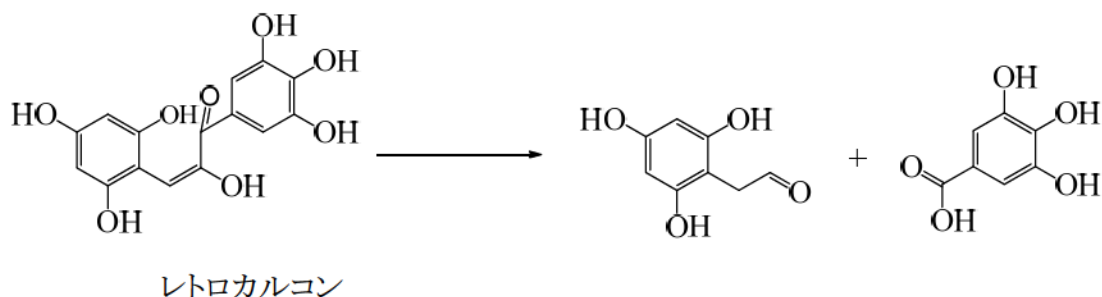


図 4 アントシアニンの分解機構

植物体中では、アントシアニンは他のアントシアニン、多糖類、金属イオンなどと発色補助因子(Co-Pigment)結合して存在していることが多い。このような結合を作成することにより、フラビリウムイオンの 2 位に対する水からの攻撃が保護され、アントシアニンは酸化しにくくなる。コピグメンテーションによって濃色効果(hyperchromic effect)及び吸光スペクトルの深色効果(bathochromic shift)を発現する場合がある。

アントシアニンは強酸性でフラビリウムカチオンになり赤色で発色する。しかし、天然の状態である弱酸性では、擬塩基で無色である。しかしながらコピグメンテーションによって弱酸性環境でもアントシアニンの安定性は向上し、発色する。

安定性に影響を与える主たる因子として、金属錯体形成がある。アントシアニンは Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Sn^{2+} などの金属と錯体形成すると、色調が青色に変化すると報告される [5, 6]。つまり金属の存在により、アントシアニンの安定化が図られ、発色の強さが増加し、色調が変化することがある。本研究では、このような金属とアントシアニンの相互作用も活用して安定化を検討した。

1.2.2 フィコエリスリン色素

フィコビリタンパク質は水溶性タンパク質であり、クリプト藻、藍藻、紅藻などに存在している。フィコビルリンとタンパク質と共有結合し、光合成の集光色素であるフィコビリタンパク質となる。フィコビリタンパク質は 4 種類知られており、フィコシアニン(最大吸収波長 $\lambda_{\text{max}} = 610\sim 620 \text{ nm}$)、フィコエリスリン($\lambda_{\text{max}} = 540\sim 570 \text{ nm}$)、アロフィコシアニ

ン($\lambda_{\max}=650\sim655\text{ nm}$)、フィコエリトロシアニン($\lambda_{\max}=560\sim600\text{ nm}$)である[7]。

フィコエリスリン色素は赤い色味と蛍光特性が注目されていて[8]、蛍光プローブとしてフローサイトメトリー (flow cytometry)、顕微鏡検査、免疫化学、生体医学業などに利用されている[9-11]。しかし、フィコエリスリン色素は藻類から分離されると、60℃程度の穏和な高温条件や、光照射により退色しやすいため、工業製品の着色剤としての応用はまだ実現されていない。

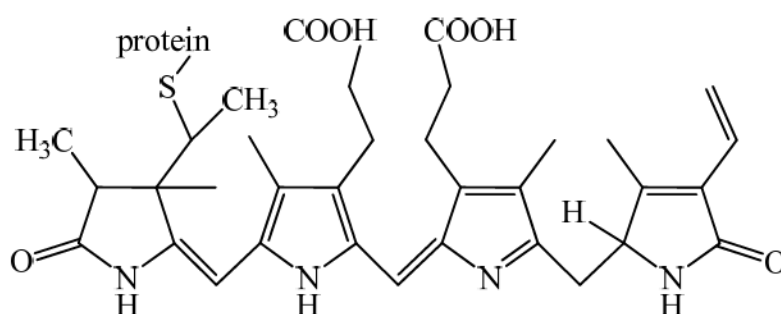


図 5 フィコエリスリン色素の構造

フィコエリスリン色素は吸光スペクトルにより、R-フィコエリスリン、B-フィコエリスリン、C-フィコエリスリンに分けられる。R-フィコエリスリン通常は三つのポリペプチド(α 、 β 、 γ)と結合して($\alpha\beta$) 6γ の状態では藍藻や紅藻内に豊富に存在している。B-フィコエリスリンはR-フィコエリスリンと同様($\alpha\beta$) 6γ の状態では微細藻類に存在している[8, 9, 12]。

フィコエリスリン色素の分離精製についていくつかの方法がある。主なものとしては、硫酸アンモニウム沈殿法、カラムによる分離、ゲル濾過、クロマトグラフィーなどがある[13, 14]。またより簡便な分離精製法として、水で藻類のエキスを抽出し、界面活性剤を加え、共存する色素を沈殿・除去し、フィコエリスリン色素を得る方法が報告されている[15]。本研究では、この界面活性剤を用いた簡便方法を参考とし、攪拌方法や界面活性剤量、界面活性剤を除去するための透析や色素水溶液の濃縮など項目を検討して、精製方法を確立した。

1.3 有機無機複合色材の目的と現状

有機色素を無機ホストと複合化する目的は、1)光や熱退色の抑制、2)水やオイルへの溶出(ブリード)の抑制、3)色素の凝集抑制・分散性の向上、4)色相の変化・発色の向上などが挙げられる。

複合化の手法としては、無機ホストの①表面への付着、②層間吸着、③包接・細孔内吸着がある。通常、色素分子と無機担体間の相互作用はこの順に強くなるといわれている。

有機色素が無機担体と複合化する主たる機構としては、単純な物理的表面付着ならびに化学反応以外には、疎水性相互作用や静電気相互作用などの吸着機構が挙げられる。

疎水化相互作用は、色素水溶液中の有機色素が疎水表面である無機担体に吸着(析出)する作用である。また、静電的相互作用は、静電的電荷を持つ色素が無機担体のもつ反対電荷によって吸着する機構である。担体の電荷は、分散媒の pH によって変化する表面電荷(と電位)の場合と粘土におけるカチオン交換サイトのような恒久的な電荷の場合がある。

新規の有機色素を開発することなしに、既存の材料の組み合わせのみで色素の欠点の克服や新しい性能を付与できるという点で、有機無機複合色材は魅力的な技術であるといえる。以下に工業的実用化されている技術ならびに研究がおこなわれている技術について説明をする。

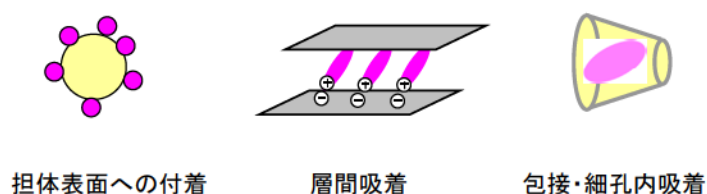
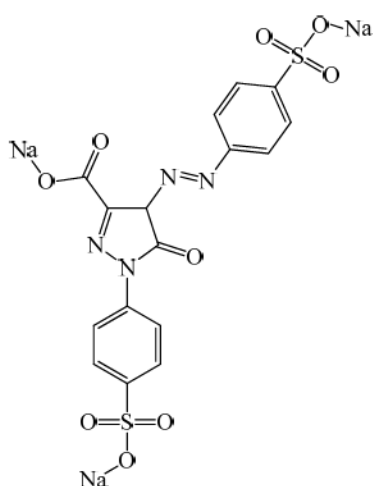


図 6 有機無機複合色材のイメージ

1.4 有機無機複合化に関する現行技術(市販品)

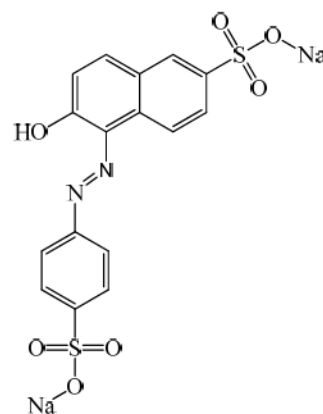
1.4.1 レーキ顔料

食品の製品を着色する場合は、一般的に水溶性の有機色素がそのまま利用される。一方、メイクアップ化粧品のように肌に色をのせる場合では、水溶性色素が肌に染み込んだり、汗で流れたりする問題が生じる。そこで、酸化鉄や酸化チタンなどの無機顔料や水やオイルに不溶な有機色素(顔料)の使用とともに、水溶性染料を不溶性としたレーキ顔料が用いられる。



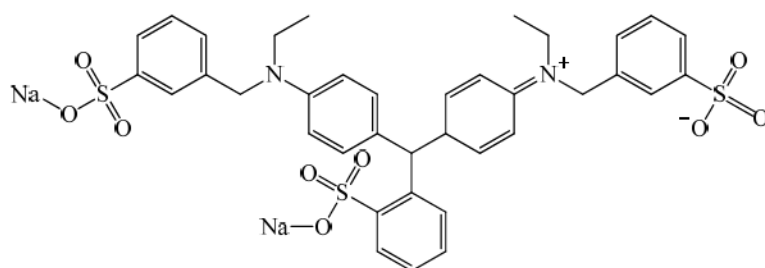
黄色 4 号

タートラジン



黄色 5 号

サンセットイエロー



青色 1 号

ブリリアントブルー

図 7 レーキ顔料に用いられる水溶性色素

化粧品で用いるレーキ顔料は、水溶性有機色素を(図 7)を、酸化アルミニウム、炭酸カルシウム、酸化チタン、硫酸バリウムなど水に溶けない粉末(体質顔料)に染め付け、不溶化させたものである。これは有機色素が無機担体(体質顔料)の表面に付着した有機無機複合材であるといえる。

これらの色材は水への溶出性が抑えられている他、色素が適度に凝集した状態となっていることから耐光性・耐熱性も高くなる。

1.4.2 有機色素被覆雲母チタン

雲母チタンは板状粉体である雲母(マイカ)に酸化チタンの薄膜を均一に被覆させたものである。雲母チタンはきらきらとした光沢を持ち、また酸化チタンの厚さにより、光の屈折率が変化し、紫、青、緑、黄、赤など色調を調製できる。雲母チタンの表面に有機色素を付着させ、粉体色およびは反射光により色味を付与することがおこなわれている(図 8、図 9)。有機色素を雲母チタンの表面に被覆すると、色素と雲母チタンを別個に製品に配合するよりも、明るく自然な仕上がりになるとされている[16]。コチニール色素(カルミン酸)で被覆した雲母チタンが色材として市販されている。また赤色 104 号や赤色 226 号や黄色 401 号で被覆した雲母チタンの化粧品への配合が報告されている[17, 18]。

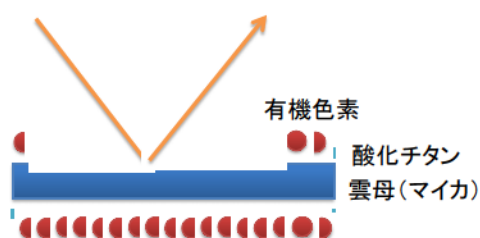
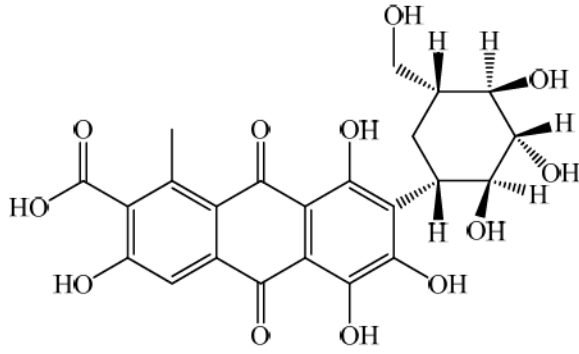
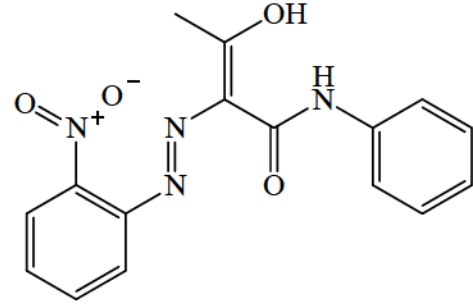


図 8 有機色素被覆雲母チタンのイメージ



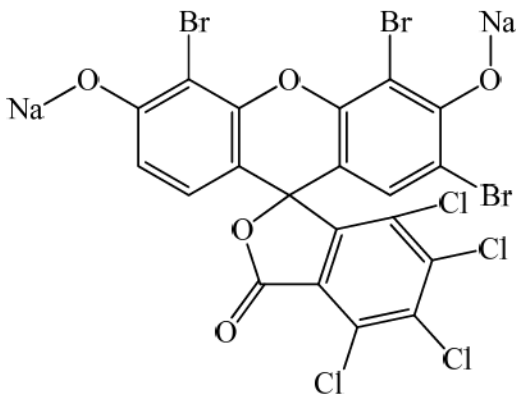
コチニール

カルシン酸



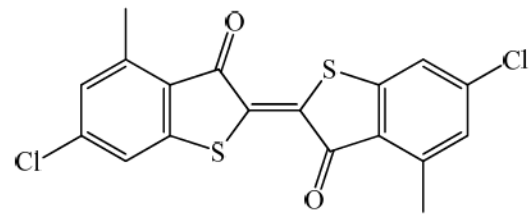
黄色 401 号

ハンサイエロー



赤色 104 号

フロキシシン B



赤色 226 号

ヘリンドンピンク CN

図 9 雲母チタンの表面被覆に用いられる色素

1.5 有機無機複合化に関する研究動向

1.5.1 無機ホストとしての層状粘土鉱物

粘土鉱物は層状の結晶構造を持ったケイ酸塩鉱物を主成分としている。雲母粘土鉱物、カオリン鉱物、スメクタイトが典型的な粘土鉱物である。

粘土鉱物は一般的に微粒であり、単位質量あたりの表面積が大きく、コロイド的な挙動を示す。また、表面には負あるいは正の電荷を持っているので、電荷を中和するために、反対電荷を持つ陽イオンあるいは陰イオンが吸着する。従って、粘土の大きな表面積と表面電荷により、脱色剤、触媒、有機・無機複合体などに利用されて

いる。

Si^{4+} は4個の O^{2-} に囲まれ、 SiO_4 の四面体を形成する。Si-O四面体が様々な形でつながり層状珪酸塩がつくられる。Si-O四面体が2次的に連続し、網状のつながりをしているものを四面体シートという。Al-Oが組み合い、八面体の網状のつながりを形成しているものを八面体シートという。両シートが1:1あるいは2:1層で組み合い、複合層がつくられ、それぞれの積み重なりにより、色々な層状珪酸塩の3次元構造が形成される。

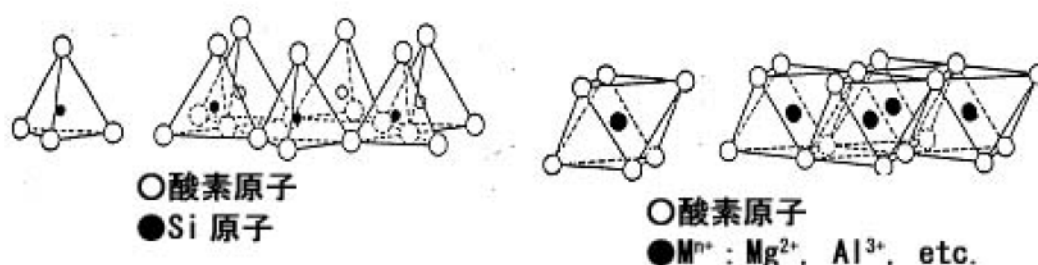


図 10 粘土鉱物の構造

四面体シートと八面体シートを形成する金属イオンは同じ配位構造をもつたの金属イオンに同形置換を起こす。八面体シート中の Al^{3+} が Mg^{2+} に置き換われば、層間の負の電荷が過剰となる。そこで層の全体の電荷のバランスを調整するため、結晶内の他の層間でこれを補い、 Na^+ や Ca^{2+} などの交換性陽イオンが取り込まれる。この陽イオンは容易に交換化能なので、カチオン交換サイトと呼ばれる。

1.5.2 カチオン性色素と層状粘土鉱物の複合化

モンモリロナイトは、2枚のケイ酸四面体シートが1枚のアルミナ八面体シートをサンドイッチ状に挟み複合層を形成した2:1構造を有しており、八面体シートのAlの一部がMgに置き換わることでカチオンが吸着する部位(カチオン交換サイト)が生じる。化学組成は、 $\text{Na}_{0.3}(\text{Al}, \text{Mg})_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ と表される[19]。天然の状態では Na^+ ,

K⁺, Ca²⁺などの無機カチオンが吸着しているが、イオン交換処理によってローダミン B やアントシアニン色素などのカチオン性色素におきかえることができる(図 12)。

モンモリロナイトはFeを含有しているため、外観が薄茶色を呈している。化粧品分野では広く利用されている代表的な粘土鉱物の一つである。モンモリロナイトの層間に吸着した色素は光や熱エネルギーによる分解をおこしにくく、また酸素などの攻撃も受けにくくなるため、安定性が向上する(図 13)[20]。

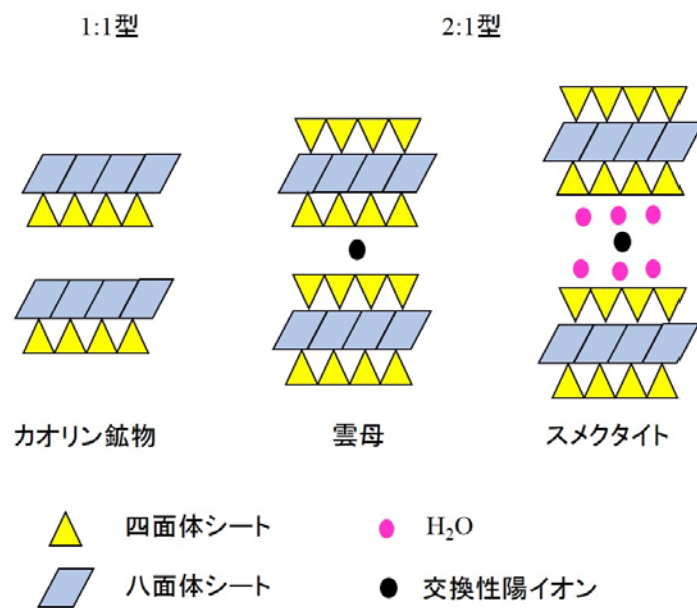
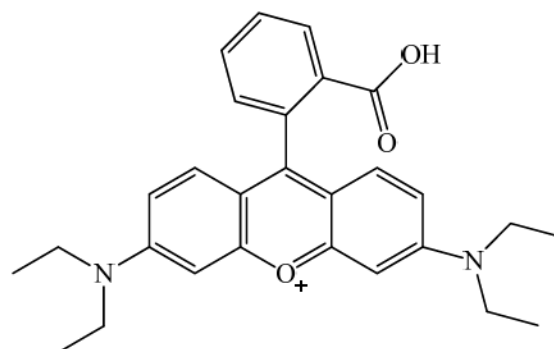


図 11 層状珪酸塩の構造模式図



ローダミン B

図 12 モンモリロナイトに吸着するカチオン性色素

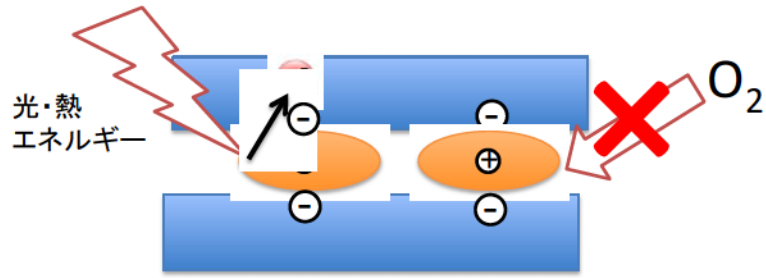


図 13 モンモリロナイト層間の色素のイメージ

モンモリロナイトと同様に四面体シート・八面体シート・四面体シート構造(2:1型)を有する粘土鉱物であるヘクトライトは、八面体シートが酸化マグネシウムを主体に形成されており、Mgの一部がLiに置き換わることでカチオンサイトが形成される。化学組成は、 $\text{Na}_{0.3}(\text{Mg}, \text{Li})_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ と表される[19]。ヘクトライトは合成品が市販されており、天然モンモリロナイトに比べて粒径が小さく、オイルや水に濡れたときの色も白色であることから複合色材用ホストとして適しているといえる。

1.5.3 アニオン性色素と陽イオン性層状鉱物の複合化研究

アニオン性色素であるコチニール色素(カルミン酸)はエンジムシから抽出し、赤色色素として利用されている。天然色素の中では光安定性が高いが、それでも可視光を長時間照射すると退色をおこす。層間や表面にアニオン交換サイトを有する層状鉱物である hidroタルサイトに吸着させることで複合色材とすると、ほとんど退色は起こらなくなる(図 15)と報告されている[21]。

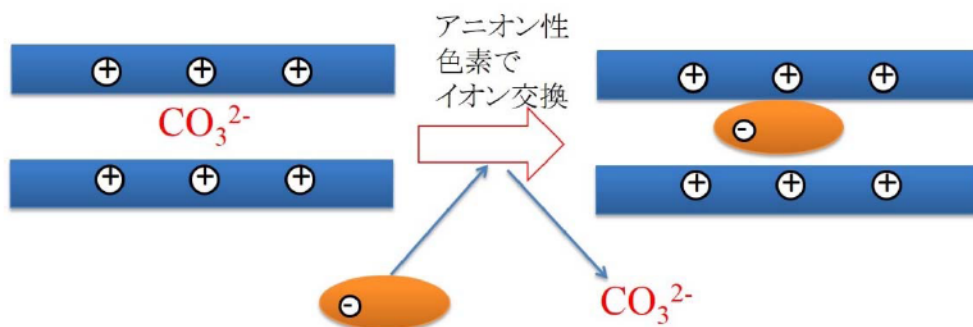


図 14 ハイドロタルサイトによるアニオン色素吸着のイメージ

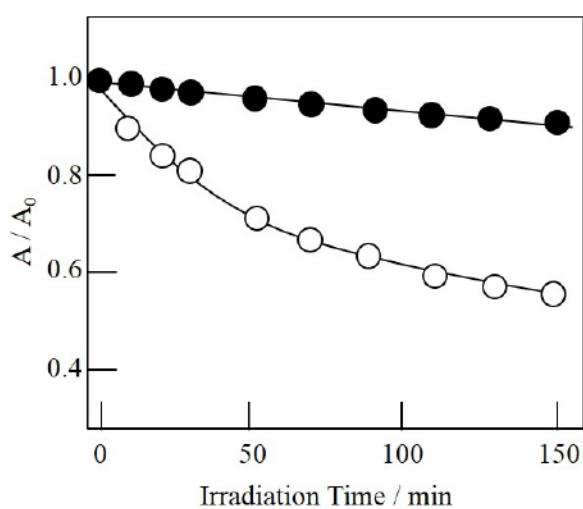


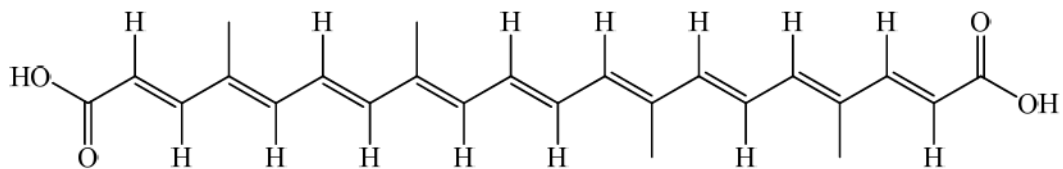
図 15 コチニール色素の光退色[21]

●:コチニール色素・ハイドロタルサイト複合色材

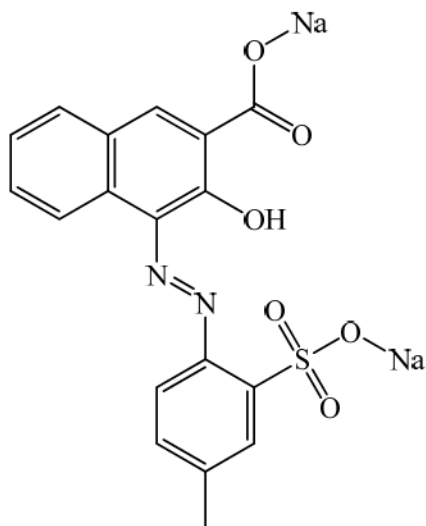
○:シリカゲルに担持したコチニール色素

1.5.4 アニオン性色素と層状粘土鉱物の複合化

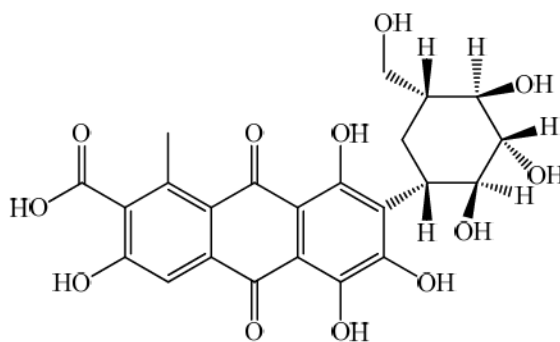
アナトー、赤色 210 号、カルシン酸などのアニオン性色素 (図 16) はハイドロタルサイトへの吸着は可能であるが、粘土鉱物 (モンモリロナイトやヘクトライト) のカチオン交換サイトに直接吸着させることが難しい。そこで、負電荷を持っている粘土鉱物进行处理することでアニオン性色素が吸着しやすい状態にする工夫がされている。



アナトー



赤色 210 号



カルシン酸

図 16 アニオン性色素

Ca²⁺、Ba²⁺、Zr⁴⁺などの多価カチオンで粘土鉱物のイオン交換を行い、カチオンをコネクターとしてアニオン性色素を吸着させて安定化させる技術(図 17)[22]や、キトサンのアミノ基を活用して、粘土層間へのキトサン吸着とキトサンへのアニオン性色素の吸着を行わせる方法が研究されている[23]。

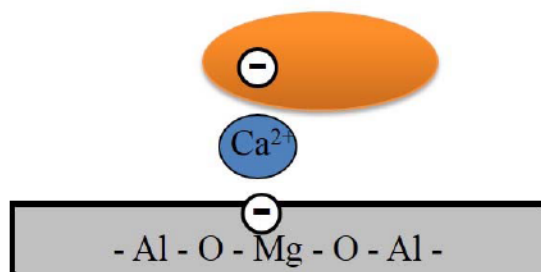


図 17 多価カチオン導入モンモリロナイトによるアニオン色素吸着のイメージ

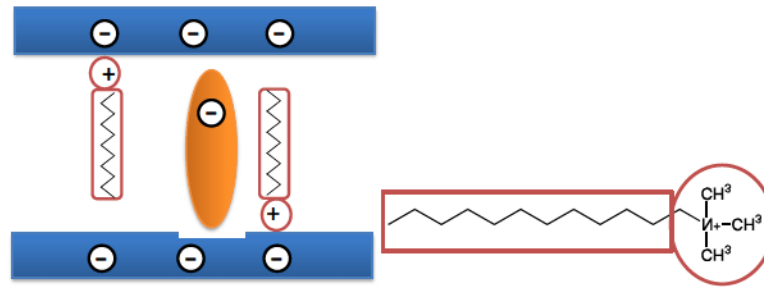


図 18 有機変性モンモリロナイトによる色素吸着のイメージ

また、カチオン性界面活性剤をイオン交換によって粘土鉱物の層間に吸着させることで有機変性し、有機色素は疎水性の高まった層間に吸着させる技術も報告されている。(図 18)[24]。この方法では、色素の電荷によらず多様な色素の吸着安定化が可能である[25]。

1.5.5 無機ホストとしてのメソポーラスシリカ

粘土鉱物をホストとして用いた複合色材の水ならびに油剤中での取り扱いのしにくさを克服する手法として、メソポーラスシリカと色素の複合化が試みられている。

メソ多孔体(メソポーラス物質)はマイクロ多孔体(ゼオライト)とマクロ多孔体(シリカゲルや多孔質ガラス)との中間といえる物質で、2~50 nm 細孔径を持つ。ゼオライトでは細孔径が小さすぎて吸着させることができない、色素や薬理物質、油脂などの大きな分子への応用が期待されている[26]。触媒反応、酵素や生理活性物質の固定化、薬品の持続放出、ドラッグデリバリーシステム (Drug Delivery System, DDS)などの応用が研究されている[27-30]。

メソポーラスシリカの合成にはケイ素源と構造形成のための界面活性剤(分子集合体を形成)が通常用いられる。界面活性剤やシリカ源の種類、pH などの合成条件により、様々なメソポーラスシリカが合成される(表 1)。

表 1 代表的なメソ多孔性シリカ[26]

| 記号 | 構造 | 界面活性剤 |
|--------|------------|------------------------|
| FSM-16 | 2d 六方構造 | C_nTMA^{*1} |
| MCM-41 | 六方構造 | C_nTMA |
| MCM-48 | 立方構造 | |
| MCM-50 | 層状構造 | |
| SBA-1 | 立方構造 | C_nTEA^{*1} |
| SBA-2 | 3d 六方構造 | $C_{n,s,m}^{*2} (m=1)$ |
| SBA-3 | 2d 六方構造 | $C_{n,s,m}^{*2} (n=m)$ |
| HMS | (disorder) | C_nA^{*1} |

*1 $C_nTMA: C_nH_{2n+1} (CH_3)_3N^+$, $C_nTEA: C_nH_{2n+1} (C_2H_5)_3N^+$

*2 $C_{n,s,m}$: ジェミニ界面活性剤($C_nH_{2n+1} (CH_3)_2N^+ (CH_2)_sN^+ (CH_3)_2C_mH_{2m+1}$)

この中で一般的なメソポーラスシリカは FSM-16 と MCM-41 である。FSM-16[26] は層状ケイ酸塩(カネマイト、 $NaHSi_2O_5 \cdot 3H_2O$)と界面活性剤(C_nTMA)を強塩基性条件で反応させると、ケイ酸塩シートが折れ曲がり、メソ細孔構造を形成する。

MCM-41[26]は、強塩基性の合成過程でケイ酸塩とカチオン性界面活性剤 C_nTMA が相互作用をすることで六方構造のメソ細孔を形成する(図 19)。本研究で目的とする材料としての利用では、FSM16 は粗大粒子が生成しやすいため好ましくない。一方、粒径が細かく水や油剤への分散性が良好な点で MCM-41 は好ましいメソポーラスシリカであるといえる。

HMS は、非イオン性界面活性剤(アルキルアミン)を使用して中性条件で合成される。そのため合成後の洗浄などの操作が容易な点が好ましい。また他のメソポーラスシリカのような直線上の細孔ではなく、虫食い穴(wormhole)構造の細孔を有する。本研究では MCM-41 と HMS を用いた。

メソポーラスシリカの骨格のケイ素の一部を他の金属原子に置き換えることで、細孔内の酸性質やイオン交換能を変化させることができる[31-36]。金属としてはアルミニウムが最も多く研究されている。骨格内に導入できる Al 量は合成方法や Al 源の使用により異なる。シリカ骨格の一部を 4 価のケイ素から 3 価のアルミニウムに置き換えた Al 含有メソポーラスシリカでは、電荷バランスをとるためにカチオン交換サイトが細孔内に形成される。そのため粘土鉱物と同様な機構によるカチオン性色素の安定化作用が期待できる。

メソポーラスシリカでは合成に用いる界面活性剤のアルキル鎖長を変化させることで細孔径を比較的自由に操作できる。サイズとしては 2~5 nm で安定に均一細孔を形成できる。そのため色素分子の大きさにあわせた細孔径のメソポーラスシリカを用いることで細孔内吸着による高い包接効果が期待できる(図 20)。

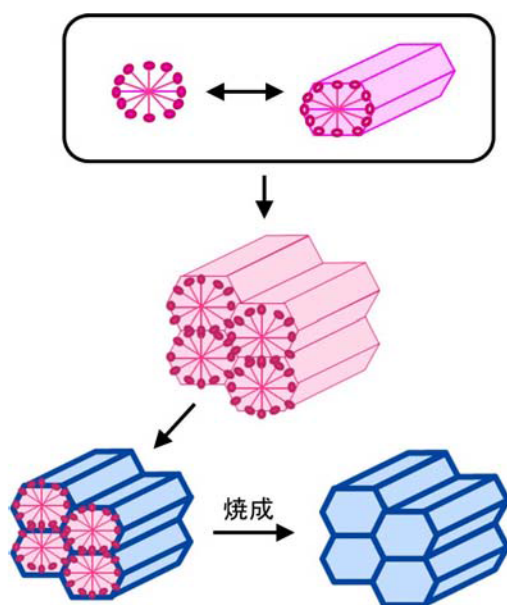


図 19 MCM-41 の生成

- 規則的なナノ細孔を有する
円筒状シリケート
細孔径3~5 nm
- 細孔内に分子を吸着
- 高い表面積500~1000 m²/g
- 各種金属を骨格に置換可能
→ 主な用途は触媒

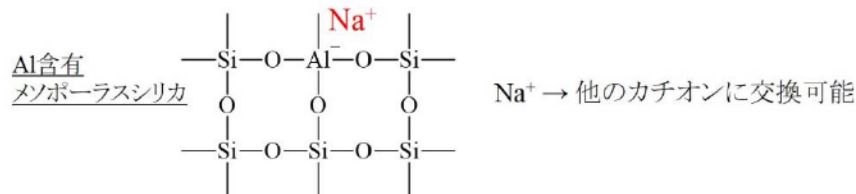
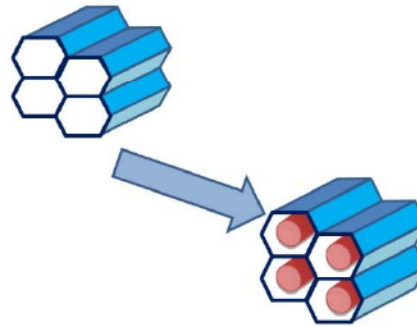


図 20 メソポーラスシリカへの色素の導入イメージ

クロロフィルやレーザー色素などの色素を細孔内に吸着させるとナノ細孔スペースという特殊場により、各種の特異な光化学的性能を発現することが報告されている [37, 38]。

1.5.6 合成色素(アニオン性)とメソポーラスシリカの複合化の研究

メソポーラスシリカに色素を吸着させることによる安定化の研究は、化粧品色素である赤色 201 号(リゾールルビン)を用いて初めておこなわれた[39, 40]。粘土鉱物での同様の処理と同じく、アニオン性色素である赤色 201 号とメソポーラスシリカとの複合化は Ca²⁺イオンをコネクターとする方法で可能である(図 21)。

Al を含有させることによる細孔内にカチオン交換サイトを持っているメソポーラスシリカを用いて、イオン交換法により Ca²⁺を導入する方法で Ca イオン交換メソポーラスシリカを調製し、これに赤色 201 号色素を吸着させると、色素の水溶出が抑制され、耐光性もある程度の改善がみられる(図 22、23)。

イオン交換(一般的)

合成時にカルシウムイオンをドーブ

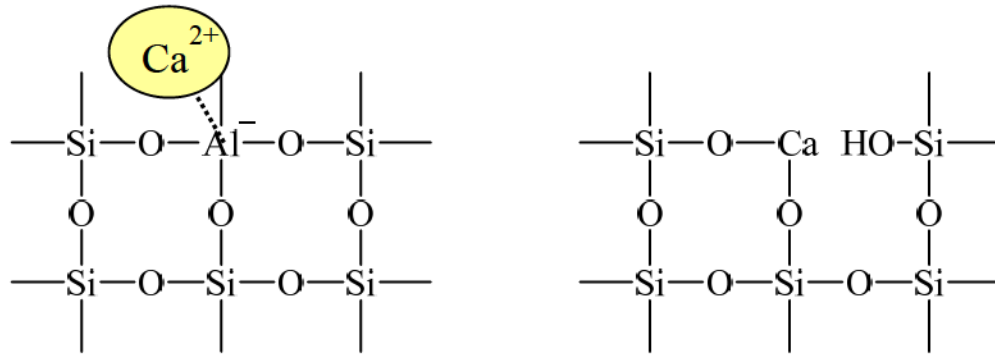


図 21 メソポーラスシリカへの Ca 導入方法

左:Ca イオン交換メソポーラスシリカ

右:Ca 含有メソポーラスシリカ

一方、カルシウム塩を共存させた条件でメソポーラスシリカの合成段階で Ca イオンを導入したメソポーラスシリカ(Ca 含有メソポーラスシリカ)に色素を吸着させると、イオン交換法の場合に比較して耐溶出性、耐光性とも飛躍的に向上する。

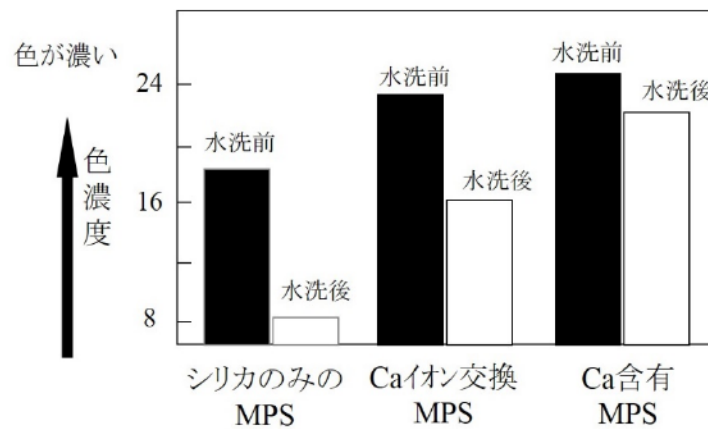


図 22 水洗による複合色材の色変化[39, 40]

MPS:メソポーラスシリカ

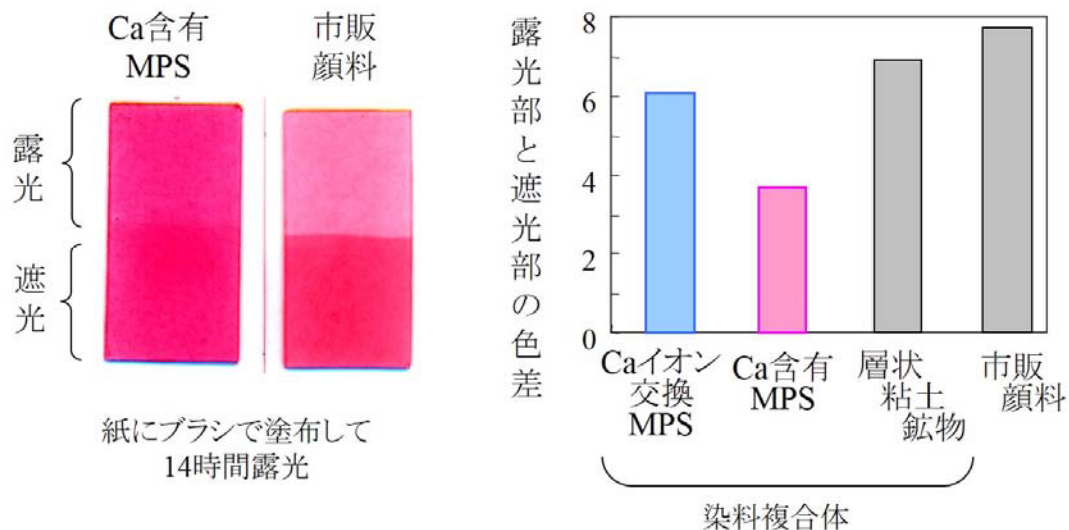


図 23 複合色材の耐光性[39, 40]

また、メソポーラスシリカをホストとして用いた複合色材は水、油などの分散媒への分散性が良好で、粘土鉱物の場合のように界面活性剤などの分散剤を添加しなくても高い分散性を呈する。(図 24)。これは色素ホストとしてのメソポーラスシリカの一つの優位性であるといえる。

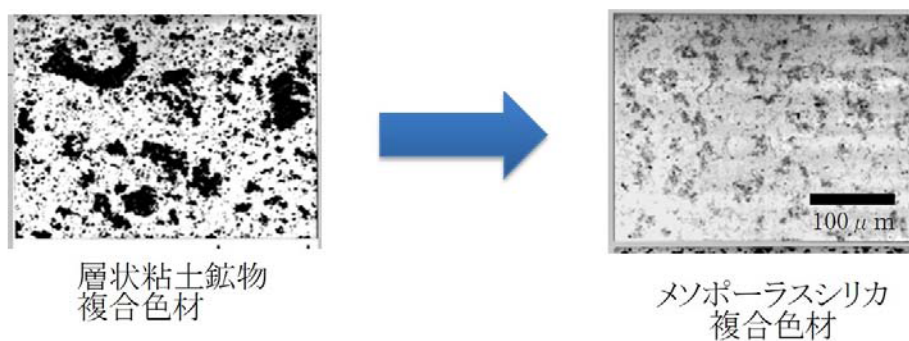


図 24 モンモリロナイト複合色材とメソポーラスシリカ複合色材の
オイル中での分散性比較(顕微鏡写真)

1.5.6 合成色素(カチオン性色素)とメソポーラスシリカの複合化の研究

天然色素であるアントシアニン色素と同様な骨格を持つため、環境に優しい合成

色素として知られるフラビリウム色素(ヒドロキシメトキシカルコン)はカチオン性色素であるため、Al や Fe を含有することでカチオン交換サイトを持っているメソポーラスシリカに吸着する[41]。フラビリウム色素は pH の高い溶液中では退色をおこしやすいが、無機ホストとの複合化することにより、光および熱安定性が高くなる。

また弱酸性水溶液中でのみフラビリウム色素は安定し、紫外線照射することで無色のカルコン型と黄色のフラビリウムイオン型との間で可逆色変化(フォトクロミズム性)を発現する。メソポーラスシリカをホストとして、フラビリウム色素と複合化することで、色素はドライ状態でも、フォトクロミズム性を有することができる[42]。

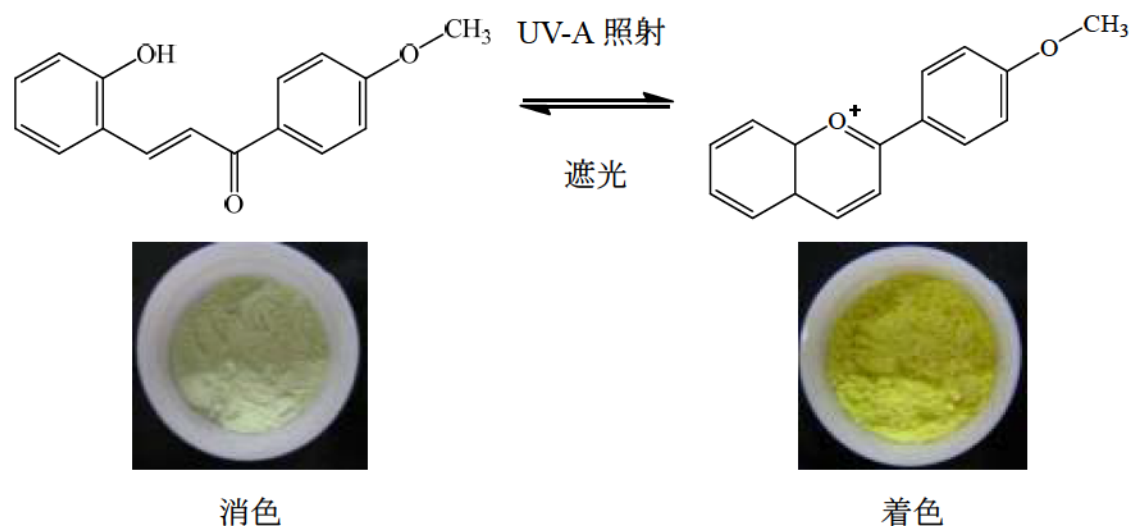


図 25 フラビリウム色素・メソポーラスシリカ複合色材のフォトクロミズム

1.6 本論文の目的

本研究では、安定性の低い天然色素の代表としてアントシアニン色素とフィコエリスリン色素を用いて、1) 天然色素の発色の向上、2) 光や熱退色の抑制、3) 水やエタノールへの溶出性の改善などを目的として研究を行った。

第 2 章では、アントシアニン色素と、最も一般的なメソポーラスシリカである MCM-41 型メソポーラスシリカ(強塩基性条件で合成)を複合化させるための検討をおこなっ

た。

これまでアントシアニン色素と粘土鉱物の複合化研究がおこなわれたが、粘土鉱物は水分でのペースト化する問題が伴い実用性が低い。そこで本研究では、複合化による最適な無機担体や複合条件を調べた。金属を含有させたメソポーラスシリカを用い、天然アントシアニン色素と複合化させることで、安定性の高い、明るい色相の色素粉体を得ることを目標に検討をおこなった。

第3章ではアントシアニン色素と中性状態で合成するHMS型メソポーラスシリカを複合化させるための検討をおこなった。

MCM-41の合成は強塩基性でおこなわれるため、合成後、イオン交換水で中性付近まで洗浄することが必要であり作業に長時間を要する。また、残存する多量のカチオンの色素への悪影響も懸念される。本章では、中性状態で合成すること及び簡便な合成方法という特徴を持っているHMSを用い、アントシアニン色素の安定化について検討した。

第4章では藻類由来フィコエリスリン色素を用い、粘土鉱物との複合化を行った。

フィコエリスリン色素は光や熱に対する安定性が低いため、工業用色材としての応用が困難である。この色素に対しては、複合化による安定性の向上の研究はほとんどされていない。そこで本研究では、まずはじめに担体として最も基本的な層状粘土鉱物を用いて検討をおこなった。

層状粘土鉱物としては、スメクタイト族に分類されるモンモリロナイトと合成ヘクトライトを担体とした。これらと複合化することで、フィコエリスリンが蛍光発色をする色材となり、かつ光や熱に安定性が向上するかの確認をおこなった。

第5章では多孔質シリカを無機担体として、フィコエリスリン色素との複合化技術の検討をおこなった。

粘土鉱物は水分が加えると膨潤してペースト状に変化する性質があり、色材としての応用が困難である。本章では、膨潤性の欠点を克服するため、膨潤しなく水に

分散しやすい多孔質シリカを用い、フィコエリスリン色素の複合化について最適な条件を調べた。

以上の結果を踏まえ、第6章では本研究の総括をおこなった。

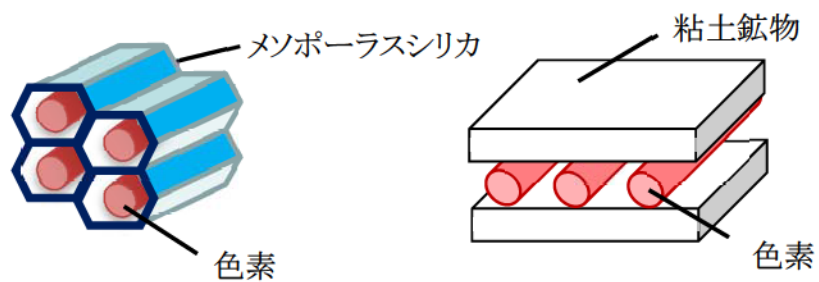


図 26 色素と無機担体の複合化モデル図

第 2 章 ぶどう果皮色素と MCM-41 型メソポーラスシリカの複合体

2.1 緒言

アントシアニン色素は、鮮やかな色や豊富な色相などが魅力的であり[4]、また安全性が高く、環境にも優しいとされている。しかしながら、色材としての実用の際には、光に対する安定性の低さや水などに溶出する点において課題がある。

本章ではアントシアニン色素を疎水化処理することで、ナノ細孔を持つ MCM-41 型メソポーラスシリカと複合化し、得られた複合体の耐光性および溶出性について検討した。

2.2 実験

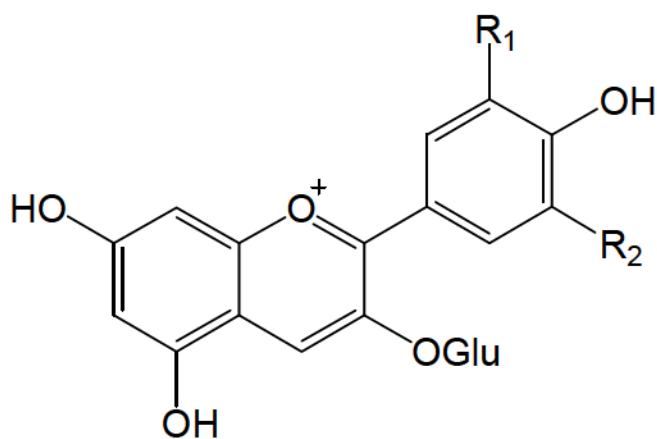
2.2.1 色素の調製

アントシアニン色素(AN 色素)源としては、ぶどう果皮より抽出した市販色素「グレープカラー BC-120 (キリヤ化学株式会社)」を用いた。この色素中のアントシアニン色素の構成はの通りである。(HPLC で分析、未発表データ)

AN 色素 1.5g に 2N 塩酸(和光製試薬一級)40 mL 加え、超音波洗浄機(AS ONE, VS-D100)に 10 分かけたあと、濃塩酸(和光製試薬一級)10 mL を加えた。これを超音波洗浄機に 20 分かき、溶解しなかった沈殿物はろ過(ろ紙は ADVANTEC 製 No.5C を使用)によって除去した。ろ液を攪拌しながら 90°C で 2 時間還流した。還流後、冷却した溶液は分液ロートに移してイソアミルアルコール(和光製試薬特級)を 40 mL 加えて振り、水層と有機溶媒層に分離させ、水層は除去した。残った有機溶媒層に水 40 mL を加えて振り、水層を除去するという操作を 3 回繰り返したのち、溶液は 5000 rpm で 15 分間遠心分離させた。遠心分離により得た上澄みをエバポレー

タで減圧条件下 70°Cで乾燥させ、アントシアニン色素(AD 色素)を得た。

表 2 ぶどう果皮色素の組成



| 化合物 | 置換基 | | 含有率 (%) |
|-------------------------|----------------|----------------|---------|
| | R ₁ | R ₂ | |
| Maleidin-3-glucoside | OMe | OMe | 49 |
| Peonidin-3-glucoside | OMe | H | 20 |
| Petunidin-3-glucoside | OMe | OH | 15 |
| Delphinidin-3-glucoside | OH | OH | 13 |
| Cyanidin-3-glucoside | OH | H | 3 |

2.2.2 MCM-41 型メソポーラスシリカの合成

Al 含有および金属非含有の MCM-41 タイプメソポーラスシリカの合成にはシリカ源としてオルトケイ酸テトラエチル(TEOS、東京化成)、アルミ源としてアルミン酸ナトリウム(和光純薬)、界面活性剤としてヘキサデシルトリメチルアンモニウム(C16TMABr、和光純薬)を用いた。

200 mL プラスチックビーカーに C16TMABr 2.66 g 及びアルミン酸ナトリウムをは

かりとり、イオン交換水 44.29 g を入れ、40℃のウォーターバス中で 30 分攪拌して完全溶解させ、その後 29℃まで温度を下げた。この温度を維持しながら、水酸化ナトリウム 0.58 g をイオン交換水 6.3 g に溶解させた水溶液、及び TEOS 10.29 g を、攪拌している C16TMABr 水溶液中に少量ずつ交互に 15 分程度かけて添加し、更に 2 時間攪拌した。攪拌後、混合液をテフロン製耐圧容器に移して密閉し、電気恒温槽中で 140℃、48 時間の水熱処理を行った。耐熱容器内の内容物を 500 mL ビーカーに取り出し、500 mL のイオン交換水と混合しては吸引濾過をする(ろ紙は全て桐山ろ紙 No.5B を使用)という洗浄操作を行った。濾液が pH=8 になるまで洗浄操作を繰り返した。その後、ろ紙保留物をシャーレにとり、ブロックヒータを用いて大気中で 90℃、12 時間乾燥させた。得られた乾燥粉末をめのう乳鉢ですりつぶした。焼成はガス置換型電気炉にて 600℃、6 時間 (空気流通条件、昇温速度 10℃/min)おこない、得られた試料をめのう乳鉢で再度すりつぶした。

以降、合成した Al 含有メソポーラスシリカを Al(0.01)-MCM-41 と表記する。また、Al などの金属を含有させずに合成した MCM-41 を mf-MCM-41 と表記する。()内の数字は Si に対する Al の物質質量比で、本実験では Al/Si=0.01, 0.03, 0.05 の 3 種類のメソポーラスシリカを作製した。

Fe 含有 MCM-41 は、上記合成方法で金属塩を硝酸鉄などに変更するだけでは Fe が MCM-41 内には取り込まれない。したがって、鉄アセチルアセトナートを用いる私たちのオリジナルの合成方法で合成をおこなった。Fe/Si=0.01, 0.03, 0.05 となる量のアセチルアセトナート鉄(III) (Fe(acac)₃、東京化成)を TEOS と混合した。その後、この混合物と、NaOH 水溶液を C16TMABr を含有する溶液に加えた。残りの手順は、Al-MCM-41 の場合と同様にした。

比較として用いるシリカゲル(SiO₂ と表記)は、以下のように調製した。500 mL プラスチックビーカーに硝酸 4.60 g とイオン交換水 46.0 g と混合した。TEOS 37.24 g をはかりとり、スターラーで攪拌している硝酸水溶液中に 15 分程度かけて添加したのち、更に 30 分攪拌した。その後、生成した SiO₂ をシャーレにとり、ブロックヒータを用いて大気中で 90℃、12 時間乾燥させた。得られた乾燥粉末をめのう乳鉢ですりつぶした。焼成はガス置換型電気炉にて 600℃、2 時間 (空気流通、昇温速度 10℃/min)おこ

ない、得られた試料をめのう乳鉢で再度すりつぶした。

得た粉体は 500 mL のイオン交換水と混合しては吸引濾過をするという洗浄操作を行った。濾液が pH=8 になるまで洗浄操作を繰り返した。その後、ろ紙保留物をシャーレにとり、ブロックヒータを用いて大気中で 90°C、12 時間乾燥させた。

Al 含有シリカゲル(Al-SIO)は、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 0.44g (和光純薬)を硝酸水溶液に添加した上で SIO と同様の方法で調製した。得られた SIO と Al-SIO の表面積は、589 と 344 m^2/g であった。

2.2.3 複合体の調製

100 mL エタノールに 0.02 g の AD 色素を入れ、室温で完全溶解させた。これに 0.2 g メソポーラスシリカを入れ、超音波洗浄機(AS ONE, VS-D100、24kHz・31kHz の複合周波)で 5 分間分散を行い、その後、5°C の電気恒温槽中に暗所静置した。24 時間後、吸引濾過を行ってろ液と粉体を分離させ、粉体はシャーレにとり、減圧乾燥機にて室温で 2 時間乾燥させた。

AN 色素の複合体調製では、AN 色素を 100 mL イオン交換水に溶解し、AD 色素と MCM-41 の複合体と同様の方法に従って調製した。

MCM-41 上に吸着した色素の量は、吸着操作前後の色素溶液の UV-Vis 吸光スペクトルの吸光度変化から算出した。なお吸着等温線の測定では、最大 36 時間まで吸着操作を行った。

2.2.5 メソポーラスシリカの特性

窒素吸着測定には自動比表面積/細孔分布測定装置 TriStar3000(島津製作所)を用い、液体窒素温度での多点法で測定した。表面積は BET 法 (Brunner-Emmett-Teller)により算出した。細孔サイズおよび細孔容積は脱着曲線から BJH 法(Barrett-Joyner-Halenda)により計算した。

イオンコーターで試料表面にカーボン蒸着をした後、走査電子顕微鏡

(SEM)(JEOL JSM-6060LV)を用いて試料の形状を観察した。化学分析は、SEMに備えつけられた EDS (energy-dispersive X-ray spectroscopy)装置により行った。

溶液の UV-Vis 吸光スペクトルは分光光度計(JASCO V-650)を用いて測定した。また粉体の UV-Vis 拡散反射スペクトルは積分球(JASCO ISV-722)装置を装着して分光光度計(JASCO V-650)で測定した。なお UV-Vis 拡散反射スペクトルは粉体の吸光度で表示した。

2.2.4 安定性試験

耐光性試験の光源には、100 W ハロゲンランプ(Schott Megalight 100)を用いた。複合体試料を UV-Vis 拡散反射スペクトル測定用粉体セルに入れ、粉体セルの直上より照度 $E=190$ klx で可視光を照射した。照度は、照度計(LIGHT METER、AS ONE LM332)で調整した。試料に対し、室温で 10 時間照射し、規定時間毎に粉体の UV-Vis 拡散反射吸光スペクトルを測定し、最大吸光度の変化から複合体の色変化(退色)を評価した。

比較試料は AN 色素を乾燥法で金属非含有 MCM-41 の表面に付着したものをを用いた。AN 色素を水に溶解し、MCM-41 と色素水溶液を混合し、常温、減圧下で乾燥させることにより調製した。色素水溶液中の色素と MCM-41 の重量比は、AD 色素/Al-MCM-41 複合体と同じになるように調整した。

溶出性試験は以下のようにおこなった。0.005 g 複合体試料を 10 mL のイオン交換水、エタノールまたは流動パラフィンに入れ、超音波を 5 分間かけ、その後、室温暗所で保存した。7 日後、上澄みの UV-Vis 吸光スペクトルを測定し、吸光度から色素溶出量を算出した。

2.3 結果及び考察

2.3.1 MCM-41 へのアントシアニン色素及びアントシアニン色素の吸着

我々の最初の目的は、鮮やかな色の粉体を得ることである。従って、まず MCM-41 の細孔への色素の効率的な吸着の最適条件について検討した。

窒素吸着測定により測定した、合成したメソポーラスシリカの表面積及び細孔径に示した。金属含有量が増えるに従って、メソポーラスシリカの表面積が減少した。いずれの試料も 2.8 nm の均一なメソ細孔と 780 m²/g 以上の大きな表面積を有しており、メソポーラス試料として使用可能であることが確認された。そこでこれらの試料と色素の複合化の検討をおこなった。

得られた複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルの最大吸光度(I_{max})を、色の濃さの指標として表 4 に示した。I_{max} が大きいほど複合体は濃い赤色であることを示す。

表 3 合成したメソポーラスシリカ的特性

| Code | BET Surface Area / m ² /g | Pore Diameter / nm | Al or Fe/Si molar ratio (product) |
|----------------------|--------------------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| mf-MCM-41 (金属非含有) | 1163 | 2.9 | — |
| Al(0.01)-MCM-41 | 1149 | 2.8 | 0.01 |
| Al(0.03)- MCM-41 | 1107 | 2.9 | 0.035 |
| Al(0.05)- MCM-41 | 1026 | 2.8 | 0.042 |
| Fe(0.01)- MCM-41 | 1038 | 2.9 | 0.007 |
| Fe(0.03)- MCM-41 | 955 | 2.9 | 0.04 |
| Fe(0.05)-MCM-41 | 784 | 2.9 | 0.045 |

はじめに、金属を含まない MCM-41 型メソポーラスシリカまたは Al を含有した MCM-41 (Al/Si=0.01) をアントシアニン色素 (AN 色素) のメタノール溶液と混合静置した。得られた粉体(複合体)ほとんど着色しておらず、 I_{\max} は 0.11 以下であった。

アントシアニンと類似の構造を有する合成フラビリウム色素(2-ヒドロキシ 4'-メキシカルコン)は MCM-41 に容易に吸着する[42]。合成フラビリウム色素と AN 色素が大きく異なる点は、AN 色素では C 環の 3'-OH に糖鎖が結合している(グルコシド)ことである。このことから、糖鎖の存在で AN 色素は親水性となり、MCM-41 へと吸着しにくくなっていることが推察された。加水分解によって糖鎖を除去した色素(アントシアニン色素、AD 色素)をエタノールに溶解し、これと金属を含有しない mf-MCM-41 とを共存させても、AN 色素と同様にほとんど着色はしなかった。しかしながら Al 含有 MCM-41 を用いて色素溶液と混合すると、期待通りに赤色の複合体 ($I_{\max} = 0.31$) が得られた。

糖鎖を除去する効果は、分子を疎水化するだけでなく、色素分子サイズを小さくする点もある。この点も、色素の細孔への吸着に有利にはたらくと予想される。ただし今回調製した MCM-41 の細孔サイズは 2.9 nm であり、AD 色素の分子サイズが約 1.2 nm 程度であるので、色素分子のサイズが小さくなった効果は限定的であると我々は考えている。

MCM-41 のもつメソ細孔の効果を確認するために、比較として不均一細孔を有する Al 含有シリカゲル(Al-SiO)を用いて、色素との複合化をおこなった。Al 含有によって着色はしたものの、 I_{\max} 値は Al-MCM-41 と比べてはるかに小さかった。MCM-41 の有する大きな表面積や均質ナノ細孔が有利に働いたと考えられ、MCM-41 の色素担体としてのポテンシャルの高さが確認された。

以上のように、糖鎖を除去した色素(AD 色素)を用いることと MCM-41 に Al を含有させることが、着色した複合体をえるための必要条件であることが明らかになったので、以降これらの系を用いて検討を進めた。

表 4 複合体の着色度(最大吸光度 I_{max})

| 担体 | アントシアニン色素 (AN 色素) | アントシアニン色素 (AD 色素) |
|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| シリカゲル(SIO) | 0.06 | 0.08 |
| Al 含有シリカゲル(Al-SIO) | 0.04 | 0.22 |
| 金属非含有メソポーラスシリカ (mf-MCM-41) | 0.09 | 0.03 |
| Al 含有メソポーラスシリカ Al(0.01)-MCM-41 | 0.11 | 0.31 |



図 27 AN 色素と MCM-41 の複合体の外観

(左):mf-MCM-41、(右):Al(0.01)-MCM-41



図 28 AD 色素と MCM-41 の複合体の外観

(左):mf-MCM-41、(右):Al(0.01)-MCM-41

2.3.2 アントシアニン色素と Al 含有 MCM-41 の吸着挙動

AD 色素と MCM-41 の複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルを図 29 に示した。mf-MCM-41 はほとんど AD 色素を吸着せず、可視および紫外線領域に明確な吸収は観察されなかった。これとは対照的に、AD 色素/Al-MCM-41 複合体は 538 nm に明瞭なピークを示した。AD 色素のエタノール溶液の最大吸収波長は 553 nm でピークなので、AD 色素/Al-MCM-41 複合体は赤色シフトを示しており、これは色素と AlMCM-41 との相互作用を示唆している。

色素が Al-MCM-41 に良好な吸着を示したのに対し、mf-MCM-41 はほとんど AD 色素を吸着しなかった理由として、最も可能性のあるメカニズムは、AD 色素(正電荷を有するカチオン性色素)とシリカ骨格中の Al により形成されたカチオン交換サイト(負電荷を有する)との間の静電相互作用による吸着である。

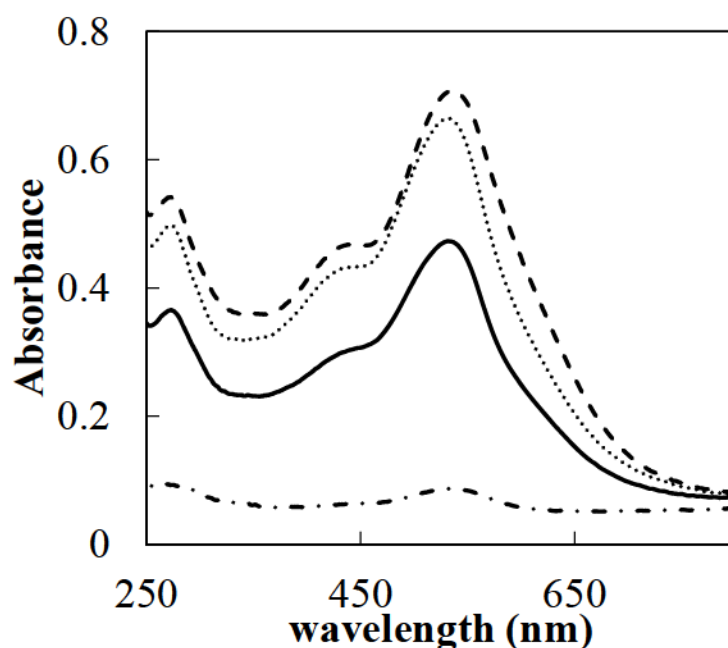


図 29 AD 色素/Al-MCM-41 複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル

実線: AD 色素/Al(0.01)-MCM-41 複合体、

点線: AD 色素/Al(0.03)-MCM-41 複合体、

破線: AD 色素/Al(0.05)-MCM-41 複合体、点破線: AD 色素/mf-MCM-41 複合体



図 30 AD 色素/Al(0.01)-MCM-41 複合体の外観

図 31 に経時(36 時間、5°C)による、Al(0.01)-MCM-41 への色素吸着量の変化を示した。5°Cでの静置によって、30 分程度まで急速に吸着がおこり、この段階での色素量は Al-MCM-41 に対して重量比で 1.5%であった。30 分後は、吸着速度が遅くなり、吸着量は 36 時間まで徐々に増加し続けた。36 時間後、複合体中の色素の量は 3.0 wt%であった。Al(0.01)-MCM-41 中の Al 含有量(Al/Si モル比 0.0019)と吸着した AD 色素の物質量の比率を計算すると、色素/Al モル比は 0.19 であり、含有されている Al の 2 割程度に AD 色素が吸着していることになる。

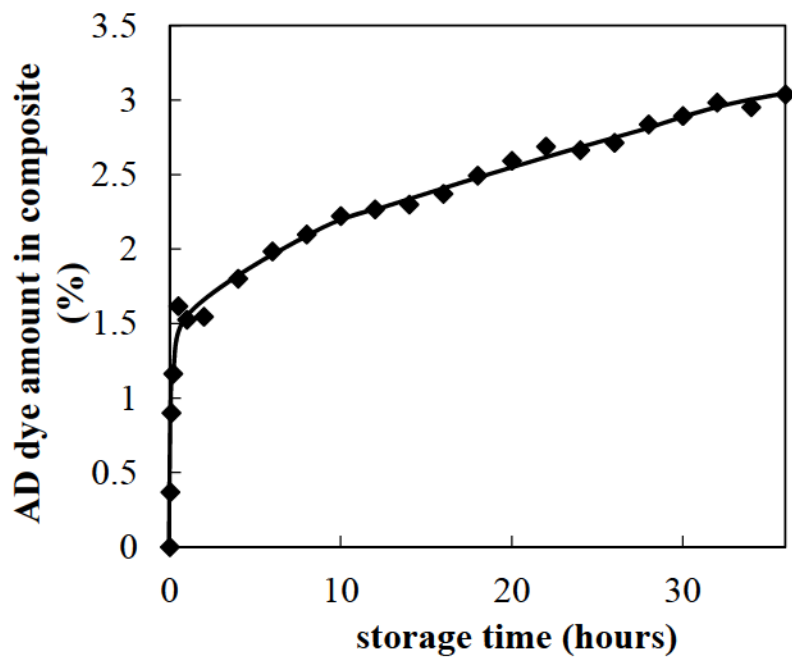


図 31 Al(0.01)-MCM-41 に対する AD 色素の吸着挙動

表 5 Al-MCM-41 への AD 色素吸着量

| | AD dye amount in composite (wt%) | Adsorbed AD dye/ all AD dye in the initial solution (wt%) |
|-----------------|----------------------------------|---|
| Al(0.01)-MCM-41 | 2.7 | 19.5 |
| Al(0.03)-MCM-41 | 3.4 | 23.8 |
| Al(0.05)-MCM-41 | 4.3 | 30.6 |

Al の含有量の異なる Al-MCM-41 を用いて 24 時間吸着処理を行った時の色素の吸着量を表 5 に示した。Al(0.01)-MCM-41 では 2.7% であった吸着量は、Al 含有量の増加と共に増加し、Al(0.05)-MCM-41 では 4.3% に達した。複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルの吸光ピークも Al 含有量の増加とともに増加した。

2.3.3 アントシアニン色素と Fe 含有メソポーラスシリカの吸着挙動

Al^{3+} はメソポーラスシリカの骨格内にカチオン交換サイトを形成することが報告されていて[43]、我々はこのカチオン交換サイトにカチオン性である AD 色素が吸着するものと考えている。一方、 Fe^{3+} も Al^{3+} と同様にシリカフレームワークに同型置換をすることで、カチオン交換サイトを生じることが知られている[31, 32]。そこで Fe を含有させた MCM-41 を合成し、AD 色素の吸着挙動を調べた。

本研究では、 $Fe(acac)_3$ を鉄源として、鉄含有 MCM-41 を合成した。この方法を用いると、一般的な Fe 源である硝酸鉄(III)に比べて Fe がシリカフレームワークに導入されやすい。

MCM-41 のシリカネットワークに導入されなかった Fe は、焼成後に Fe_2O_3 に変化する。このような Fe-MCM-41 の表面上または細孔中に存在している Fe(6 配位状態)は可視光領域の 420 nm に吸収を示し、赤茶色を呈する。一方、Fe がフレームワーク

中に存在している場合(4 配位状態)は紫外線領域の 220 nm 及び 260 nm に吸収を示す。これらのピーク強度によって Fe の存在状態の解析が可能である。図 32 に Fe-MCM-41 の UV-Vis 拡散反射スペクトルを示した。Fe(0.01)-MCM-41 では 200-300 nm に吸収帯があり、大部分の Fe が 4 配位状態であることを示した。実際、Fe(0.01)-MCM-41 粉末の外観は白色であった。鉄の含有量が増えるに従って 200-300 nm に吸収帯の吸収強度は向上したが、同時に可視光の吸収も増加した。外観もアイボリー色へと変化し、一部の Fe はフレームワークに取り込まれていないことを示唆した。

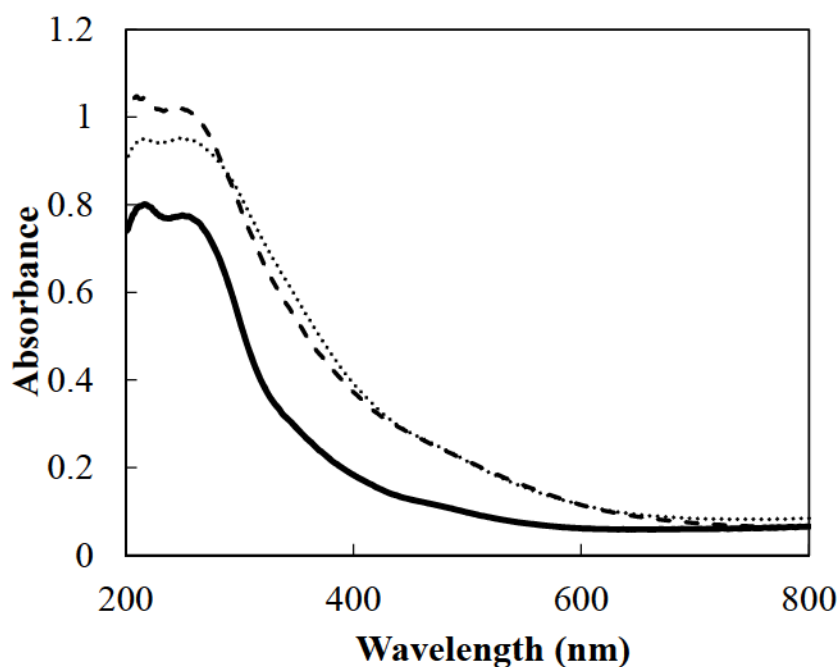


図 32 Fe-MCM-41 の UV-Vis 拡散反射スペクトル

実線:Fe(0.01)-MCM-41、点線:Fe(0.03)-MCM-41、

破線:Fe(0.05)-MCM-41

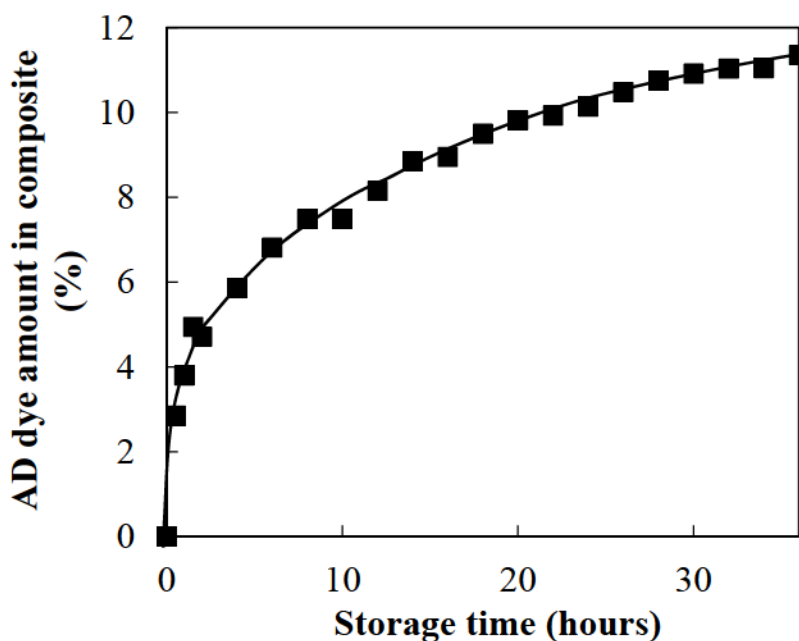


図 33 Fe(0.01)-MCM-41 に対する AD 色素の吸着挙動

経時による、Fe 含有メソポーラスシリカへの色素の吸着量変化を図 33 に示した。5°Cでの静置によって、30 分程度まで急速に吸着し、この時の色素量は Fe(0.01)-MCM-41 に対して重量比で 5%であった。36 時間後、吸着量は 11.5%に達し、これは Al の場合の約 3.8 倍であった。MCM-41 中の Fe 量は Fe/Si=0.007 なので、AD 色素/Fe のモル比は 0.28 となり、含有されている Fe の 3 割程度に AD 色素が吸着していることになる。

AD 色素が、Al-MCM-41 より Fe-MCM-41 により多く吸着した理由はまだ解明されていない。仮説の一つとして、Fe に比べ、Al はフレームワークからの脱離しやすい、あるいは格子欠陥を作りやすいのではないかと考えられる。後述の錯体形成能も吸着量の増大に関与している可能性がある。

Al-MCM-41 と Fe-MCM-41 複合体のもう一つの大きな違いは、その外観色であった。AD 色素/Fe-MCM-41 複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルを図 35 に示した。最大吸収ピーク位置は AD 色素溶液の 553 nm、Al-MCM-41 との複合体の 532 nm

から、560 nm へとシフトし、粉体は青色であった。ピークの形状は Al 含有メソポーラスの複合体よりもブロード化した。これは色素がより凝集した状態であることを示唆している。



図 34 AD 色素/Fe-MCM-41 複合体の外観

(左):Fe(0.01)-MCM-41、(中):Fe(0.03)-MCM-41、(右):Fe(0.05)-MCM-41

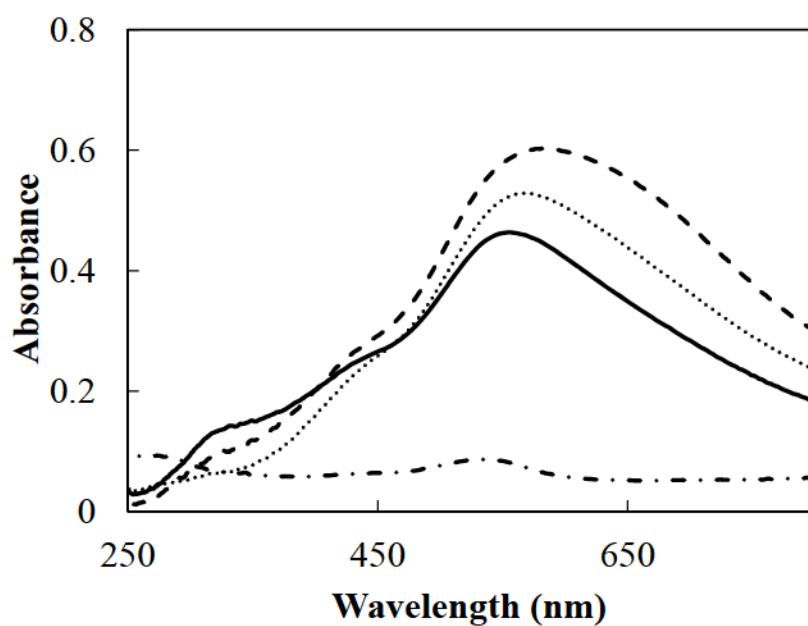


図 35 AD 色素/Fe 含有メソポーラスシリカ複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル

実線:AD 色素/Fe(0.01)-MCM-41 複合体、

点線:AD 色素/Fe(0.03)-MCM-41 複合体、

破線:AD 色素/Fe(0.05)-MCM-41 複合体、点破線:AD 色素/mf-MCM-41 複合体

アントシアニン色素は鉄イオンと錯体を形成して青色へと変化することが知られている[2]。FeとAD色素との相互作用は、Alの場合のような単純な静電的相互作用だけではなく、配位も関連していて、そのためより長い波長領域へとUV-Vis 拡散反射スペクトルがシフトしたのではないかと考えられる。

合成段階での Fe/ Si 比が 0.01 から 0.05 になると、Fe-MCM-41 粒子中の Fe 含有量も、0.007 から 0.0045 に増加した(表 6)。それに伴って Fe(0.05)-MCM-41 の 200-300 nm の吸収もより強くなった。しかしながら色素吸着量は 10.1%から 12.7%への増加にとどまった(表 7)。また、色素複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルの 420 nm の吸光度も増加したものの、その上昇は顕著なものではなかった(図 32)。これらのことから、投入した Fe 量の増加はフレームワーク内の Fe の増加よりは、骨格外 Fe の増加に働いたのではないかと考えられる。なお、酸化鉄(III) Fe_2O_3 の微粒子を AD 色素のエタノール溶液中に分散させても、AD 色素が青色沈殿を生じたり、溶液が赤から青に変化したりすることはなかった。このことから、フレームワーク外に生成した Fe(おそらく Fe_2O_3 として存在)は AD 色素の吸着に関与していないものと思われる。

表 6 合成した Fe-MCM-41 中の Fe 含有量

| Code | Fe/Si molar ratio (product) |
|-----------------|-----------------------------|
| Fe(0.01)-MCM-41 | 0.007 |
| Fe(0.03)-MCM-41 | 0.040 |
| Fe(0.05)-MCM-41 | 0.045 |

表 7 Fe-MCM-41 への AD 色素吸着量

| | AD dye amount in composite (wt%) | Adsorbed AD dye/ all AD dye in the initial solution (wt%) |
|-----------------|----------------------------------|---|
| Fe(0.01)-MCM-41 | 10.1 | 72.4 |
| Fe(0.03)-MCM-41 | 11.9 | 85.6 |
| Fe(0.05)-MCM-41 | 12.7 | 90.1 |

2.2.4 複合体の安定性

上記のように、Al-またはFe-MCM-41にAD色素を吸着させたことにより、ブドウ果皮由来の着色顔料(粉体)を得るという初期の目的は達成された。続いて、これらの色材としての性能について確認を行った。

種々の有機色素が、粘土鉱物の層間またはMPSの細孔に吸着することによって安定化することができると報告されている[20, 39, 40, 42, 44]。しかし、今回MCM-41に吸着させるために糖鎖を除去したAD色素は、元来のAN色素よりも安定性が低下しているものと考えられる。そこで我々は、このようなAD色素がメソポーラスシリカの細孔に吸着することで安定化するかどうかを検討した。比較するため、AN色素を乾燥法で金属非含有MCM-41(mf-MCM-41)の表面上に単純付着させたものを調製した。

図 36 に 10 時間の可視光照射下で AD 色素複合体の最大吸光強度の変化を示した。変化が大きいほど色変化(退色)をしたことを示している。

Fe(0.1)-MCM-41 の複合体は、可視光の長時間照射によってもほとんど変色を起こさなかった。また、光照射試験後も、Fe(0.01)-MCM-41 複合体の外観はほとんど照射前と同じであった。このように光安定性が高い色材であることを示した。

一方、Al(0.01)-MCM-41 の複合体では、徐々にピーク強度は減衰していった。目

視においても退色は明らかであった。しかしながら、比較試料(AN 色素を MCM-41 の表面に付着させたもの)と比較すれば、退色をおこしにくいものであった。以上のよ
うに、糖の除去は安定性が低下する因子ではあるが、AD 色素を Al-または Fe-MCM-41 に吸着することは、有効に色素の光安定性を向上させることができるこ
とが判明した。

無機担体と有機色素の複合化による、安定性の向上効果は、酸素や水分子と色素の接触抑制、細孔内での色素の配向制御や凝集などの機構によると報告されて
いる。我々は、今回の AD 色素と MCM-41 の複合化による安定性の向上は、Al や Feにより形成されたカチオン交換サイトに吸着することで、AD 色素が分解しにくいフ
ラビリウムカチオン型に安定したためと考えている。

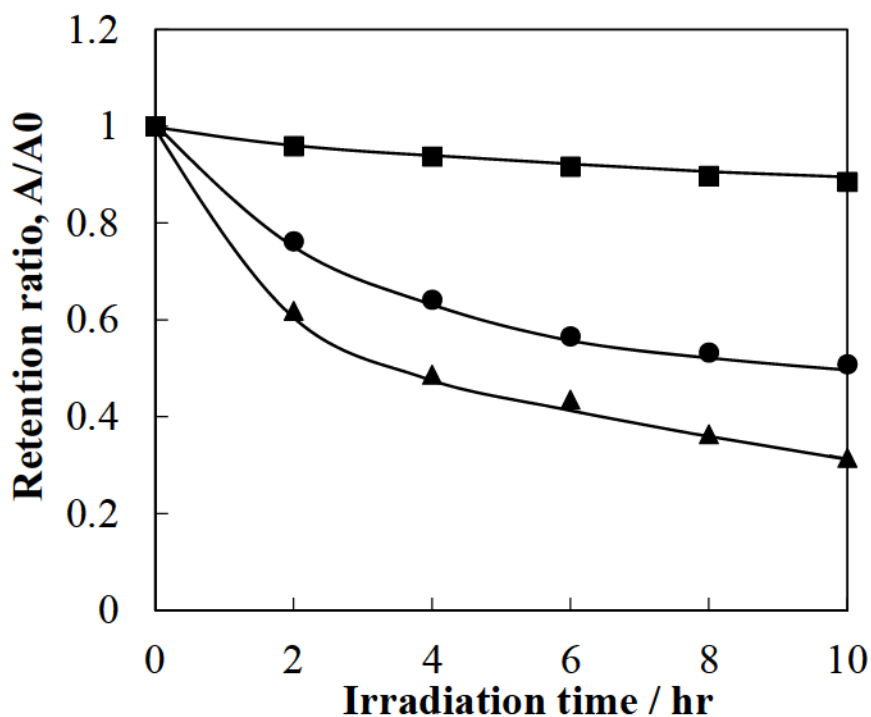


図 36 可視光照射下での吸光度変化

- :AD 色素/Al(0.01)-MCM-41 複合体(529 nm)、
- :AD 色素/Fe(0.01)-MCM-41 複合体(553 nm)、
- ▲:比較試料 AN 色素/mf-MCM-41(表面付着) (536 nm)

最後に、イオン交換水、エタノール、流動パラフィンに複合体を入れ、AD 色素の溶出性試験を行った(図 37)。流動パラフィンに対しては、Al(0.01)-、Fe(0.01)-MCM-41 複合体とも AD 色素は溶出しなかった。一方、水とエタノールに対しては、AD 色素はわずかに溶出した。溶出は Fe-MCM-41 よりも、Al-MCM-41 でやや多く、上澄みがわずかにピンク色になった。しかしながら比較試料(AN 色素を MCM-41 の表面に付着させたもの)よりはるかに少なかった。以上の結果により、AD 色素複合体は高い耐溶出性を示すことが確認された。

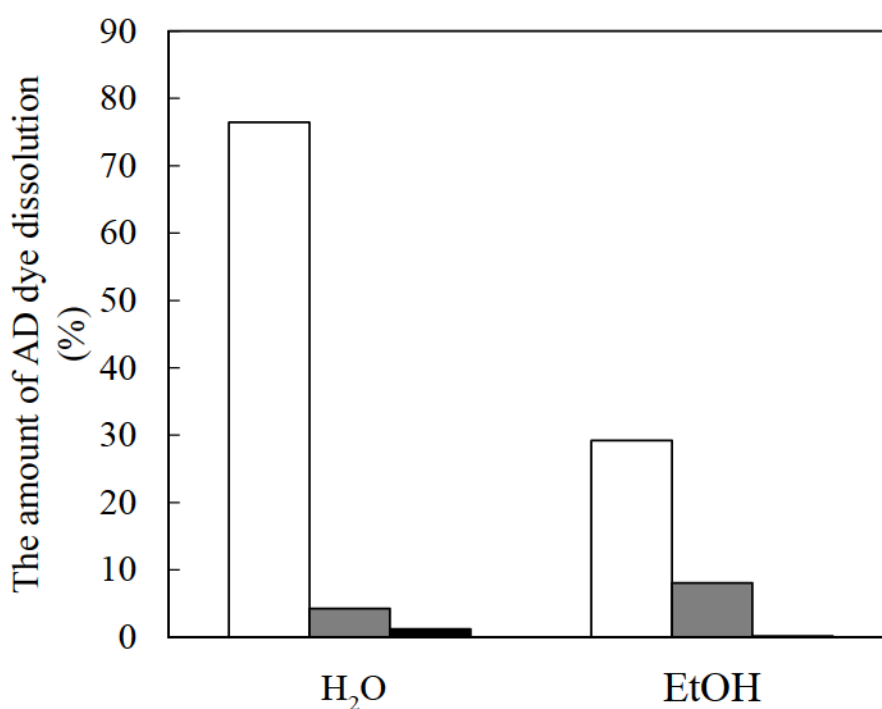


図 37 水またはエタノールに複合体から溶出した AD 色素の比率
 ■: AD 色素/Fe(0.01)-MCM-41; ■: AD 色素/Al(0.01)-MCM-41;
 □: 比較試料 AN 色素/mf-MCM-41(表面付着)

2.4 結論

アントシアニン色素とナノ細孔を持つ MCM-41 型メソポーラスシリカとの複合化を行い、色素の安定性向上を検討した。

アントシアニン色素(ブドウ果皮から抽出)は金属を含まないMCM-41 並び Al 含有 MCM-41 にほとんど吸着しなかった。色素の吸着には、加水分解によってアントシアニンの糖鎖を除去した疎水化アントシアニン(アントシアニジン)色素を用いる必要があった。Al 含有 MCM-41 はアントシアニジン色素を吸着させ、明るい赤色の粉体が得られた。一方、鉄含有 MCM-41 では明るい青色の粉体を得た。得られた複合体は光安定性の向上及び高い耐溶出性を示した。

第3章 ぶどう果皮色素と HMS 型メソポーラスシリカの複合体

3.1 緒言

天然色素であるアントシアニン色素(AN 色素)は耐光性が低く、水に溶出しやすいという課題がある。そこでこれらの克服を目指して、我々はアントシアニン色素を疎水化したアントシアニンジン色素(AD 色素)と MCM-41 型 Al 含有メソポーラスシリカ (Al-MCM-41)の複合化の検討をおこなった(第2章)。Al-MCM-41 と AD 色素の複合体は鮮やかな赤色を示し、複合化によって耐溶出性と耐光性の向上が確認された。しかしながら、Al-MCM-41 は強塩基性状態で合成をおこなうために、合成後は試料が中性になるまで多量のイオン交換水で洗浄を繰り返す必要がある。また洗浄後も残存する多量の Na イオンが AD 色素に悪影響を与える懸念も払拭できない。そこで本研究では、Al-MCM-41 に代えて中性での合成が可能な HMS 型メソポーラスシリカを用い、その色素吸着挙動について検討した。

3.2 実験

3.2.1 色素の調製

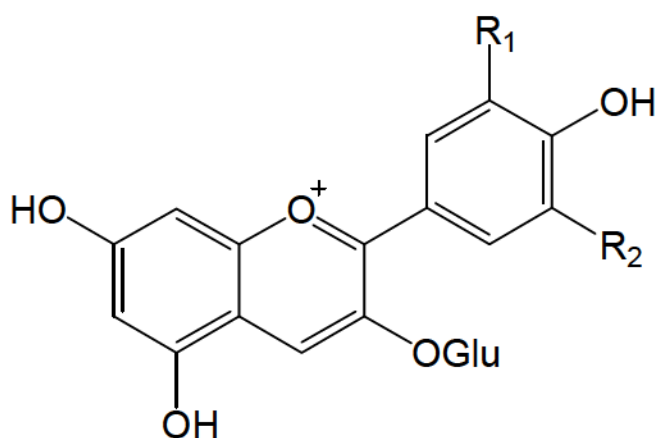
アントシアニン色素(AN 色素)源としては、ぶどう果皮より抽出した市販色素グレープカラーBC-120 (キリヤ化学株式会社)を用いた。この色素中のアントシアニン色素の構成はの通りである。(HPLC で分析、未発表データ)

AN 色素 1.5g に 2N 塩酸(和光製試薬一級)40 mL 加え、超音波洗浄機 (AS ONE VS-D100)を用いて 10 分間かけて溶解させたあと、濃塩酸(和光製試薬一級)10 mL を加えた。これを超音波洗浄機に 20 分かけ、溶解しなかった沈殿物はろ過(ろ紙は ADVANTEC 製 No.5C)によって除去した。

ろ液を攪拌しながら 90°C で 2 時間還流した。還流後、冷却した溶液は分液ロートに移してイソアミルアルコール(和光製試薬特級)を 40 mL 加えて振り、水層と有機溶

媒層に分離させた。上部の有機溶媒層を残して下部の水層は除去した。残った有機溶媒層にイオン交換水 40 mL を加えて振り、水層を除去するという操作を 3 回繰り返したのち、溶液は 5000 rpm で 15 分間遠心分離させた。遠心分離により得た上澄みをエバポレータで減圧条件下 70°C で乾燥させ、アントシアニン色素(AD 色素)を得た。

表 8 ぶどう果皮色素の組成



| 化合物 | 置換基 | | 含有率 (%) |
|-------------------------|----------------|----------------|---------|
| | R ₁ | R ₂ | |
| Maleidin-3-glucoside | OMe | OMe | 49 |
| Peonidin-3-glucoside | OMe | H | 20 |
| Petunidin-3-glucoside | OMe | OH | 15 |
| Delphinidin-3-glucoside | OH | OH | 13 |
| Cyanidin-3-glucoside | OH | H | 3 |

3.2.2 HMS 型メソポーラスシリカの合成

HMS タイプメソポーラスシリカの合成にはシリカ源としてオルトケイ酸テトラエチル

(TEOS、東京化成)、アルミ源としてアルミニウムアセチルアセトナート(和光純薬)、界面活性剤として、ドデシルアミン(DDA、和光純薬)を用いた。ろ紙は全て桐山ろ紙 No.5B を使用した。

200 mL ガラスビーカー中で DDA 0.91 g をエタノール 7.5 g に溶解させ、イオン交換水 45 g を入れ、2 時間攪拌した。TEOS 4.64 g、及びアルミニウムアセチルアセトナート 0.071 g (Al/Si モル比が 0.01 の場合)をはかりとり、スターラーで攪拌している界面活性剤水溶液中に 15 分程度かけて添加したのち、更に室温で 24 時間攪拌した。攪拌後、内容物を 300 mL ビーカーに取り出し、300 mL のイオン交換水を加えて分散混合したのち、吸引ろ過した。ろ紙保留物を 300 mL のイオン交換水に分散して吸引ろ過する操作を 3 回繰り返した。その後、ろ紙保留物をシャーレにとり、ブロックヒータを用いて大気中で 90°C、12 時間乾燥させた。得られた乾燥粉末をめのう乳鉢ですりつぶした。

焼成はガス置換型電気炉にて 600°C、6 時間 (空気流通、昇温速度 10°C/min)おこない、得られた試料をめのう乳鉢で再度すりつぶした。以降、これにより合成したメソポーラスシリカを Al(0.01)-HMS と表記する。()内の数字は Si に対する Al の物質質量比である。Al/Si=0.001, 0.005, 0.01, 0.02, 0.03 の 5 種類の HMS 型メソポーラスシリカを作製した。

3.2.3 複合体の調製

AD 色素(0.02 g)をエタノール(100 mL)に溶解し、HMS (0.2g)を溶液に添加した。混合物を 5 分間超音波処理し(AS ONE, VS-D100、24kHz・31kHz の複合周波)、24 時間 278 K で暗所に保持した。沈殿物を濾過によって混合液から分離し、4 時間 353 K で乾燥させた。分光光度計(JASCO V-650)を用い、吸着前後の色素溶液の UV-Vis 吸光スペクトルでの吸光度(553 nm)の変化から Al-HMS に吸着した AD 色素の量を推定した。

粉体の UV-vis 拡散反射率スペクトルは積分球 (JASCO ISV-722) を備えた装置を装着して分光光度計 (JASCO V-650) を用いて測定した。スペクトルは粉体の吸光度で表示した。

3.2.4 メソポーラスシリカの特徴

窒素吸着測定には自動比表面積/細孔分布測定装置 TriStar3000(島津製作所) を用い、液体窒素温度での多点法で測定した。表面積は BET 法 (Brunner-Emmett-Teller) により算出した。細孔サイズおよび細孔容積は脱着曲線から BJH 法 (Barrett-Joyner-Halenda) により計算した。

イオンコーターで試料表面にカーボン蒸着をした後、走査電子顕微鏡 (SEM) (JEOL JSM-6060LV) を用いて試料の形状を観察した。化学分析は、SEM に備えつけられた EDS (energy-dispersive X-ray spectroscopy) 装置により行った。

溶液の UV-Vis 吸光スペクトルは分光光度計 (JASCO V-650) を用いて測定した。また粉体の UV-Vis 拡散反射率スペクトルは積分球 (JASCO ISV-722) 装置を装着して分光光度計 (JASCO V-650) で測定した。スペクトルは粉体の吸光度で表示した。

3.2.5 Ca^{2+} の測定

Al-HMS のカチオン交換サイトの数は、イオン交換処理によって吸着した Ca^{2+} イオンの量により推定した。Al-HMS 0.1 g は、0.5 mol/L の CaCl_2 溶液 10 mL に加えた。混合液を常温で徹底的に一晩攪拌した。遠心分離して混合物の上澄みを除去した。この手順は、すべてのカチオン交換サイトへ Ca^{2+} イオンを吸着させるために 3 回繰り返した。この処理の後、Al-HMS は、1 mol/L の NH_4Cl 溶液 10 mL と混合し、常温で 3 時間攪拌して溶液へ Ca^{2+} を溶出させた。その後、 NH_4Cl 混合溶液は遠心分離をかけ、上澄みを回収した。このプロセスを 5 回繰り返した。上澄みの Ca^{2+} 濃度は pH/イ

オンメーター (S220, Mettler Toledo) で測定し、Al-HMS に吸着の Ca^{2+} の量を計算された。

3.2.6 安定性試験

耐光性試験は、光源に 100 W ハロゲンランプ(Schott Megalight 100)を用いた。複合体試料を UV-Vis 拡散反射スペクトル測定用粉体セルに入れ、100 W ハロゲンランプを用いて粉体セルの直上より照度 $E=10 \text{ klx}$ で可視光を照射した。照度は、照度計(LIGHT METER、AS ONE LM332)で調整した。試料に対し、室温で 10 時間照射し、規定時間毎に粉体の UV-Vis 拡散反射吸光スペクトルを測定した。測色値($L^* a^* b^*$ 値)は、複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルから算出した。照射による退色の程度は、 C^* 値(色の濃さ、 $C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$)の変化により評価した。

溶出性は、水およびエタノールへの色素の溶出量で評価した。0.005g の複合体を 10 mL イオン交換水または 99%エタノールに加え、分間超音波洗浄機(AS ONE, VS-D100、24kHz・31kHz の複合周波)を用いて分散した後、常温・暗所で 7 日間放置した。上澄み液中の色素の濃度を、UV-Vis 吸光スペクトルの吸光度から算出した。

3.3 結果及び考察

3.3.1 Al-HMS の物性

窒素吸着測定により、合成した Al 含有 HMS 型メソポーラスシリカ(Al-HMS)の表面積及び細孔径を表 9 に示した。金属含有量が増えることによる、Al-HMS の表面積の規則的な変化は見られなかった。いずれの試料も、表面積は $800\sim 1000 \text{ m}^2/\text{g}$ であり、細孔径は $2.5\sim 3 \text{ nm}$ であった。

合成した Al-HMS 中の Al 量は、最初投入した量の Al/Si 比と実際の Al/Si 比とで

著しい差は観察されなかった(表 10)。これらの結果から、本研究で用いた全ての Al-HMS はメソ細孔構造を有し、ほぼ投入量とおりにアルミニウム種を含有することが確認された。

表 9 合成した Al-HMS の特性

| code | Pore diameter (nm) | BET surface area (m ² /g) |
|---------------|--------------------|--------------------------------------|
| Al(0.001)-HMS | 2.98 | 836 |
| Al(0.005)-HMS | 2.87 | 861 |
| Al(0.01)-HMS | 2.63 | 1057 |
| Al(0.02)-HMS | 2.86 | 903 |
| Al(0.03)-HMS | 2.49 | 927 |

表 10 合成した Al-HMS の Al 含有量

| Code | Al/Si molar ratio |
|--------------|-------------------|
| Al(0.01)-HMS | 0.010 |
| Al(0.02)-HMS | 0.020 |
| Al(0.03)-HMS | 0.029 |

3.3.2 Al-HMS へのアントシアニン色素の吸着

AD 色素/Al-HMS 複合体の吸着率を表 11 に示した。Al-HMS に吸着した AD 色素の量は Al-HMS の Al 含有量の増加に伴って増加した。これは Al-MCM-41 と同じ傾向であった。第 2 章の研究において、我々は AD 色素が Al-MCM-41 のシリカ骨格中の Al により形成されているカチオン交換サイトに吸着すると報告した。AD 色素も同様の機構で Al-HMS に吸着すると推察される。

得られた複合体の外観を図 38 に、UV-Vis 拡散反射スペクトルを図 39 に示す。

Al/Si 比が 0.001 から 0.005 と少量の場合は、Al-HMS 複合体のスペクトルは 540 nm に鋭いピークを示し、複合体の外観も赤色であった。Al 含有量が 0.01 まで増えると、570 nm 付近にショルダーピークが表れ、複合体の色も赤から紫にシフトした。このような現象は、Al-MCM-41 複合体では観察されなかった。

表 11 AD 色素/Al-HMS 複合体の色素吸着率

| | AD dye amount in composite (wt%) | Adsorbed AD dye/ all AD dye in the initial solution (wt%) |
|---------------|----------------------------------|---|
| Al(0.001)-HMS | 1.6 | 11.2 |
| Al(0.005)-HMS | 1.3 | 9.2 |
| Al(0.01)-HMS | 3.0 | 21.5 |
| Al(0.02)-HMS | 3.5 | 24.5 |
| Al(0.03)-HMS | 4.6 | 32.8 |



図 38 AD 色素/Al-HMS 複合体の外観

上左: Al(0.001)-HMS、上中: Al(0.005)-HMS、上右: Al(0.01)-HMS、
下左: Al(0.02)-HMS、下右: Al(0.03)-HMS

合成段階で投入した $\text{Al}(\text{acac})_3$ 由来の Al の全量がシリカ骨格内に入り込むことは考えられにくく、おそらく一部の Al はフレームワークの外部に存在すると思われる。MCM-41 の合成のような塩基性条件下では、フレームワークに組み込むことができない Al 原子は、溶液中に AlO_2^- ようなイオン形態で存在する。このような溶液中の Al のほとんどは、合成段階に除去されると考えられる。しかしながら、HMS の合成は中性条件下で、余剰の AlO_2^- は固体の $\text{Al}(\text{OH})_3$ になり、焼成時に Al_2O_3 に変化すると考えられる。つまり、 Al -MCM-41 には存在しなかった多くの Al_2O_3 が Al -HMS の表面上または細孔内に存在する可能性が高いといえる。そこで仮説として、我々はこの Al_2O_3 によって、複合体の色が赤色から紫色への変化を引き起こしたと考えた。

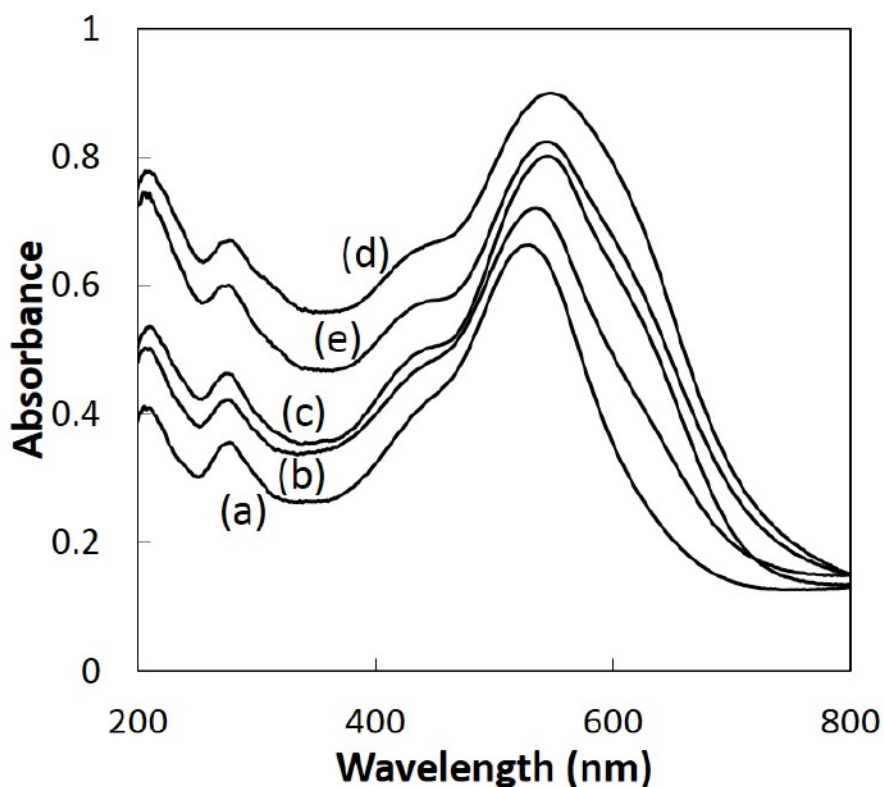


図 39 AD 色素/ Al -HMS 複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル

(a) $\text{Al}(0.001)$ -HMS, (b) $\text{Al}(0.005)$ -HMS, (c) $\text{Al}(0.01)$ -HMS, (d) $\text{Al}(0.02)$ -HMS, (e)
 $\text{Al}(0.03)$ -HMS

Al含有量が0.01から0.03に増加すると、Al-HMS複合体中のAD色素の量が増加しているにもかかわらず、540 nmのピークは減少した。この現象もAl-HMSの孔または表面のAl₂O₃の存在に関連しているのではないかと推察した。

3.3.3 Al-HMSをNaOHで洗浄効果

Al(OH)₃ (Al₂O₃の前駆体)は希塩基性水溶液に溶解することができる。したがって、Al-HMSの表面上または細孔中に生成してしまうAl₂O₃を除去するために、焼成前にNaOH希薄水溶液でAl-HMSを洗浄した。NaOHで洗浄したAl含有HMS型メソポーラスシリカ(以下Al-HMS(N)と表記する)の表面積、細孔径をそれぞれ確認した。結果を表12に示した。NaOH水溶液で洗浄した後も、Al-HMS(N)の表面積は全て800 m²/g以上であり、Al-HMSをNaOH希薄水溶液で洗浄してもメソポーラスシリカとしての性能に問題はないと確認した。

表 12 NaOH 洗浄をおこなった Al-HMS(N)の特性

| | Pore diameter (nm) | BET surface area (m ² /g) |
|------------------|--------------------|--------------------------------------|
| Al(0.001)-HMS(N) | 3.17 | 846 |
| Al(0.005)-HMS(N) | 3.18 | 833 |
| Al(0.01)-HMS(N) | 2.92 | 950 |
| Al(0.02)-HMS(N) | 3.17 | 864 |
| Al(0.03)-HMS(N) | 2.82 | 773 |

AD色素/Al-HMS(N)複合体のUV-Vis 拡散反射吸光スペクトルを図40に示した。少量のAlを含有しているAl(0.001)-とAl(0.005)-HMS(N)複合体では、540 nmに鋭いピークを示し、それは、NaOH希薄水溶液で洗浄しても著しい変化がなかった。Al(0.01)-HMSの複合体の場合は、NaOH洗浄をしないと540 nmの鋭いピークと570

nm 付近にショルダーピークを示したが、このショルダーピークは Al-HMS(N)複合体中ではなくなった。

図 42 に示すように、 Al_2O_3 粉末に AD 色素を吸着させると 574 nm での吸収ピークを示した。したがって、570 nm でのショルダーピークが複合体の色を紫色にする要因であり、これは Al_2O_3 に由来するものと考えられる。また NaOH 洗浄することによって Al_2O_3 が除去されたものと考えられる。

Al-HMS に含まれる Al 量に関しては、予想どおりに NaOH 洗浄後、一部 Al が除去されて約 20%減少した(表 13)。

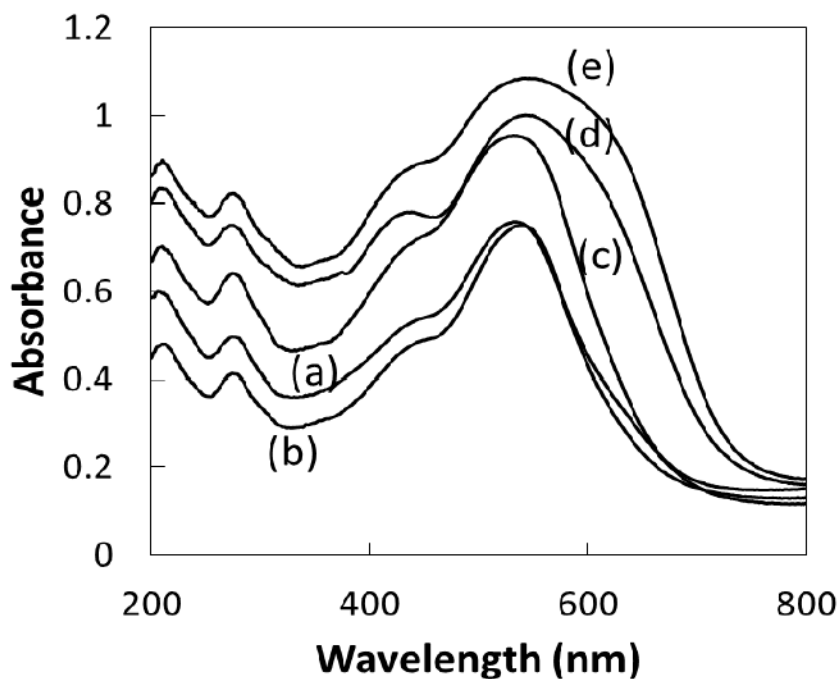


図 40 NaOH 洗浄をおこなった AD 色素/Al-HMS (N)複合体の UV-Vis 拡散反射
スペクトル

- (a) Al(0.001)-HMS(N)複合体、(b) Al(0.005)-HMS(N)複合体、
(c) Al(0.01)-HMS(N)複合体、(d) Al(0.02)-HMS(N)複合体、
(e) Al(0.03)-HMS(N)複合体

表 13 NaOH 洗浄をおこなった Al-HMS の Al 含有量

| Code | Al/Si molar ratio |
|-----------------|-------------------|
| Al(0.01)-HMS(N) | 0.008 |
| Al(0.02)-HMS(N) | 0.017 |
| Al(0.03)-HMS(N) | 0.025 |



図 41 AD 色素複合体 (Al(0.01)-HMS) の外観

(左): NaOH 未洗浄、(右): NaOH 洗浄

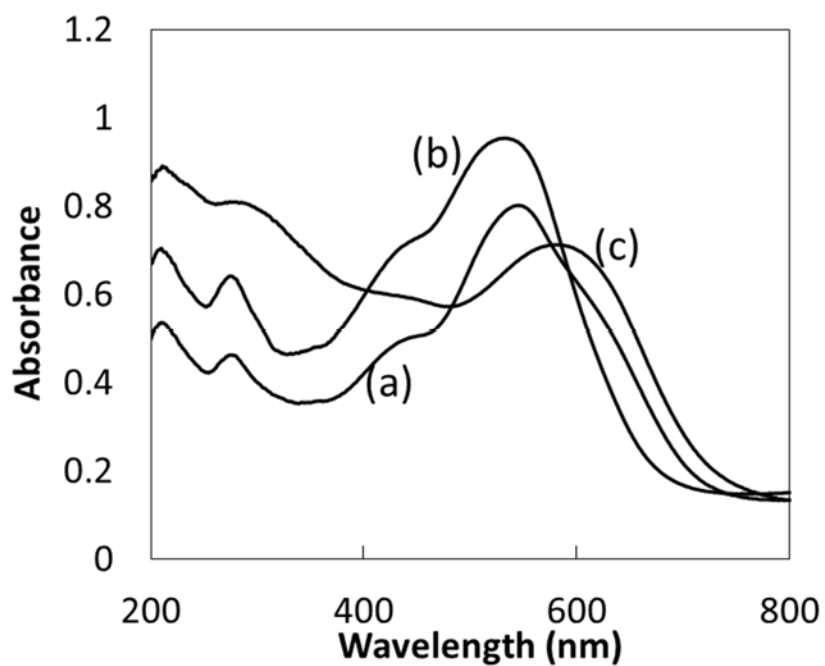


図 42 AD 色素/複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル比較

(a) 未洗浄 Al(0.01)-HMS 複合体、(b) NaOH 洗浄 Al(0.01)-HMS(N)複合体、
(c) Al₂O₃ 複合体

NaOH 洗浄の目的は、骨格外アルミニウム種である Al_2O_3 を除去することであったが、同時にシリカ骨格中に存在する四配位 Al もある程度溶出してしまうという懸念があった。四配位 Al はシリカ骨格にカチオン交換サイトを形成し、正電荷を持つ AD 色素はこのカチオン交換サイトに結合し、色素の安定性を高めることができると考えられる。したがって、シリカ骨格の Al 溶出がおこることは好ましく無い。そこで我々は、Na 洗浄によってカチオン交換サイトの数が減少していないかどうかを調べた。ゼオライトおよび粘土などの無機材料で用いられている、 Ca^{2+} でカチオン交換サイトの数を評価する方法を用いた。には、Al-HMS に吸着する Ca^{2+} 量(イオン交換サイト数に比例する)を表 14 示した。NaOH 洗浄によってフレームワーク内の Al の量も減少するのではないかという仮説に反し、実際には NaOH 洗浄によって Ca^{2+} 量は増加した。つまりカチオン交換サイト数は増加していることになり、これは NaOH 洗浄によって Al-HMS に吸着する AD 色素量の増加と対応した。表 15 で示したように Al(0.03)-HMS(N)の吸着量は 8.9%で、Al(0.03)-HMS の約 2 倍に達している。

表 14 Al-HMS に吸着した Ca^{2+} イオンの量

| Without $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ wash samples | | $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ washed samples | |
|--|------------------------|--|------------------------|
| Code | Ca^{2+} mol/g | Code | Ca^{2+} mol/g |
| Al(0.001)-HMS | 5.1×10^{-5} | Al(0.001)-HMS(N) | 4.9×10^{-5} |
| Al(0.005)-HMS | 7.8×10^{-5} | Al(0.005)-HMS(N) | 8.2×10^{-5} |
| Al(0.01)-HMS | 1.1×10^{-4} | Al(0.01)-HMS(N) | 1.7×10^{-4} |
| Al(0.02)-HMS | 2.4×10^{-4} | Al(0.02)-HMS(N) | 2.6×10^{-4} |
| Al(0.03)-HMS | 3.0×10^{-4} | Al(0.03)-HMS(N) | 3.7×10^{-4} |

この現象の機構については未だ明になっていないが、考えられる機構としては、NaOH 希薄水溶液が Al-HMS の表面から Al₂O₃ を削除する際に Al₂O₃ によって被覆されていたカチオン交換サイトが新たに露出したことや、HMS の部分構造の崩壊で壁内に存在していたカチオン交換サイトが表面に露出したことなどが考えられる。

表 15 NaOH 洗浄をおこなった Al-HMS の色素吸着率

| | AD dye amount in composite (wt%) | Adsorbed AD dye/ all AD dye in the initial solution (wt%) |
|------------------|----------------------------------|---|
| Al(0.001)-HMS(N) | 1.4 | 9.9 |
| Al(0.005)-HMS(N) | 1.9 | 13.8 |
| Al(0.01)-HMS(N) | 4.0 | 28.0 |
| Al(0.02)-HMS(N) | 4.9 | 34.7 |
| Al(0.03)-HMS(N) | 8.9 | 63.9 |

ところで、NaOH 希薄水溶液の洗浄による作用を、仮説通りに骨格外の Al₂O₃ の除去であると考えれば、以上のように現象の多くが矛盾なく説明できる。しかしながら、この作用以外にも NaOH 洗浄の効果として、Al-HMS のカチオン交換サイトに吸着しているカチオンが H⁺(カチオンフリーの条件で合成している)から Na⁺に変更されるという作用も考えられる。細孔内の対カチオンが H⁺から Na⁺に変化すれば、AD 色素や Ca²⁺などの吸着特性、および複合体の色にも影響を与える可能性がある。

そこで NaOH 洗浄の効果を明確にするために、我々は Al-HMS の Na⁺イオン交換処理を行い、NaOH 洗浄との比較をおこなった。

Al(0.01)-HMS を飽和 NaCl 水溶液中で一晩攪拌するイオン交換処理をおこなっ

た。このプロセスでは Al_2O_3 は除去されず、カチオン交換サイトに吸着するイオンが H^+ 型から Na^+ 型へと徐々に置き換わっていくという作用のみを有する。予想されたように、イオン交換処理後の $\text{Al}(0.01)\text{-HMS}$ を用いて調製した複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルはイオン交換前後でほとんど変化をせず(図 43)、色は依然として紫色で、 NaOH 洗浄品のような赤色ではなかった。一方、イオン交換処理をした複合体(色素吸着量 3.5%)は、吸着した色素の量が多少増加したが、 NaOH 洗浄した複合体(吸着量 4.0%)より少なかった。以上のことより、 Na^+ イオン交換は色素吸着の一部の増加を引き起こす可能性はあるものの、 NaOH 洗浄の主な効果は、 Al-HMS の表面または他の部分に存在する Al_2O_3 を除去することであることが確認された。

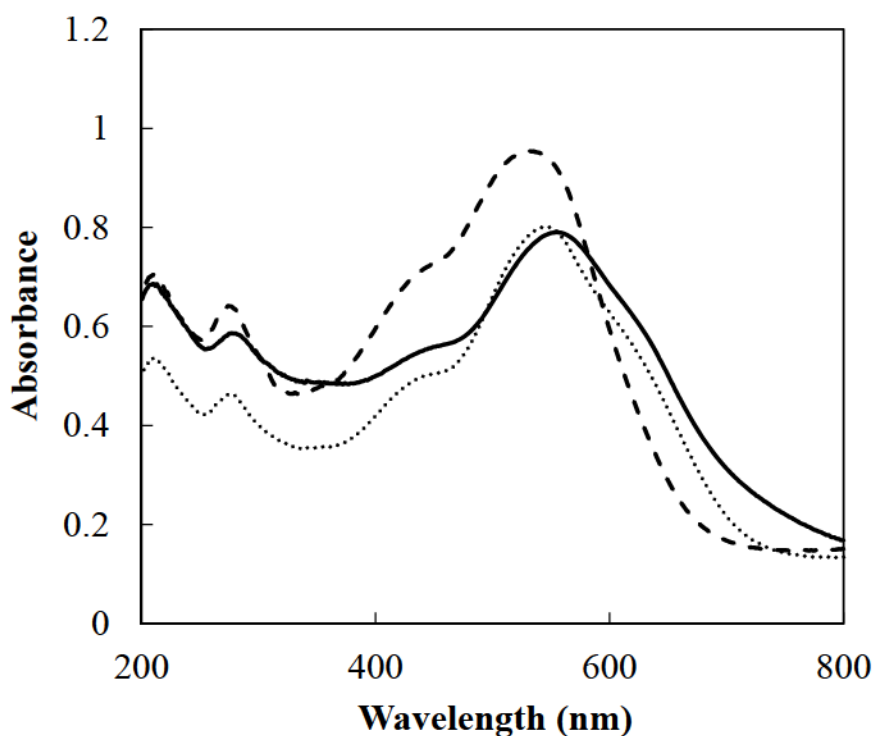


図 43 各種 $\text{Al}(0.01)\text{-HMS}$ を用いた AD 色素複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルの比較

実線: NaCl でイオン交換処理した Al-HMS 、点線: 未処理 Al-HMS 、
破線: NaOH 洗浄した Al-HMS

3.3.5 複合体の安定性

AD 色素と Al-MCM-41 の複合体(第 2 章)は水へと溶出をおこしにくく、また可視光照射に対する安定性も複合化によって向上がみられた。本章で用いた NaOH 水溶液で洗浄した Al-HMS の AD 色素複合体も、Al-MCM-41 と同等の性能を有するかどうかを検討した。

図 44 に 10 時間の可視光照射下で AD 色素複合体の色の変化を示した。C*値は複合体の色強度であり、複合体が退色すると、C*値が減少する。

Al(0.01)-MCM-41 複合体は、10 時間後に C*=7.8 まで低下し、粉末の外観は鮮やかな赤からピンク色に変化した。一方、10 時間後 Al(0.01)-HMS(N)複合体は C* =16 を維持し、粉体の色は明るい赤色であった。つまり Al(0.01)-HMS(N)複合体は Al(0.01)-MCM-41 複合体よりも高い耐光性を有することを示した。

このような差が生じた要因として、AD 色素の退色を発生させやすいアルカリ種の存在が考えられる。Al-MCM-41 は強い塩基性条件下で合成されたため、合成段階で洗浄液が pH8 になるまでイオン交換水洗浄をしているが、Al-MCM-41 の表面上または細孔中には Na⁺がまだまだたくさん含まれている懸念がある。これらの Na⁺カチオンは、色素の安定性にマイナスの影響を与える可能性がある。一方、Al-HMS は、これらのアルカリ種が存在していない中性条件下で合成されたため、複合体は Al-MCM-41 よりも高い安定性を示したと推察される。

最後に、イオン交換水及びエタノールに対する AD 色素の溶出を測定した(図 45)。AD 色素は溶媒へほぼ溶出せず、これは Al(0.01)-MCM-41 複合体とほぼ同じ水準だった。この結果は、産業使用として Al(0.01)-HMS(N)複合体が十分な耐溶出性をもつことを示した。

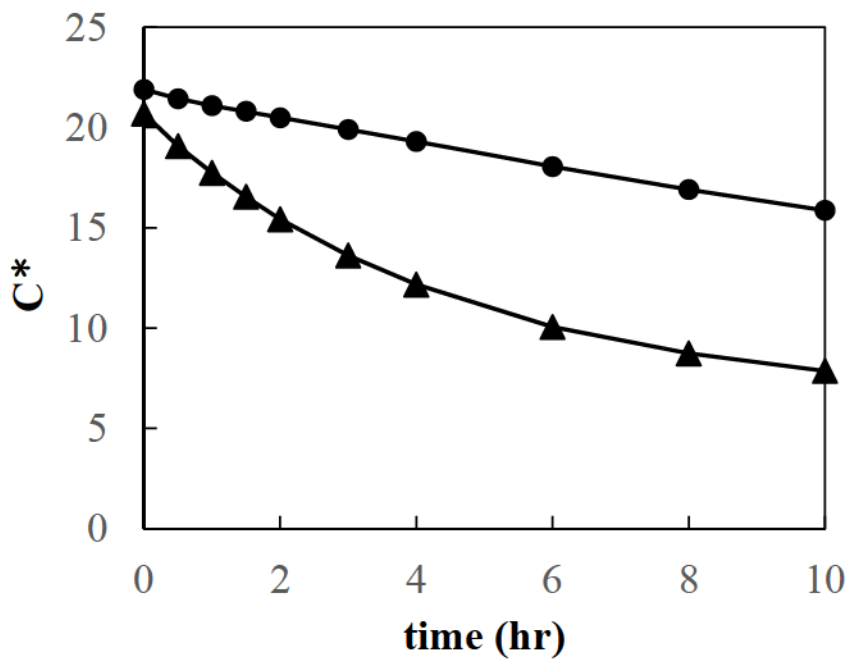


図 44 可視光照射下での AD 色素複合体の色変化

●:AD 色素/Al(0.01)-HMS (N); ▲: AD 色素/Al(0.01)-MCM-41

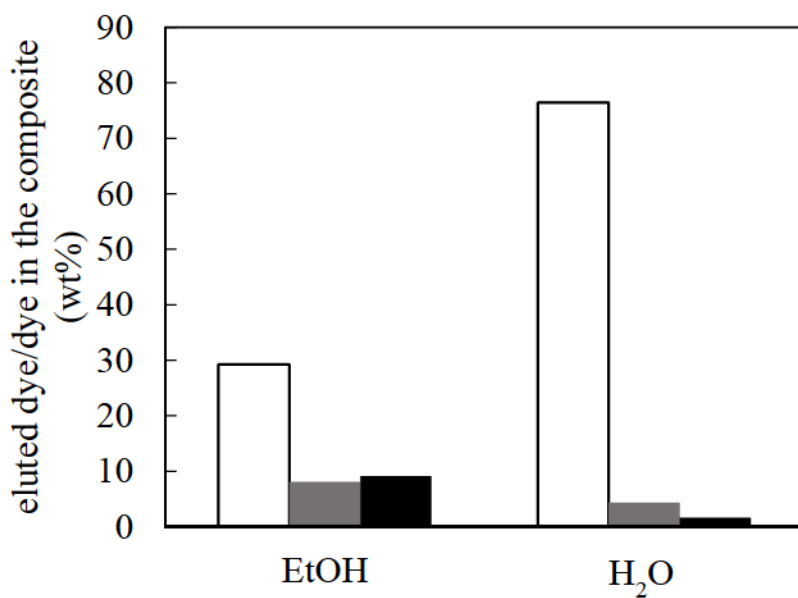


図 45 水またはエタノールに複合体から溶出した AD 色素の比率

■: AD 色素/Al(0.01)-MCM-41; ■: AD 色素/Al(0.01)-HMS(N);

□: AN 色素/mf-MCM-41(表面付着)

3.4 結論

第2章で用いた Al-MCM-41 は最も一般的で、水や油剤への分散性も良好なメソポーラスシリカであるが、強塩基性条件で合成することによる懸念も伴う。そこで中性条件下で合成された Al 含有 HMS 型メソポーラスシリカ (Al-HMS) を用いて検討をおこなった。

Al-HMS はアントシアニン色素 (疎水化アントシアニン色素) を吸着し、鮮やかな赤色の複合体が得られた。Al 含有量を増加させると、色は徐々に工業用途に望ましくない変化である紫色へと変化した。そこで Al-HMS のシリカ骨格外に存在する Al を除去することを目的として、NaOH 希薄水溶液で Al-HMS を洗浄したところ、得られた複合体は鮮やかな赤色へと戻り (Al/Si=0.01)、吸着した色素も増加した。

第2章で説明した MCM-41 型メソポーラスシリカ色素複合体と比較しても、NaOH 洗浄した Al-HMS 型メソポーラスシリカ色素複合体は光照射に対して高い安定性を示し、水への溶出性も同程度に低かった。

今回用いた HMS 型メソポーラスシリカは、溶媒等への分散性の点では MCM-41 に劣るものの、中性条件合成のため合成しやすく、かつアントシアニン由来色素の安定性を向上させるためには有利であることが明らかになった。

第4章 フィコエリスリン色素の粘土鉱物への吸着と安定化

4.1 緒言

有機色素と複合体を形成する最も一般的な無機物質は層状粘土鉱物であり、有機色素は層状粘土鉱物の層間に吸着することで、熱や光に対する安定性が向上することが多い[20, 45]。またタンパク質は層状粘土鉱物の層間に安定に吸着しやすいことが報告されている[46, 47]。ところで色素タンパクであるフィコエリスリンは蛍光発色をする魅力的な赤色色素であるが、単離状態では熱や光に対して極端に不安定であるという欠点を有している[48]。そこで我々は層状粘土鉱物と複合化することで、フィコエリスリン色素の安定化を検討した。

粘土鉱物としては典型的な層状粘土鉱物(スメクタイト構造)である天然のモンモリロナイトと、合成品であるヘクトライトを用いて、両者の差異についても調べた。

4.2 実験

4.2.1 原料

香川県産食用海藻(生海苔)をフィコエリスリン色素の原料として使用した。無機担体である粘土鉱物としては、天然粘土であるモンモリロナイト(クニミネ工業、クニピアF)、および合成品であるヘクトライト(和光純薬工業)を使用した。

また比較試料として多孔質シリカゲル(サンスフェア H-32、AGC SI セスアイテック株式会社製、平均粒子径 3 μm 、比表面積は 725 m^2/g)を使用した。

4.2.2 色素抽出

フィコエリスリン色素(PE 色素)は、アニオン性界面活性剤(ドデシルトリメチルアンモニウムブロミド、和光純薬、C12TMABr)を用いる方法で生海苔より分離精製した[15]。

生海苔 50g とイオン交換水 200mL をキッチンミキサー(Tescom TML160)に入れペースト状に粉碎した。ペースト状にした海苔は、ホモジナイザー(AS ONE AHG-160A)を用いてさらに細かく砕いた。その後、遠心分離をし、吸引濾過(桐山濾紙 No.5C を使用)を行った。C12TMABr (0.4 g、和光純薬社製)を得られた濾液に添加し、均一攪拌後、溶液を 1 時間、室温暗所で放置した。色素溶液中に生成した凝集物は、遠心分離および吸引濾過により除去した。

その後、溶液中の C12TMABr や塩を除去するために、透析を行った。濾液をセロファン透析チューブ(孔径 2.4 nm)に移し、イオン交換水(1 L)中に 5 時間攪拌した。1 時間毎にイオン交換水の入れ替えをおこなった。最後に、色素水溶液を入れたチューブを乾燥剤であるカルボキシメチルセルロースのナトリウム塩粉末(Aquacide II、和光純薬)に埋め込み、チューブ中の水を可能な限り除去して PE 色素を濃縮した。

なお、得られた水溶液の色素濃度は、溶液中の色素の乾燥重量と溶液の UV-Vis 吸光スペクトルの吸光度(565nm)の比例関係式から算出した。

4.2.3 粘土鉱物の性質

メチレンブルーを用い、粘土鉱物の陽イオン交換容量(CEC; Cation Exchange Capacity)を測定した。粘土鉱物に対し、0.25~1.25 mmol/g 相当のメチレンブルー(和光純薬)を溶解させた水溶液を加え、21 時間、室温で静置して、メチレンブルーを粘土鉱物に吸着させた。その後遠心分離(9000 rpm, 30 min)をおこないメチレンブルー水溶液をとりだした。吸着操作にともなう最大吸光度の変化から、メチレンブルーの吸着量を算出し、これを粘土鉱物のイオン交換容量とした。

粘土鉱物の解膠状態を調べるため、膨潤性試験を行った。イオン交換水と粘土鉱物を混合して超音波洗浄機を用いて十分分散させ、これをメスシリンダーに移してイオン交換水を加えて 100 mL になるように調整した。室温で 24 時間を静置した後のシリンダ内の粘土ゲル層の見かけの体積を読み取り、これを粘土の膨潤容量と

した。

膨潤性試験後、上澄み液を回収し、濾過した。この液体中のカチオン種および量(濃度)を、ICP 分析(Shimadzu ICPE-9000)により測定した。

4.2.4 複合体の調製

PE 色素/粘土鉱物の重量比率が 10、30、50%になるように濃度を調整した PE 色素水溶液 15 mL に粘土鉱物 0.5g を添加し、20 分間超音波洗浄機(AS ONE US-2R)を用いて分散させた。この分散液を 5°C、暗所にて 24 時間静置した後、遠心分離にかけて沈殿物を採取し、室温、減圧条件で一晩以上乾燥させることによって PE 色素/粘土鉱物複合体を得た。

粘土鉱物を添加する前と吸着操作後の PE 色素溶液の UV-Vis 吸光スペクトルを測定し、565 nm の吸光度の変化から粘土鉱物への PE 色素吸着量を計算した。

pH 変化による色素吸着量の変化を観察するため、異なる pH の色素水溶液を用いて色素複合化を行った。pH の調整は、クエン酸緩衝液(pH4.3)、リン酸緩衝液(pH7.0)、グリシン水酸化ナトリウム緩衝液(pH9.0) (全て和光純薬製)を用いた。色素水溶液の濃度は色素/粘土鉱物 = 30 wt%になるように調整して行った。

カチオン添加による色素吸着量の変化を測定する実験は、イオン交換水で色素濃度が色素/粘土鉱物=30 wt%になるように調整した PE 水溶液に、塩化ナトリウムまたは塩化マグネシウム (和光純薬工業製)を粘土鉱物に対して 3~15 wt%量添加して行った。

4.2.5 複合体のキャラクタリゼーション

PE 色素の等電点 (pI)および分子量は、二次元電気泳動により測定した。一次元等電点電気泳動(IEF)はプロティアン IEF セル(ReadyStrip IPG、Bio-Rad 社製)を用いた。二次元目である SDS-PAGE は PROTEAN II XL セル(Bio-Rad 社製)を使用し

た。

X線回折装置は、TXJ-F165MX-Labo (MAC Science Co/Ltd 製)を用いた。測定条件は、Cu K α 、電流 15 mA、電圧 30 kV、サンプリング間隔 0.05°、スキャン速度=2°/min と設定した。

色素水溶液の UV-Vis 吸光スペクトルは分光光度計(JASCO V-650)を用いて測定した。また、複合体など粉体の UV-Vis 拡散反射スペクトルは積分球(JASCO ISV-722)装置を装着して分光光度計(JASCO V-650)で測定した。スペクトルは粉体の吸光度で表示した。

PE 色素水溶液、PE 色素/ヘクトライト複合体の蛍光スペクトルは、JASCO FP-6200 で測定した。励起光は 350 nm に設定した。

複合体中の色素の状態を調べるために、色素/粘土複合体は、励起光(青:445~500 nm または緑:500~575 nm)を照射し、KEYENCE 社製の蛍光顕微鏡 VB6000/6100 で観察した。

試料の TEM 観察は、カーボンコーティング(JEOL JEE-420)で試料表面にカーボン蒸着をした後、透過型電子顕微鏡(TEM) (JEOL3200FS)を用いて試料の透過像を観察した。加速電圧は 300kV とした。

4.2.6 安定性試験

可視光耐光性試験は、光源に、100 W ハロゲンランプ(Schott Megalight 100)を用いた。粉体試料を拡散反射スペクトル測定用粉体セルに入れ、粉体セルの直上より照度 E=10 klx で可視光を照射した。照度は、照度計(LIGHT METER、AS ONE LM332)で調整した。試料に対し、室温で 10 時間照射し、規定時間毎に粉体の UV-Vis 拡散反射スペクトルを測定した。照射による退色の程度は、UV-Vis 拡散反射スペクトルの吸光度変化(565 nm)により評価した。

比較試料は PE 色素を乾燥法で多孔質シリカの表面に付着したものを用いた。色

素水溶液中の色素と多孔質シリカの重量比が PE 色素/ヘクトライト複合体と同じになるように調整した PE 色素水溶液に多孔質シリカを加え、この混合物を室温で減圧乾燥させて調製した。

耐熱性試験は、ガラストレーに試料を置き、電気乾燥機を用いて、大気中暗所条件下で 60°C に保持した。規定時間毎に分光光度計(日本分光 V-650ST)を用いて UV-Vis 拡散反射スペクトルを測定した。加熱による退色の程度は、退色の程度は、UV-Vis 拡散反射スペクトルの吸光度変化(565 nm)により評価した。

比較試料として、耐光性試験と同じ PE 色素/多孔質シリカ複合体(多孔質シリカの表面に付着させたもの)を用いた。

4.3 結果及び考察

4.3.1 海苔色素溶液の性質

海苔抽出液中に存在する、フィコエリスリン色素(PE 色素)以外の色素は、カチオン性界面活性剤(C12TMABr、和光純薬)を添加することにより沈殿し、除去される。図 46 に色素を水に抽出した溶液と、これに界面活性剤を加えて処理した後の溶液の UV-Vis 吸光スペクトルを示した。

PE 色素の吸収ピークは 495nm, 545nm, 565nm にあることが知られている[7]。界面活性剤添加前は、PE 色素特有の吸収ピークの他に、435 nm, 620 nm, 680 nm 付近にもピークが観察されたが、界面活性剤処理後の溶液では PE 色素のピークだけが現れた。なお、435 nm、680 nm のピークはクロロフィル a、620 nm のピークはフィコシアニンのピークであると考えられる[7, 49]。このように、界面活性剤を添加することにより、生海苔中に含まれる共存色素を除去し、PE 色素を精製することができた。

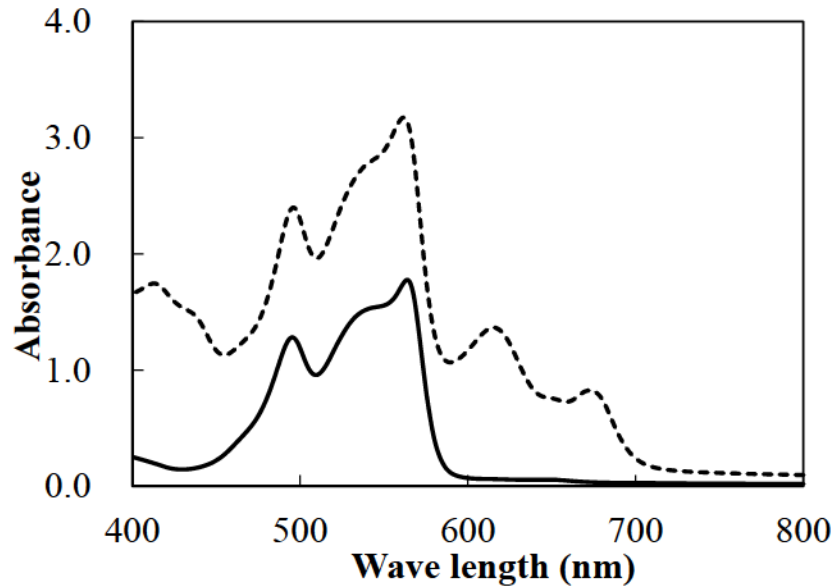


図 46 生海苔から抽出した直後の溶液と界面活性剤処理後の溶液の UV-Vis 吸光スペクトル

実線: 界面活性剤処理後の溶液、破線: 生海苔から抽出した直後の溶液

PE 色素は光や熱により退色しやすい、安定性の低い色素であるとされている[48]。実際、PE 色素が熱によりどのような変化を起こすのかを確認した。図 47 に 60°C 恒温槽中、遮光条件下で保管した際の、PE 色素水溶液の UV-Vis 吸光スペクトル変化を示す。60°C 条件下に静置する前は、PE 色素特有の 495, 545, 565 nm にピークがみられるが、一日静置後ではこれらのピークは不鮮明になり、2 日でほぼ消滅した。目視においても鮮紅色から茶褐色へと変化した。これは熱により色素タンパクが変性したためと考えられる。

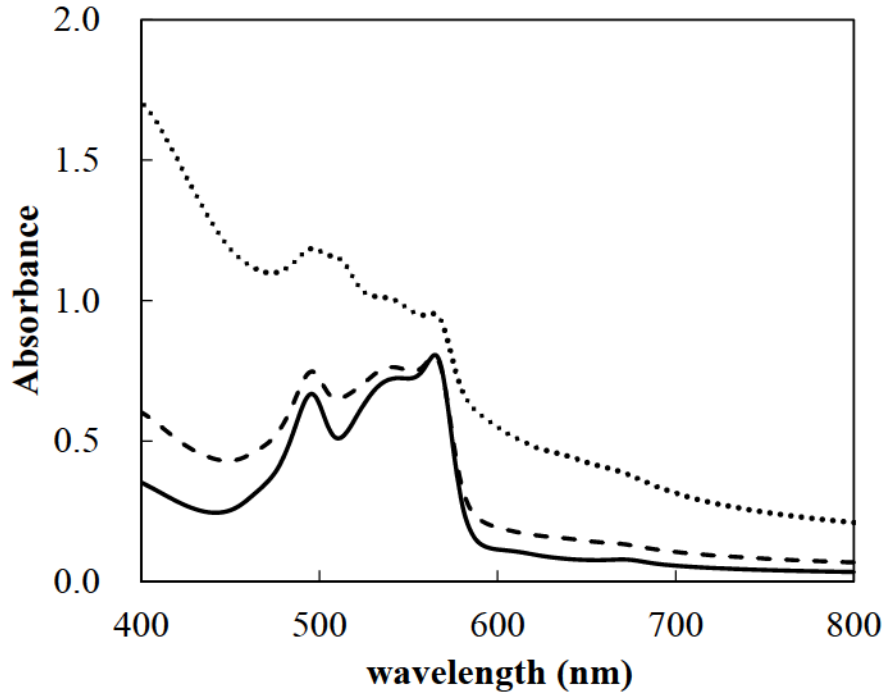


図 47 PE 色素水溶液の加熱による UV-Vis 吸光スペクトル変化
 実線:調製直後、破線:60°C1 日静置後、点線:60°C2 日静置後

4.3.2 粘土鉱物の性質

本研究では、粘土鉱物として合成ヘクトライト及び天然モンモリロナイトを使用した。2つの粘土鉱物はともにスメクタイト類に含まれる膨潤性層状化合物で、唯一の違いは構成される四面体シート中の金属種だけである。したがって、これらの基本的特性は、ほぼ同じであることが知られている[50]。我々は2種類の粘土鉱物が、実際に色素の吸着に影響を与える可能性があるような物性差があるかどうかを検討した。

粘土の陽イオン吸着容量を比較するために、メチレンブルー吸着量を検討した。表 16 に示すように、これらの陽イオン交換能力はほぼ同じであることを示した。粘土の解膠特性を比較するための膨潤性試験でのゲル体積も、ほぼ同じであった。

膨潤性試験後の上澄みの、pH 値および陽イオン量を表 17 に示す。上澄み液の pH 値はほぼ同じであったが、ヘクトライトから溶出した陽イオンの量は、モンモリロナイトからのものより大きかった。特に Mg^{2+} の量は、ヘクトライトはモンモリロナイトの 9

倍大きかった。このようにカチオン溶出量に差が生じたのは、天然物であるモンモリロナイトに対して、ヘクトライトは合成品であり、高塩基性条件で合成されたためと思われる。

これらの結果から、溶出した陽イオンの量以外は、モンモリロナイト、ヘクトライトとの間に明瞭な物性差はないと結論された。

表 16 粘土鉱物の性質

| | モンモリロナイト | 合成ヘクトライト |
|------------|-------------|-------------|
| メチレンブルー吸着量 | 0.99 mmol/g | 1.12 mmol/g |
| 膨潤性 | 48 mL/2g | 45 mL/2g |
| 分散液の pH | 9.5 | 10.1 |

表 17 粘土鉱物水分散液中のカチオン量 (ppm)

| | モンモリロナイト | 合成ヘクトライト |
|--------|----------|----------|
| カリウム | n.d. | 0.8 |
| ナトリウム | 62.1 | 404.0 |
| カルシウム | 0.9 | 0.1 |
| マグネシウム | 0.8 | 7.1 |
| アルミニウム | 1.6 | n.d. |

4.3.3 粘土へのフィコエリスリン色素の吸着

色素仕込み量および実際に粘土鉱物に吸着した色素量の関係を、図 48 に示した。なお、溶液中で色素が凝集しない範囲で実験をおこなうため、粘土鉱物に対する色素の最大量は 50wt%とした。

ヘクトライトでは、溶液中のほぼ全量の色素がヘクトライトへと吸着し、吸着処理後

の溶液は透明になった。一方、モンモリロナイトでは、色素が半分以下の吸着にとどまった。得られたヘクトライト及びモンモリロナイト複合体の最大色素吸着量は49.7wt%及び21.1wt%であった。このように、2種類の粘土鉱物の基本的な性質(イオン交換容量と膨潤性)はほとんど違いのないものであるが、色素はヘクトライトよりもはるかに容易にモンモリロナイトに吸着することが明らかになった。

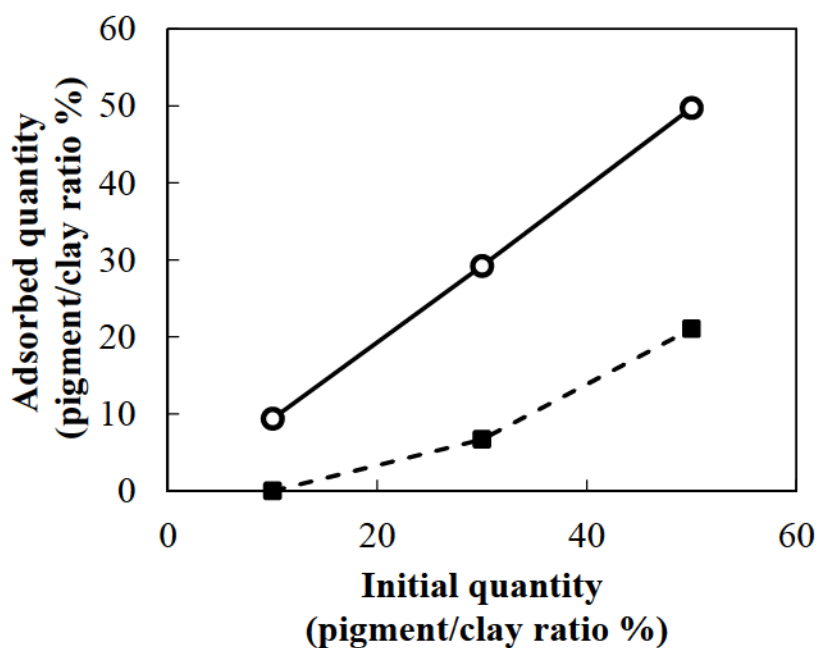


図 48 PE 色素の仕込み量と色素吸着量の関係

○:ヘクトライト、■:モンモリロナイト

図 49 に PE 色素/粘土鉱物複合体の外観写真を示す。PE 色素/ヘクトライト複合体では、色素の仕込み量を増やすにつれ、色が濃くなり、鮮やかな赤みを呈した。これに対してモンモリロナイトの複合体は色が薄く鮮やかさにも欠けるものであった。

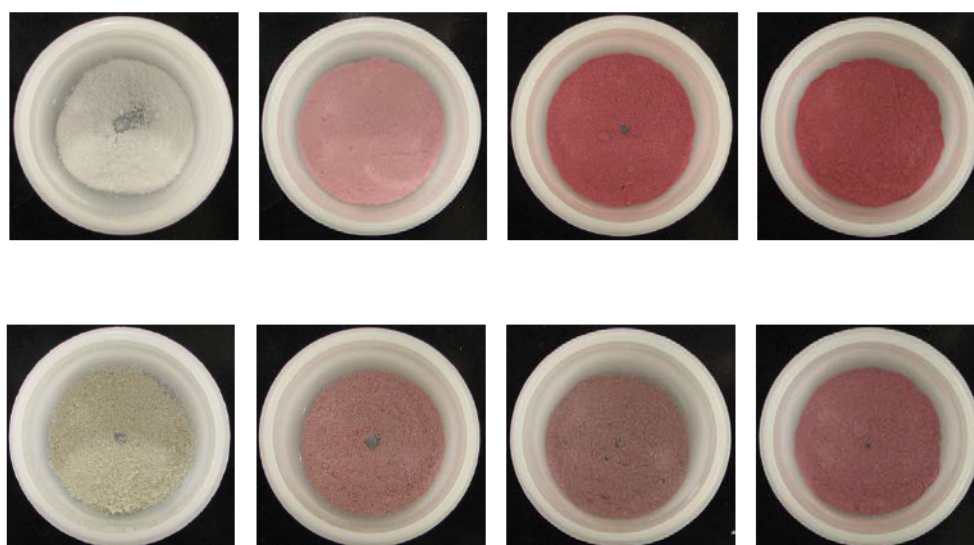


図 49 PE 色素/粘土鉱物複合体の外観

(上)PE 色素/ヘクトライト複合体

左:ヘクトライトのみ、左 2:PE 色素/ヘクトライト=10wt%、
右 2:PE 色素/ヘクトライト=30wt%、右:PE 色素/ヘクトライト=50wt%

(下)PE 色素/モンモリロナイト複合体

左:モンモリロナイトのみ、左 2:PE 色素/モンモリロナイト=10wt%、
右 2:PE 色素/モンモリロナイト=30wt%、右:PE 色素/モンモリロナイト=50wt%

4.3.4 フィコエリスリン色素/粘土鉱物複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル

色素/ヘクトライト複合体、色素/モンモリロナイト複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルを図 50 に示す。複合体中の色素の含有量が増加するにつれて、PE 色素の特徴的なピークである 495 及び 565 nm での強度が増加した。色素水溶液のスペクトルと比較すると(図 51)、フィコエリトロブリン(PE 色素の発色団の一つ)由来のピーク(565 nm)は、フィコウロブリン由来のピーク(495 nm)に比べて微弱になっていた。PE 色素水溶液が中性から塩基性に変化された場合には、545 と 565 nm の吸着ピークは減少するが 495 nm のピーク強度が変わらないことが報告されている[7]。粘土鉱物は

多くの金属陽イオンを含むため、複合体中の色素は塩基性条件下と似たような環境で存在しているのではないかと推察された。

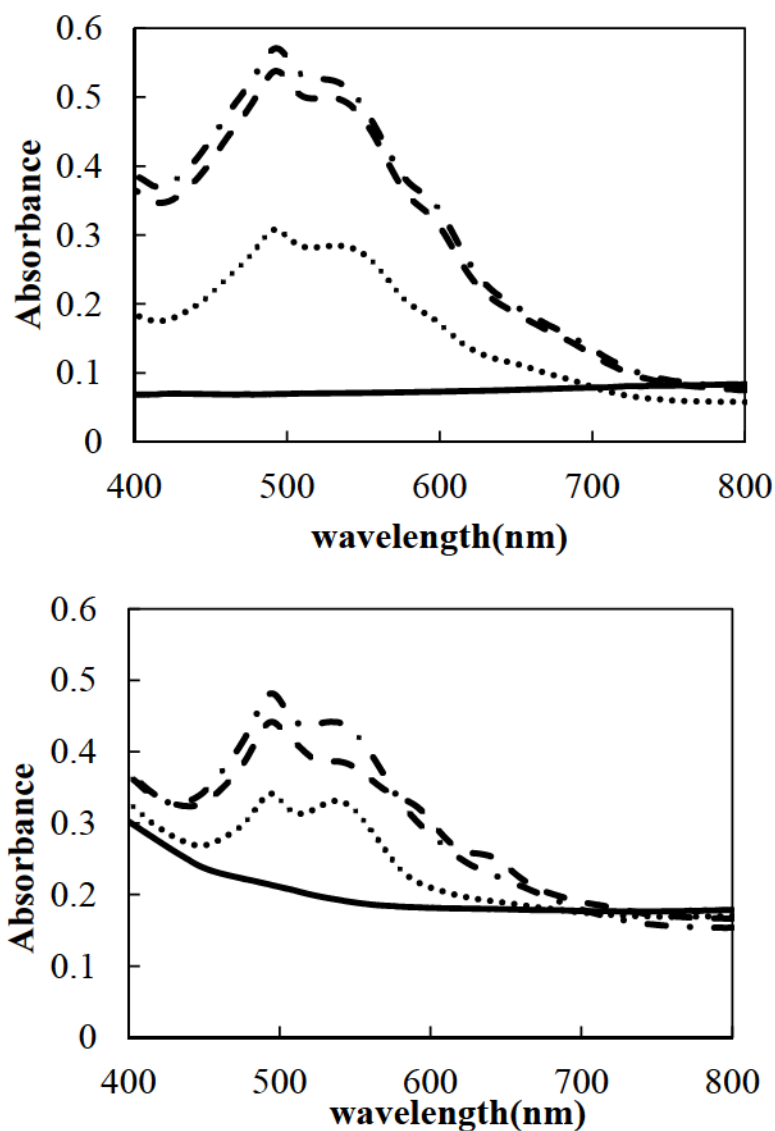


図 50 PE 色素/粘土鉱物複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル

(上)ヘクトライト複合体

実線:ヘクトライトのみ、点線:PE 色素/ヘクトライト=10wt%、

破線:PE 色素/ヘクトライト=30wt%、点破線:PE 色素/ヘクトライト=50wt%

(下)モンモリロナイト複合体

実線:モンモリロナイトのみ、点線:PE 色素/モンモリロナイト=10wt%、

破線:PE 色素/モンモリロナイト=30wt%、点破線:PE 色素/モンモリロナイト=50wt%

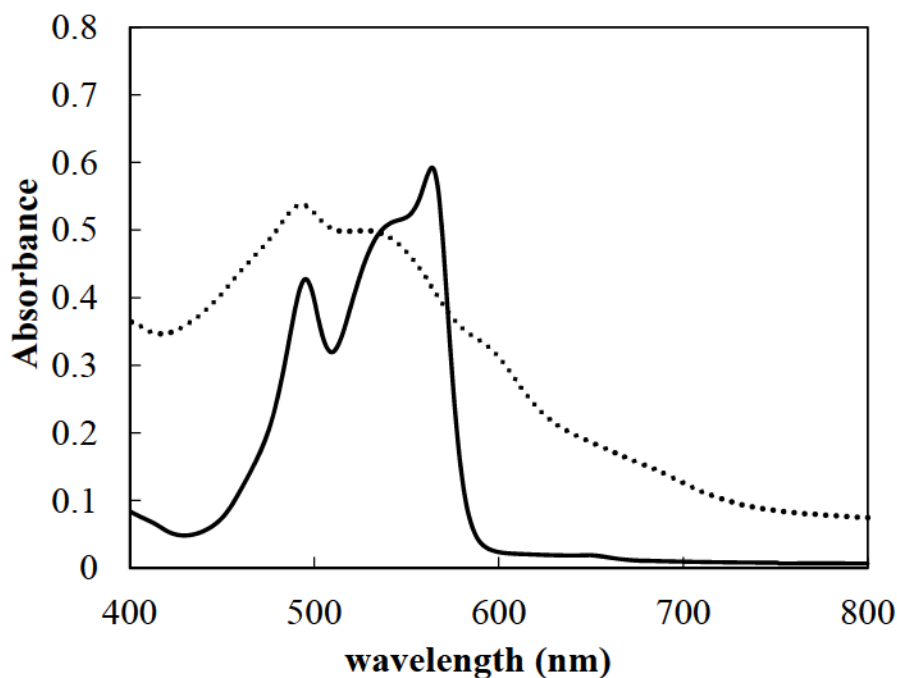


図 51 PE 色素/ヘクトライト複合体と溶液の UV-Vis スペクトル

実線:色素水溶液、点線:PE 色素/ヘクトライト複合体

4.3.5 色素水溶液の pH 及び塩添加の影響

色素水溶液からヘクトライトに吸着した色素量は、モンモリロナイトに吸着されたものよりもはるかに高かった(図 48)。この原因について解析をおこなった。

タンパク質の無機物質への吸着は、溶液の pH に影響されることが知られている。そこで、pH 緩衝液を用いて色素水溶液を調製し、色素の吸着量と水溶液の pH との関係調べた(図 52)。なお仕込みの色素/粘土鉱物の重量比を 10%とした。

同じ緩衝液を使用したにもかかわらず、モンモリロナイトとヘクトライトで吸着操作後の上澄み液の pH が異なった。モンモリロナイトの場合、上澄みの pH は色素吸着操作前後で同じであった。しかし、ヘクトライトの場合は、吸着操作後は塩基性(高 pH)にシフトした。

前述のように、ヘクトライトもモンモリロナイトもイオン交換水に分散させた際の上澄みの pH に差は無かった。それにも関わらず、今回の実験で pH に差が生じたのは、

合成粘土であるヘクトライト(強塩基条件で合成)から溶出したカチオンが緩衝液の pH に影響を与えたためではないかと考えられる。

PE 色素の等電点は 5.5 であるため、水溶液の pH が 5.5 より高い場合は、色素の表面は負に帯電しており、5.5 より低い場合は正に帯電する。一方、粘土鉱物は、層間に陽イオン交換サイト(常に負に荷電)を有している。従って、PE 色素は、塩基性条件下よりも酸性条件下で粘土層間に吸着しやすいと考えられる。実際、pH 値の低下につれて、粘土の種類に関わらず、色素の吸着量は増加する傾向が見られた。

ただし、ヘクトライト複合体の最大色素吸着量は、pH7.0(ヘクトライトを添加する前は pH4.3)で 9.9wt%であり、モンモリロナイト複合体では、pH4.3 で 4.1wt%であった。つまり緩衝剤によって酸性になったモンモリロナイト分散液でも、pH9 でヘクトライトに吸着した色素量の半分しかなかった。つまり、水溶液の pH 値は、粘土鉱物間での PE 色素の吸着量の差異に関与する主な要因ではないことがわかった。

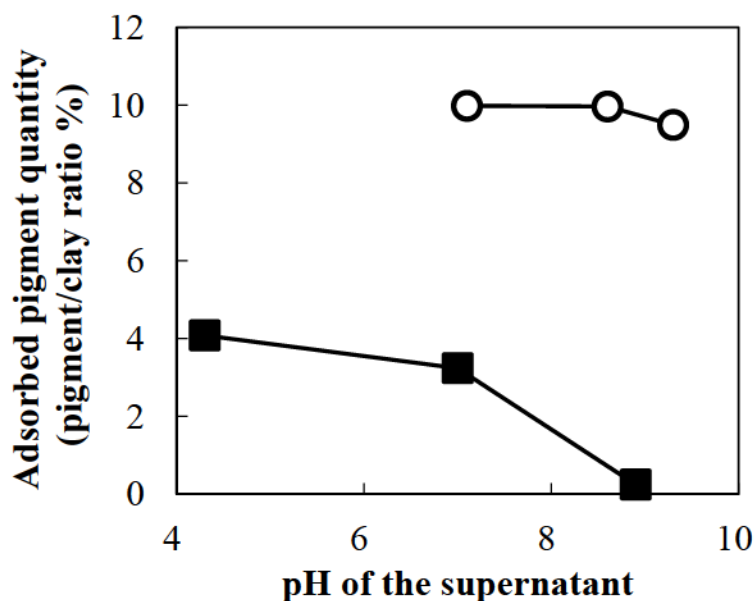


図 52 pH と PE 色素吸着量の関係

○:ヘクトライト、■:モンモリロナイト

前述のように(表 17)、ヘクトライトから水へと溶出する電解質量はモンモリロナイトからのものよりはるかに高かった。そこでPE色素水溶液への塩の添加の効果を調べた。図 53 に、色素水溶液の塩濃度及びモンモリロナイト複合体中への色素吸着量との関係を示した。

塩を含まない条件下では、溶液中のほぼ全ての色素がヘクトライトに吸着したが、モンモリロナイトへの吸着量は、仕込み色素量の半分以下に留まった。一方、塩の添加により、モンモリロナイト複合体の色素量は劇的に増加し、ヘクトライトへの吸着量とほぼ同じになった。この効果は、2 価の塩である Mg 塩の方が 1 価の塩である Na 塩より強かった。

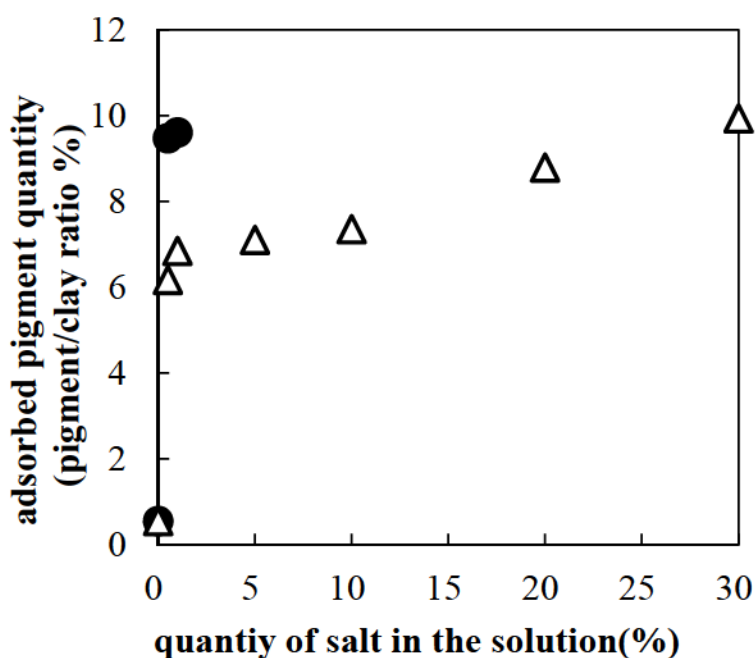


図 53 塩の添加と PE 色素のモンモリロナイトへの吸着量の関係

●:MgCl₂、△:NaCl

ところで、このような塩の添加作用は、溶液中で PE 色素を析出沈殿させている(塩析現象)だけであって、PE 色素は実際には粘土鉱物に吸着していないという懸念もある。そこで粘土鉱物を含まない状態で、塩化マグネシウムを飽和濃度まで色

素水溶液に添加してみたところ、PE 色素の析出や凝集は生じなかった。つまり、塩の添加によるモンモリロナイトへの色素吸着量の増加は、色素が析出沈殿したという見かけ上のものではないことが確かめられた。

以上の結果から、我々はPE 色素は疎水性相互作用によって粘土の表面または層間に吸着するものと考えており、色素水溶液への塩の添加効果は、色素の水への溶解(または分散性)を減少させ効果であると推察している。

4.3.6 塩添加時の PE 色素複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル

塩を添加して調製したモンモリロナイト複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルを、図 54 に示した。Mg 塩を用いた場合の方が、PE 色素の特徴的な吸光帯(495-565 nm)の強度が増加し、複合体の色はより鮮やかになった。これは二価の陽イオンによって PE 色素とモンモリロナイトとの疎水性相互作用が強くなり、高分散かつ安定に吸着したためであると考えられる。

ただし、天然物であるモンモリロナイトには鉄などの不純物が含まれるため、得られたモンモリロナイト複合体の外観はヘクトライト複合体より、ややくすんだ色味を示した。この特性は色材としての実用上あまり好ましくない。そのため、これ以降の特性評価および性能試験はヘクトライトのみを用いて行われた。

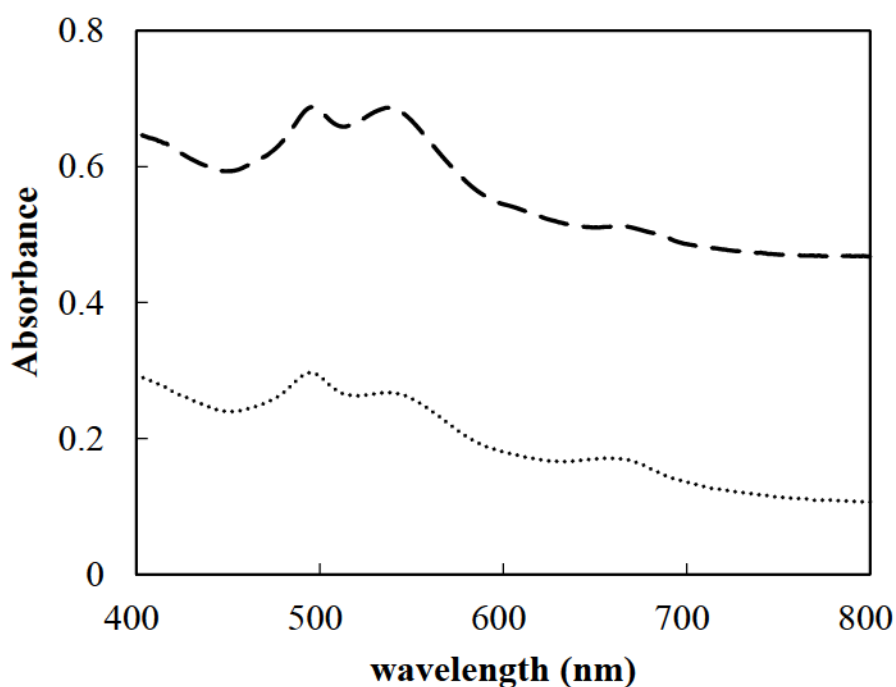


図 54 塩を添加して調製したPE 色素/モンモリロナイト複合体のUV-Vis 拡散反射スペクトル

点線:NaCl 30%添加、破線:MgCl₂ 1%添加

4.3.7 色素/ヘクトライト複合体の構造

ヘクトライト複合体の X 線回折パターンを、図 55 に示した。 $2\theta = 7^\circ$ ($d=1.0$ nm) で粘土鉱物の層間由来のピークが観察された。アントシアニンなどの低分子の色素が粘土鉱物の層間に吸着する場合、吸着した分子の大きさに従って層間が広がるため、このピークは低角度側にシフトし、ピーク強度は弱くなる傾向が見られる[51]。PE 色素でも吸着する色素の量が増加するにつれて、このピーク強度は徐々に減少し、ピーク位置はわずかながら低角度へとシフトした。ただし、この層間距離の変化は約 0.4 nm で、PE 色素の分子サイズは 5~8 nm であることから、このピークシフトは色素の層間への入り込みに直結するものではないと考えられる。つまり、低分子色素であるアントシアニンなどとは異なり、色素タンパクである PE 色素は、規則正しく

粘土の層間に配列して取り込まれているわけではないことを示している。

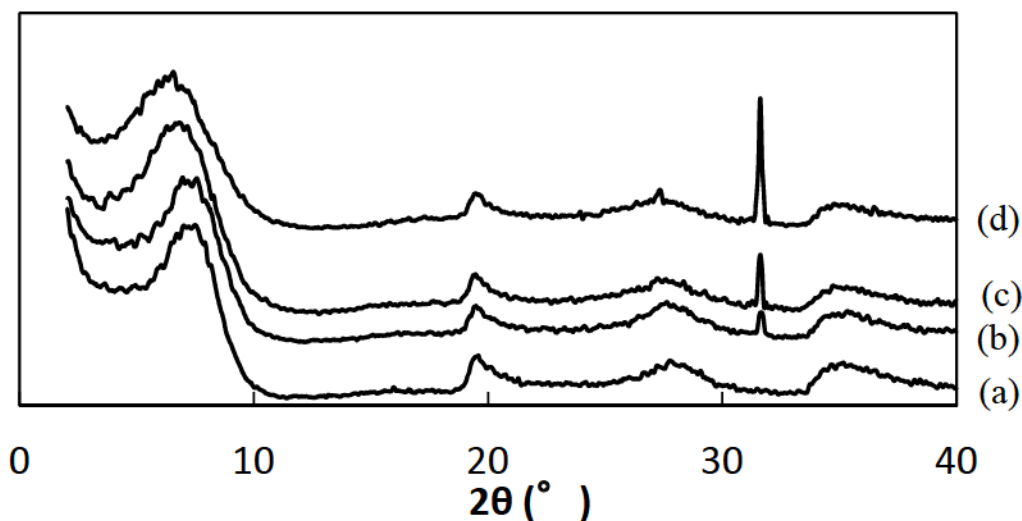


図 55 色素吸着量の変化に伴う、PE 色素/ヘクトライト複合体の X 線回折パターン
の変化

- (a) ヘクトライトのみ、(b) 色素/ヘクトライト=10wt%、
(c) 色素/ヘクトライト=30wt%、(d) 色素/ヘクトライト=50wt%

一方、 $2\theta = 32^{\circ}$ ($d=0.27$ nm) には色素/ヘクトライト複合体のみにみられるピークが観察された。このピークの強度は、吸着した色素量の増加に伴って強くなった。このピークの由来は現段階でははっきりとはしないが、PE 色素をシリカゲルの表面に付着させた場合、あるいは界面活性剤のみをヘクトライトへと付着させた場合(色素は含まない)、このピークは観察されなかった。つまり、色素とヘクトライトを複合化した際にのみこのピークが観察された。これらの結果から、少なくとも、色素がヘクトライトに吸着している状態は、色素がシリカゲルなどの表面に単純に付着している状態とは異なると言える。

図 56 に PE 色素/ヘクトライト複合体の蛍光顕微鏡像を示した。ヘクトライトが存在している部分は均一な蛍光を発していたが、それ以外の部分は蛍光が観察されなかった。

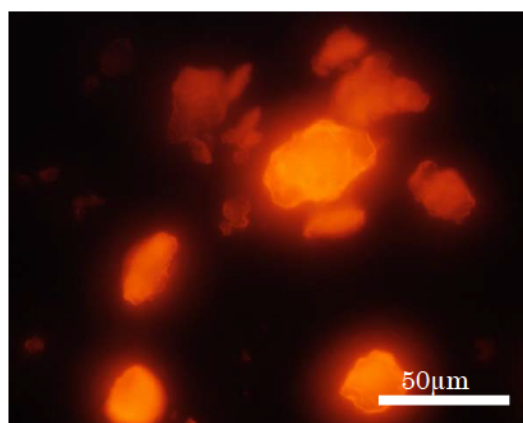


図 56 PE 色素/ヘクトライト複合体の蛍光顕微鏡観察像(色素濃度 10wt%)

以上の結果により、我々は色素複合体の形成は以下のようなものであると推察している。まず、疎水性相互作用により、PE 色素は水溶液に解膠した粘土シートの表面に吸着し、均一な顔料/粘土複合体が生じる。この複合体は乾燥にともなって、色素は粘土のシートの壁に囲まれるような状態で粉体になっている。という機構である。

ヘクトライトがこのような状態で複合体中に存在しているかどうかを透過型電子顕微鏡(TEM)で調べた(図 57)。厚さ 3-5 nm のヘクトライト壁で囲まれた多くの空洞(5-10 nm)が観察された。壁は何層かのヘクトライトシートで構成されているようにみえた。フィコエリスリン色素の画像は、この観察方法では検出できないが、我々はおそらく色素がこの空洞内に存在すると推定している。

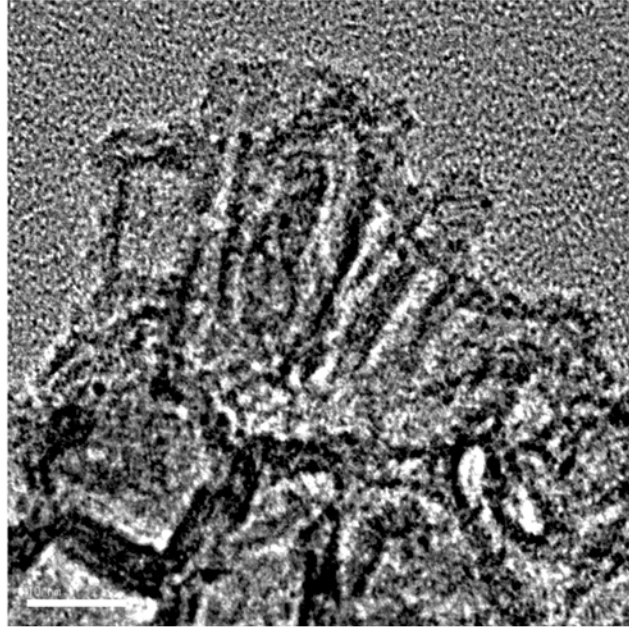


図 57 PE 色素/ヘクトライト複合体透過型電子顕微鏡観察像

4.3.8 色素/粘土鉱物複合体の蛍光スペクトル

PE 色素/ヘクトライト複合体の蛍光スペクトルを図 58 に示した。濃度の異なるすべての PE 色素/ヘクトライト複合体で、495, 565 nm にピークがみられた。また、色素の量が増加するにつれ、微弱な蛍光発光ピークが 600 nm にも現れた。このように明瞭な蛍光ピークが観察されたことから、本研究の目的である、海藻由来の蛍光粉末を得ることがまずは達成されたことが確認された。

ところで、フィコエリスリン水溶液の場合では、580 nm に単一の蛍光発光が観察される[13]。このような複合体と色素水溶液でのスペクトル形状とピーク位置の差は、色素とヘクトライトの間になんらかの相互作用があることを示唆しているといえる。

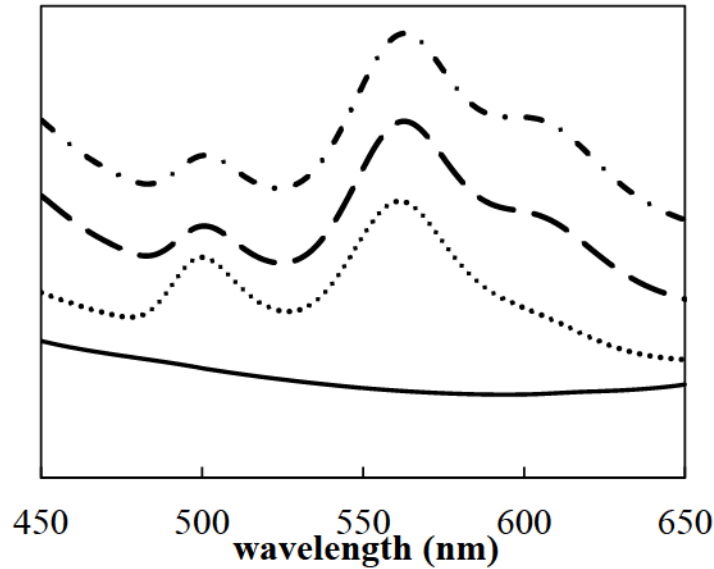


図 58 PE 色素/ヘクトライト複合体蛍光スペクトル

実線:ヘクトライト、点線:色素/ヘクトライト複合体=10wt%、

破線:色素/ヘクトライト複合体=30wt%、点破線:色素/ヘクトライト複合体=50wt%

4.3.9 複合体の安定性

PE 色素/ヘクトライト複合体(色素/ヘクトライト複合体=50wt%)に可視光を照射した際の耐光性と 60℃での耐熱性を調べた。UV-Vis 拡散反射スペクトルでのフィコエリスリンの特有ピークである 565 nm の吸光度の変化を、図 59 及び図 60 に示した。比較のため、PE 色素を多孔質シリカの表面に付着させたものも調製し、評価した。

耐光性試験では、多孔質シリカ複合体のピーク強度は 600 分で 56%まで減少した。一方、ヘクトライト複合体のピーク強度は 81%を維持した。

耐熱性試験では、比較試料は、600 分で 53%まで減少した。それに対し、ヘクトライト複合体では全く減少しなかった。

粘土への吸着した天然色素(例えば、アントシアニン)は、酸化の抑制または静電的相互作用によって、色素単独よりも安定性が向上することが報告されている[20]。我々は、PE 色素とヘクトライトの複合化でも、同様な機構によって熱や光に対して安

定性が向上したものと推察している。

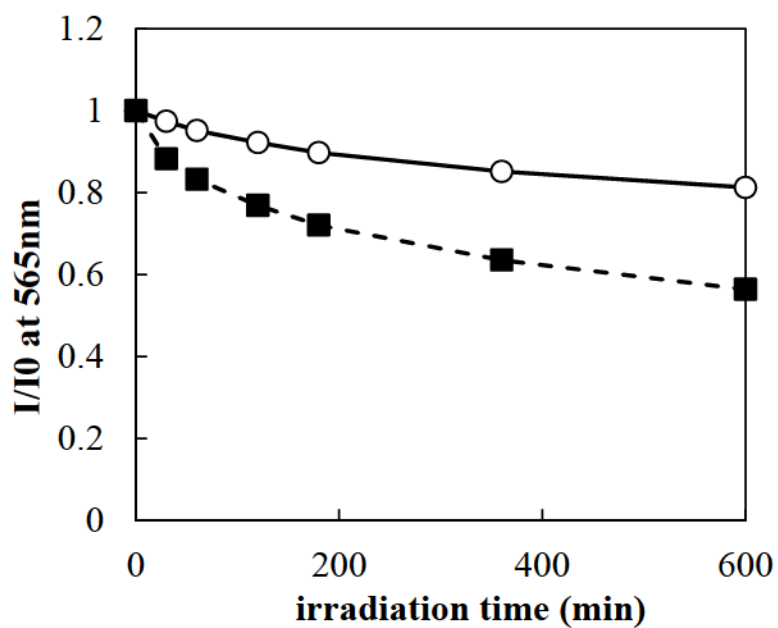


図 59 可視光照射下での複合体の吸光度変化

○:PE 色素/ヘクトライト複合体、■:PE 色素/多孔質シリカ複合体(比較試料)

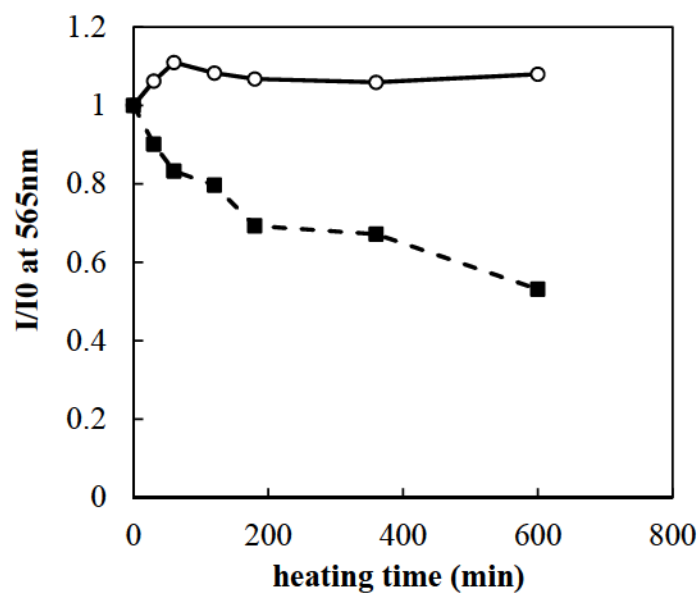


図 60 60°C加熱による複合体の吸光度変化

○:PE 色素/ヘクトライト複合体、■:PE 色素/多孔質シリカ複合体(比較試料)

4.4 結論

フィコエリスリン色素(PE 色素)は天然のモンモリロナイトより合成のヘクトライトへの高い吸着を示した。この差異は粘土鉱物の層間に含まれる塩の量に由来するものと考えられ、色素水溶液への塩の添加によってモンモリロナイトへも色素が吸着させることができた。ただし合成ヘクトライトは、モンモリロナイトより透明性が高く、そのため色素との複合体も、より鮮明な発色であった。つまり、PE 色素に対して、ヘクトライトはより適した無機担体であるといえた。

得られた PE 色素/ヘクトライト複合体は、蛍光を示し、さらに、PE 色素の重大な欠点である耐熱性、耐光性の改善が確認された。

第5章 フィコエリスリン色素のシリカ粒子への吸着と安定化

5.1 緒言

第4章において、フィコエリスリン色素と粘土鉱物であるヘクトライトとで複合化を行い、色素が高濃度吸着した着色粉体を得ることができた。しかし、ヘクトライトは水分が加わると膨潤してペースト状に変化する性質があり、色材としての応用が困難である。そこで、膨潤性がなく水に分散しやすい無機粉体として、多孔質シリカを用いてフィコエリスリン色素との複合化を行った。

5.2 実験

5.2.1 原料

香川県産食用海藻を、フィコエリスリン色素(PE色素)の原料として使用した。無機担体としては、球状多孔質シリカ(サンスフェア H-32、AGC SI セスアイテック株式会社製)を使用した。カタログ記載の試料の物性は、平均粒子径 3 μm 、比表面積 700 m^2/g 、平均細孔直径 25 nm である。

5.2.2 色素抽出

PE色素は、アニオン性界面活性剤(ドデシルトリメチルアンモニウムブロミド、和光純薬、12TMABr)を用いる方法で海苔より分離精製した[15]。

生海苔 50 g とイオン交換水 200 mL をキッチンミキサー(Tescom TML160)に入れペースト状に粉碎した。ペースト状にした海苔は、ホモジナイザー(AS ONE AHG-160A)を用いてさらに細かく砕いた。その後、遠心分離をし、吸引濾過(桐山濾紙 No.5C を使用)を行った。C12TMABr(0.4 g、和光純薬社製)を得られた濾液に添加し、均一攪拌後、溶液を1時間室温で放置した。色素溶液中に生成した凝集物は、

遠心分離および濾過により除去した。

その後、溶液中の C12TMABr を除去するために、透析を行った。濾液をセロファン透析チューブ(孔径 2.4 nm)に移し、イオン交換水(1 L)中に 5 時間攪拌した。1 時間毎にイオン交換水の入れ替えをおこなった。最後に、色素水溶液を入れたチューブを乾燥剤であるカルボキシメチルセルロースのナトリウム塩粉末(Aquacide II、和光純薬)に埋め込み、チューブ中の水を可能な限り除去して PE 色素を濃縮した。

なお、得られた水溶液の色素濃度は、溶液中の色素の乾燥重量と溶液の吸光度(565 nm)の比例関係式から算出した。

5.2.3 多孔質シリカの疎水性表面処理

エタノール処理は以下のようにおこなった。多孔質シリカ 5.0 g をエタノール 200 mL に浸漬させ、これをテフロン製耐圧容器に入れ、電気炉で 140°C、48 時間熱処理にかけた。その後、500 mL のイオン交換水での水洗と濾過を 3 回行い、90°C で乾燥させ、メノウ乳鉢を用いてすり潰して使用した。

プロパノール処理は、5.0g の多孔質シリカをプロパノール 200 mL に浸漬させ、これをスターラーで攪拌しながら還流条件で、48 時間加熱することによりおこなった。その後、500 mL のイオン交換水での水洗と濾過を 3 回行い、90°C で乾燥させ、メノウ乳鉢を用いてすり潰して使用した。

5.2.4 複合体の調製

PE 色素/多孔質シリカの重量比率が 10、30、50%になるように濃度を調整した PE 色素水溶液 15 mL に多孔質シリカ 0.5g を添加し、20 分間超音波洗浄機(AS ONE US-2R)を用いて分散させた。この分散液を 5°C にて 24 時間静置した後、遠心分離にかけて沈殿物を取り、室温減圧条件で一晩以上乾燥させることによって調製した。

色素水溶液に多孔質シリカを添加する前後の、溶液の UV-Vis 吸光スペクトルを

測定し、565 nm の吸光度の変化から多孔質シリカへの色素吸着量を計算した。

pH 変化による色素吸着量の変化を観察するため、異なる pH の色素水溶液を用いて色素複合化を行った。pH の調整は、クエン酸緩衝液(pH4.3)、リン酸緩衝液(pH7.0)、グリシン水酸化ナトリウム緩衝液(pH9.0) (全て和光純薬製)を用いた。色素濃度は色素/多孔質シリカ=30wt%で行った。

カチオン添加による色素吸着量の変化を測定する実験は以下の様におこなった。色素仕込み量(色素/多孔質シリカ)を 10 wt%に調製した色素水溶液に、塩化ナトリウムまたは塩化マグネシウム (和光純薬工業製)を多孔質シリカに対して 3~15wt% 量添加して行った。

5.2.5 複合体のキャラクタリゼーション

色素水溶液の UV-Vis 吸光スペクトルは分光光度計(JASCO V-650)を用いて測定した。また粉体の UV-Vis 拡散反射スペクトルは積分球(JASCO ISV-722)装置を装着して分光光度計(JASCO V-650)で測定した。スペクトルは粉体の吸光度で表示した。

蛍光スペクトルは、JASCO FP-6200 で測定した。励起光は 350 nm に設定した。

PE 色素複合体の蛍光顕微鏡画像は、500~575 nm の励起光を使用し、KEYENCE 社製の蛍光顕微鏡 VB6000/6100 を用いた。

カーボンコーティング(JEOL JEE-420)で試料表面にカーボン蒸着をした後、透過型電子顕微鏡(TEM, JEOL3200FS)を用いて試料の形状を観察した。加速電圧は 300kV とした。

イオンコーターで試料表面にカーボン蒸着をした後、走査電子顕微鏡(SEM)(JEOL JSM-6060LV)を用いて試料の形状を観察した。

5.2.6 安定性試験

耐光性試験は、光源には、100 W ハロゲンランプ(Schott Megalight 100)を用いた。複合体試料を拡散反射スペクトル測定用粉体セルに入れ、100 W ハロゲンランプを用いて粉体セルの直上より照度 $E=10 \text{ klx}$ で可視光を照射した。照度は、照度計(LIGHT METER, AS ONE LM332)で調整した。試料に対し、室温で 10 時間照射し、規定時間毎に粉体の UV-Vis 拡散反射吸光スペクトルを測定した。照射による退色の程度は、UV-Vis 拡散反射スペクトルの強度変化(565 nm)により評価した。

5.3 結果及び考察

5.3.1 多孔質シリカへのフィコエリスリン色素の吸着

濃度を変えたフィコエリスリン色素(PE 色素)水溶液を用いて多孔質シリカの複合化を行い、吸着を測定した。

図 61 は色素溶液濃度を変えた場合の色素/多孔質シリカ複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルである。色素の仕込み量を上昇させると PE 色素特有の 495 nm と 565 nm の吸収強度が上昇した。図 62 のように外観も濃い赤色へと変化した。

多孔質シリカへの吸着にともなう色素溶液の吸光度変化より求めた色素の吸着量を表 18 に示した。色素仕込み量(溶液の色素濃度)を増やすに連れて吸着量は増加したものの、仕込み量が 50wt% の場合でも実際の吸着量は半量程度の 26.2wt% に留まった。これは溶液中の PE 色素のほぼ全量が担体へと吸着する合成ヘクトライトとは異なった。

吸着量はやや少ないものの、静置状態で色素が溶液から多孔質シリカへと積極的に吸着する機構としては、静電的相互作用と疎水性相互作用が考えられる。静電的相互作用に関しては、永久電荷をもつ粘土鉱物とは異なり、シリカの場合は表面電荷(ζ 電位)しか存在せず、また全ての pH 範囲で負電荷を有することが知られてい

る。そこで静電的相互作用での吸着には、PE 色素の表面電荷(正帯電が必要)が重要であると推察された。

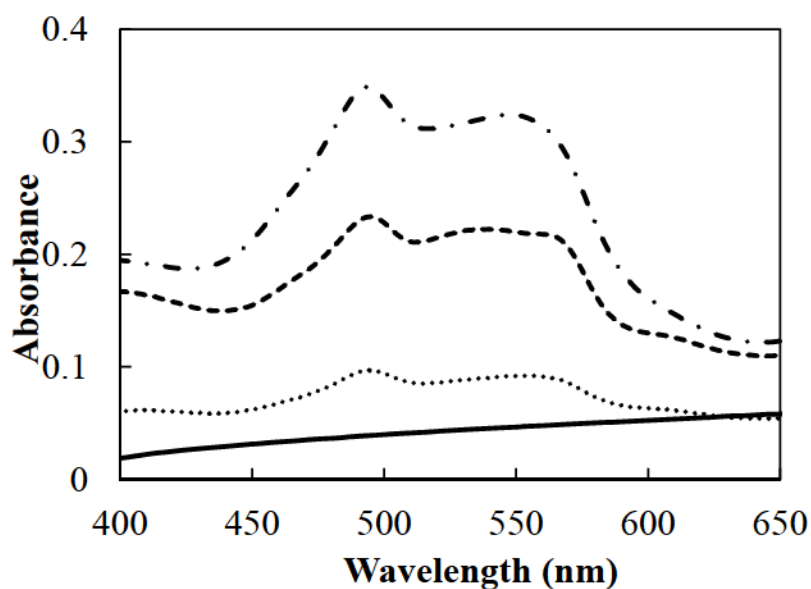


図 61 PE 色素/多孔質シリカ複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル

実線:多孔質シリカのみ、点線: PE 色素/多孔質シリカ=10wt%、

破線: PE 色素/多孔質シリカ=30wt%、点破線: PE 色素/多孔質シリカ=50wt%

表 18 仕込み量と複合体の色素吸着量

| 仕込み量 (PE 色素/多孔質シリカ wt%) | 複合体の色素吸着量 (PE 色素/多孔質シリカ wt%) |
|----------------------------|---------------------------------|
| 10 | 1.4 |
| 30 | 7.3 |
| 50 | 26.2 |



図 62 PE 色素/多孔質シリカ複合体の外観

左:仕込み比 10wt%、中央:仕込み比 30wt%、右:仕込み比 50wt%

5.3.2 色素水溶液の pH の影響

多孔質シリカおよび色素の表面電荷を変化させて色素吸着量を上昇させることを目的に、色素水溶液の pH を調整して複合体を作製した。複合体の色素吸着量を表 19 に示す。なお色素仕込み量(色素/多孔質シリカ)は 30wt%とした。

表 19 pH と PE 色素吸着量の関係

| pH | 複合体の色素量 |
|-----|------------------|
| | (PE 色素/多孔質シリカ %) |
| 4.2 | 29.8 |
| 7.0 | 10.0 |
| 9.1 | 2.4 |

pH が低くなると色素吸着量は上がり、pH4.2 でほぼ仕込みの色素の全量が吸着し、吸着操作後の色素水溶液は透明であった。逆に pH を 9.1 にすると色素吸着量は著しく低下した。図 63 に pH 別の PE 色素/多孔質シリカ複合体の写真を示す。pH4.2 の条件で調製した複合体は、イオン交換水のみ (pH 約 6.3) で調製したものよりも色が濃く鮮やかな外観を示した。



図 63 PE 色素/多孔質シリカ複合体の外観

左:pH4.2、中央:pH7.0、右:pH9.1

等電点電気泳動で求めた PE 色素の等電点は 5.5 であることから、これよりも低い pH では色素は正に帯電しており、負電荷のシリカ表面へと吸着しやすいと考えられる。また pH が等電点より大きい中性～塩基性条件では、色素は負に帯電しており、色素吸着はおこりにくいと考えられる。このように静電的相互作用(表面電荷)による吸着機構は、pH を変えた際の PE 色素の吸着挙動と矛盾はなかった。

5.3.3 色素水溶液の塩添加の影響

もうひとつの色素吸着機構として、疎水性相互作用が考えられる。色素タンパクである PE 色素はコロイド粒子とみなすことができることから、疎水性相互作用による担体への吸着を効率よくおこさせるためには、色素の溶解度の低下と担体と色素の表面電荷反発の低減(電気二重層の厚さの低下[52])が効果的であると考えられる。これらはともに、電解質の添加によって可能である。そこで、PE 色素水溶液への各種塩の添加効果を調べた。なお色素仕込み量(PE 色素/多孔質シリカ)は 10wt%とした。

色素吸着量と色素水溶液への塩の添加量の関係を図 64 に示す。

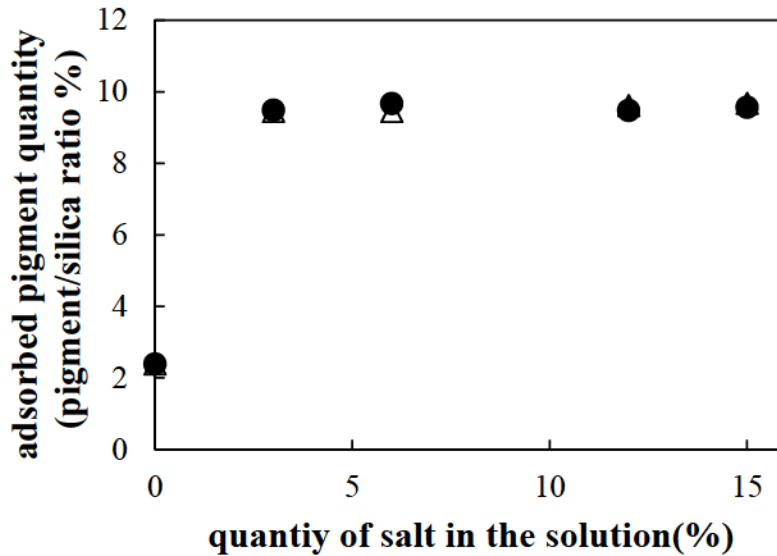


図 64 塩の添加と PE 色素の多孔質シリカへの吸着量の関係

●:NaCl の添加、△:MgCl₂ の添加

塩を添加せずに複合体を作製した場合は、色素吸着量がわずか 2.4%であったが、塩を添加することにより仕込みの色素のほぼ全て(9.5%以上)を吸着することができた。吸着後の上澄み液は透明になった。

ただし、塩の添加によって色素粒子が凝集して沈殿をおこす場合(塩析現象)も、上澄みは透明になり、見かけ上多孔質シリカへの吸着量は増加してしまう。そこで多孔質シリカがない状態で、PE 色素水溶液に塩化ナトリウムまたは塩化マグネシウムを飽和濃度にまで添加したところ、沈殿などは生成しないことを確認した。つまり、色素は多孔質シリカとは別の場所で沈殿を起こしているのではなく、シリカに吸着しやすい状態になっただけであると考えられる。

電解質の添加は電気二重層の厚みの低減などに効果があるが、その効果はイオン価数が大きいものほど大きいことが知られている。粘土鉱物であるモンモリロナイトへの PE 色素の吸着は 2 価のカチオンの塩である塩化マグネシウムの方が、塩化ナトリウムよりも少量添加で色素吸着量向上効果を示した(第 4 章)。しかしながら、多孔質シリカを用いた今回の検討では、価数の違いによる明瞭な差は確認されなかつ

た。

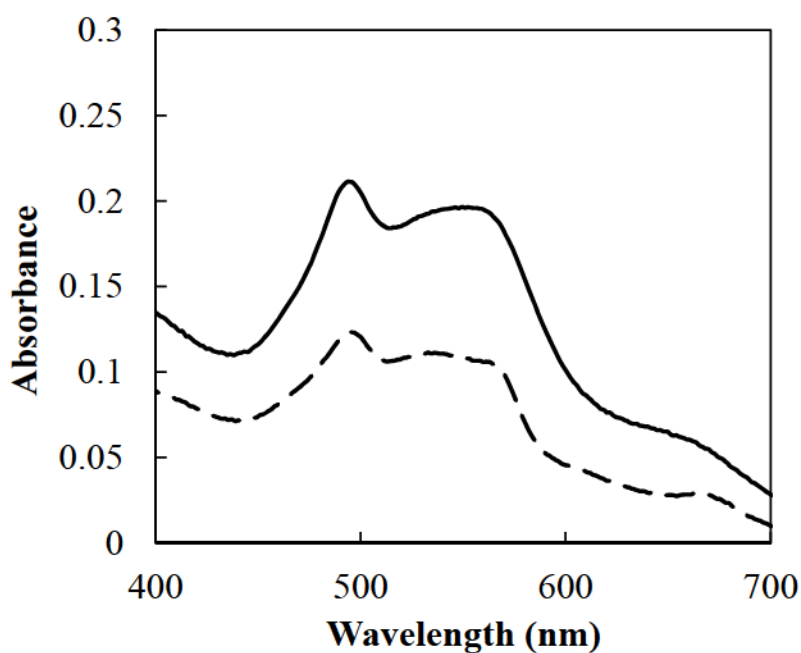


図 65 PE 色素/多孔質シリカへの塩添加複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル

実線:NaCl、破線:MgCl₂

図 65 に塩を添加して調製した多孔質シリカ複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルを示した。PE 色素の特徴である 495-565 nm で吸光帯は Mg 塩および Na 塩を添加して調製した複合体でも観察できた。

図 66 に塩を添加して調製した複合体の外観を示す。塩の種類で色味に大きな差はなく、いずれも淡い赤色を示していた。



図 66 塩添加で調製した PE 色素/多孔質シリカ複合体の外観

左:塩添加なし、中央:NaCl 6%添加、右:MgCl₂ 6%添加

5.3.4 多孔質シリカの疎水化の影響

塩の添加実験から、色素と多孔質シリカの複合化は、シリカ表面がやや疎水的であることによって、PE色素が吸着するという機構が示差された。疎水性相互作用による吸着機構をさらに効率良くおこなうためには、シリカ表面を疎水化処理する方法が考えられる。そこで、表面シラノールとアルコールを脱水反応させる、エタノール処理とプロパノール処理をおこない、色素水溶液のpHと色素吸着量の関係を調べた(図67)。なお色素仕込み量(色素/多孔質シリカ)は10wt%とした。

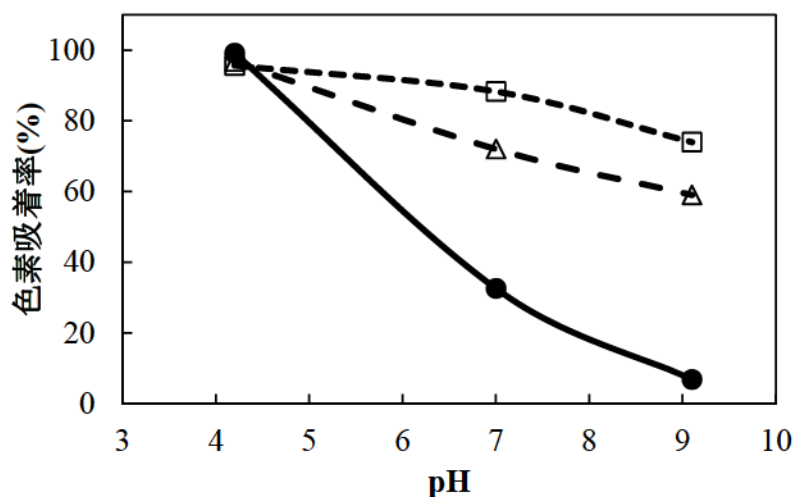


図 67 疎水性表面処理と PE 色素吸着量の関係

- : 未処理多孔質シリカ、△: エタノール処理多孔質シリカ、
- : プロパノール処理多孔質シリカ

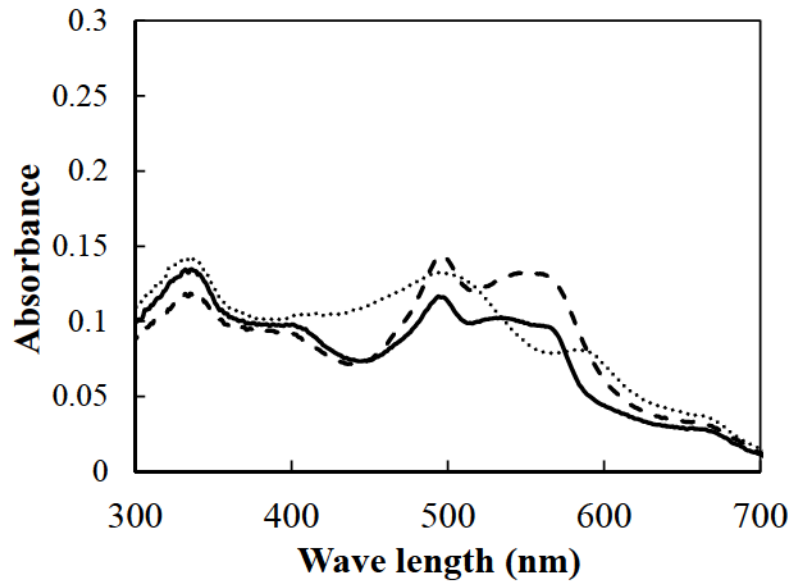


図 68 PE 色素/エタノール処理多孔質シリカ複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトル
 実線:pH4、破線:pH7、点線:pH9

未処理多孔質シリカの場合は、pH7.0、H 9.1 での吸着率は低かったが、有機修飾したエタノール処理およびプロパノール処理品は、これらの pH でも比較的色彩吸着量の高い複合体を得ることができた。ただし、低 pH で調製したものがいずれの多孔質シリカでも最も吸着量が多くなっており、疎水性相互作用よりは表面電荷による静電的相互作用の方が吸着には重要であることが推察された。

効果の点では、プロパノール処理の方がエタノール処理よりも色素吸着率が高かった。これは、エタノールとプロパノールの炭素鎖の長さによる疎水性の差も原因として考えられるが、IR で残存-OH の量を定性的に見積もったところ、プロパノール処理の方が-OH が少なかったことから、未反応-OH の量の差による可能性も考えられる。

色素/エタノール処理多孔質シリカ複合体の UV-Vis 拡散反射スペクトルをに示した。pH の減少につれ、PE 色素の特徴的な吸光帯 (495-565 nm) の強度が増加し、複合体の色はより鮮やかになった。図 69、図 70 に各有機処理多孔質シリカとの複合体の外観を示した。pH4.2、7.0 の各有機修飾での複合体は、色の濃淡の差はあ

るものの、いずれも淡い赤色を示していた。しかしながら pH9.1 での複合化の場合は、赤みが失われ黄色の外観をしていた。フィコエリスリン色素は塩基性で変色しやすいとされていることから[20]、pH9.1 では色素の吸着はおこるものの、PE色素本来の色味の複合体は得られないことがわかった。



図 69 PE 色素/エタノール処理多孔質シリカ複合体の外観

左:pH4.2、中央:pH7.0、右:pH9.1



図 70 PE 色素/プロパノール処理多孔質シリカ複合体の外観

左:pH4.2、中央:pH7.0、右:pH9.1

5.3.6 蛍光発色

鮮やかな赤色の複合体が得られる条件として、色素水溶液の pH を弱酸性にすること、NaCl などの電解質の添加、プロパノール処理など多孔質シリカの疎水化であることがわかった。続いてこれら得られた PE 色素/多孔質シリカ複合体が蛍光発色するかの確認を行った。

まず、色素水溶液の蛍光スペクトルを図 71 に示す。色素水溶液の蛍光スペクト

ルは、580nm に蛍光発色を示している。これは、フィコエリスリン特有の蛍光発光波長と一致する[13]。

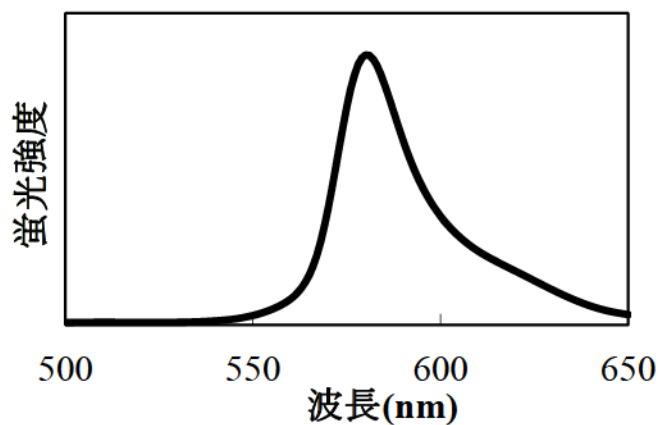


図 71 PE 色素水溶液の蛍光スペクトル

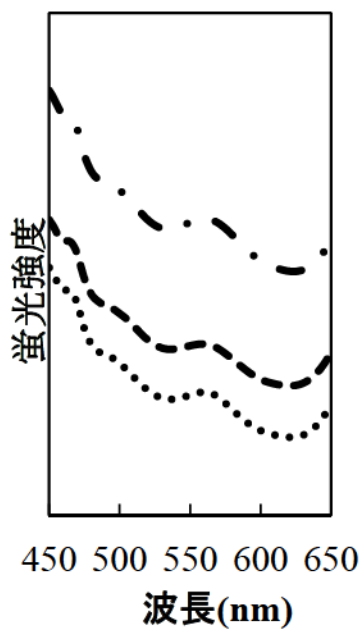


図 72 PE 色素/多孔質シリカ複合体の蛍光スペクトル
上:pH4 でプロパノール処理、pH4 で表面処理せず、
下:6%NaCl 添加で表面処理せず

続いて、得られた PE 色素/多孔質シリカ複合体の拡散反射蛍光スペクトルを図 72 に示す。色素仕込み量(色素/多孔質シリカ)10wt%の希薄な条件での調製なので強度は弱いものの明瞭な蛍光発色ピークが観察された。ピーク位置は 565nm 付近で、色素水溶液と複合体ではピーク位置がシフトしていることから、色素と担体間でなんらかの相互作用がはたらいっていることが示差された。

また、以下図 73 のように、ブラックライトを照射した PE 色素/多孔質シリカ複合体の外観からも PE 色素特有の橙色の蛍光発色が確認できた。これらのことより、PE 色素と多孔質シリカの複合化により蛍光発色を有する粉体を得られることが確認された。

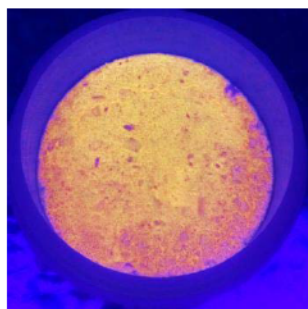


図 73 PE 色素/多孔質シリカ複合体の紫外光下での蛍光発色外観
(NaCl 添加、疎水性表面処理未処理の多孔質シリカ)

5.3.5 色素/多孔質シリカ複合体の状態

1) 走査型電子顕微鏡(SEM)による観察

蛍光発色を有する NaCl 添加の多孔質シリカ(疎水性表面処理はおこなわず)による複合体について、その粒子の状態を観察した。

複合体の SEM 画像を図 74 に示す。シリカ粒子の凝集状態および粒子の表面状態とも、色素吸着(複合化)の有無による明瞭な差は観察されなかった。

また、色素に含まれている硫黄元素で元素分析マッピングを行い色素の存在部分

の解析を試みたが、色素に含まれている硫黄元素が微量であるため、存在の状態は確認できなかった。

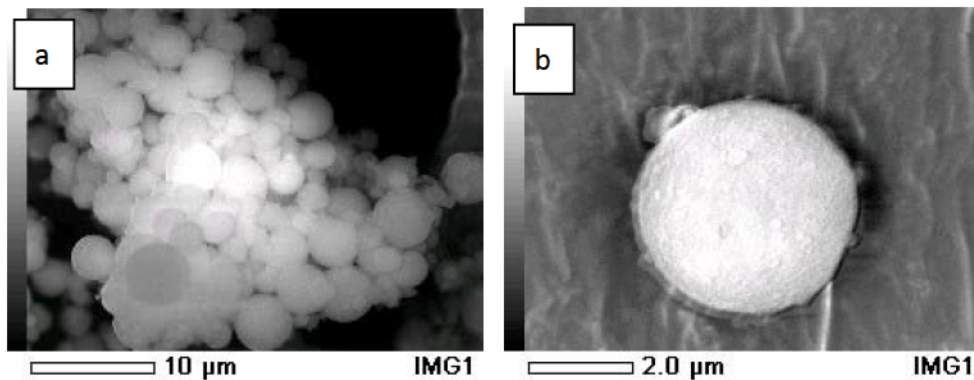


図 74 PE 色素/多孔質シリカ複合体走査型電子顕微鏡観察像

a:倍率 3300 倍、b:倍率 14000 倍

2) 透過型電子顕微鏡(TEM)による観察

色素/多孔質シリカ複合体の TEM 画像を図 75 に示す。多孔質シリカは一次粒子の集合であることが確認できた。予想されていたことであるが、色素吸着の有無による像の差は見られなかった。また、元素分析マッピングを行ったが、SEM 観察同様に色素の確認はできなかった。

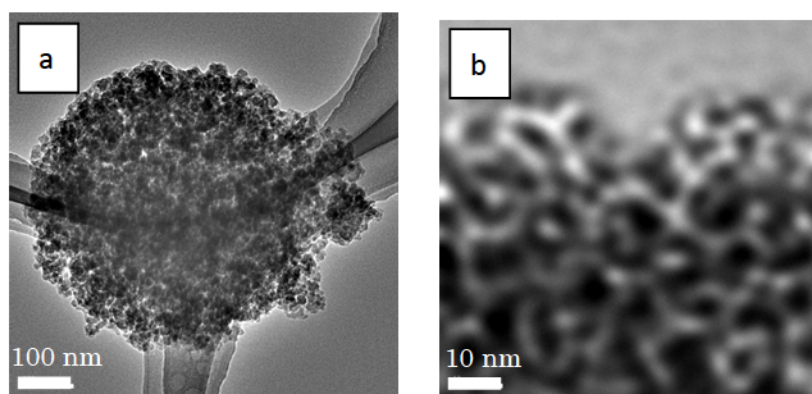


図 75 PE 色素/多孔質シリカ複合体透過型電子顕微鏡観察像

b) は a)の拡大図

3) 蛍光顕微鏡による観察

続いて、蛍光顕微鏡を用いて PE 色素が色素/多孔質シリカ複合体のどこに存在しているのかを観察した。今回は観察しやすいように、今まで実験で用いていた 3 μm の多孔質シリカに代えて、平均粒径が 100 μm の多孔質シリカを使用して NaCl 添加条件で複合体を作製し観察した。図 76 に緑の励起光(G フィルター)により観察された像を示す。

多孔質シリカ粒子はオレンジ色の蛍光発色体として観察された。多孔質シリカ以外の部分に蛍光発色は観察されなかったこと、また粒子は均一に発光していることから、PE 色素は多孔質シリカに均一に吸着していると思われる。

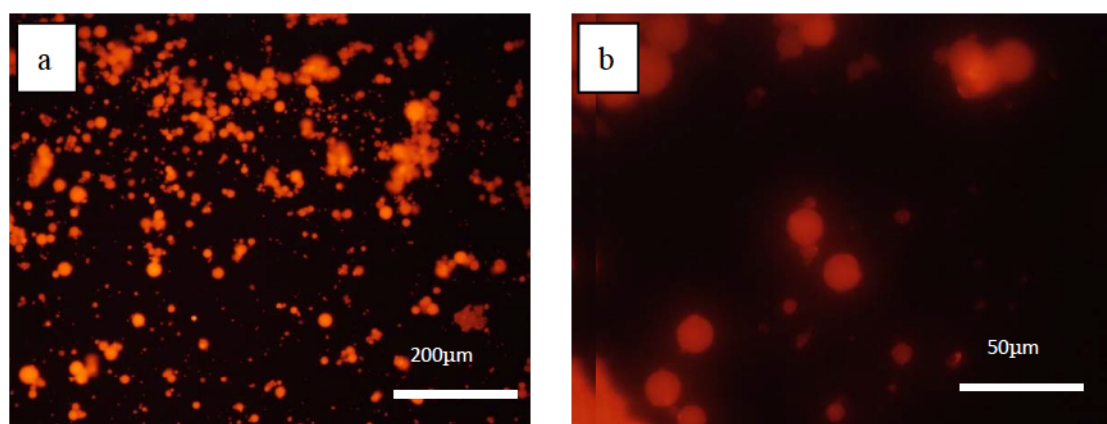


図 76 PE 色素/多孔質シリカ複合体蛍光顕微鏡観察画像

b) は a)の拡大図

5.3.7 複合体の安定性

以上の検討から、色濃度が濃く、蛍光発色を有する複合体が得られたことがわかった。続いて色素が多孔質シリカの複合化によって安定化するのかどうかを確かめるため、可視光照射に対する光安定性試験を行った。

光照射時間と UV-Vis 拡散反射スペクトルの吸光強度(565 nm)の関係を図 77 に示す。いずれの複合体も可視光照射に対する安定性の向上は見られず、10 時間の

照射で明らかに消色した状態になった。これは、可視光照射によってほとんど退色をおこさなかった粘土鉱物(ヘクトライト)との複合化とは明らかに異なっている。つまり多孔質体への吸着では、層状化合物との複合化とは異なって色素の安定性向上の効果がほとんどないと結論された。

有機色素の無機担体との複合化による安定性向上の機構は、担体表面での色素と担体の強い相互作用による色素の安定化、層間吸着(インターカレーション)による色素の安定化、そして細孔内への吸着による色素の安定化の 3 種類が主に知られている。今回の検討では、細孔内吸着による PE 色素の安定化を試みたが、安定性の向上はみられなかった。この結果から、細孔吸着ではPE色素の安定化は構造的に不可能であると考えられる。ただし、今回の多孔質シリカはシリカゲルであるので色素のサイズよりもかなり大きい細孔が含まれていることや、色素のほとんどが外表面に留まり細孔の内部まで吸着しなかったことなども、安定化に不利に働いた可能性が考えられる。。

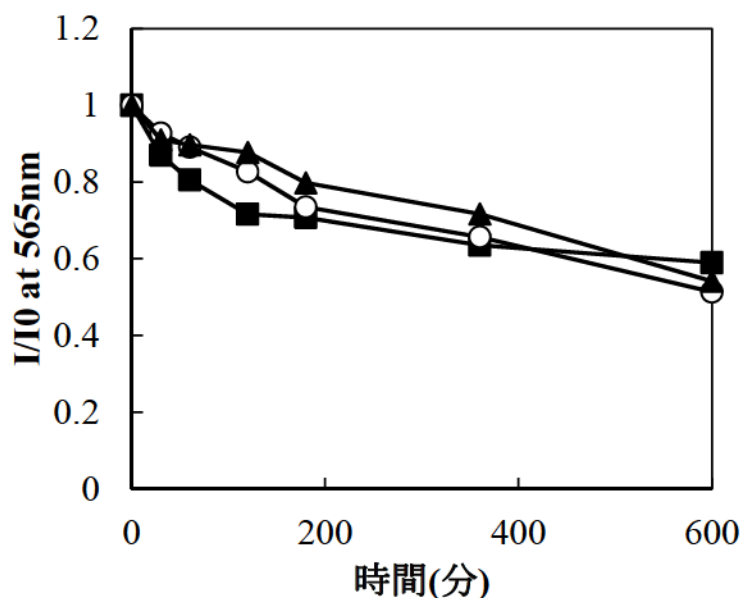


図 77 可視光照射下での吸光度(565 nm)変化

■:NaCl 添加未処理多孔質シリカ、○:pH4 未処理多孔質シリカ、

▲:pH4 プロパノール処理多孔質シリカ

5.4 結論

粘土鉱物が有する水分で膨潤するという欠点を踏まえて、担体として多孔質粉体である球状多孔質シリカを用いてフィコエリスリン色素(PE 色素)との複合化について検討をおこなった。

多孔質シリカに対して PE 色素は吸着をするものの、粘土鉱物であるヘクトライトへの吸着では溶液のほぼ全量の色素を吸着する条件でも、多孔質シリカでは半分程度の吸着量に留まった。

吸着量を向上させるためには色素溶液の pH を変化させることが効果的で、色素水溶液を色素の等電点より酸性側にすることで多孔質シリカを用いた複合体でも PE 色素と同程度の吸着をすることがわかった。このように表面電荷による静電的相互作用が色素吸着に関与していると考えられた。また、電解質を添加することや表面を疎水化処理することでも色素の吸着は向上することから、静電的相互作用に加えて、色素とシリカ表面の疎水性相互作用も同様に色素吸着に関与していると推察された。

複合体を蛍光顕微鏡により観察したところ、PE色素由来の蛍光が観察され、また凝集体などは見られず、多孔質シリカ表面へ均一に吸着していることが確認できた。その一方で、可視光照射に対する安定性試験では、細孔内吸着による PE 色素の安定化は確認できなかった。

第 6 章 総括

天然色素、特に植物色素はイメージの良さもあって各種産業用の色材としての利用が期待されているが、植物色素には合成色素と比べ光や熱への安定性が低く、また、水や有機溶媒へと溶出しやすいといった欠点がある。

一方、有機色素の安定性を向上させ、水や有機溶媒への溶出性を抑制する手法として、色素を無機担体と複合化させる手法が検討されている。ただし、すべての色素に対して安定性を向上させるような効果を持つような無機担体は存在せず。各色素に適した担体の選定や改質をおこなう必要がある。

本研究では、化粧品産業への応用を主眼に、魅力的な色素としての性質を有しながら安定性の低さと溶出性が課題である 2 種類の植物由来色素「アントシアニン色素」及び「フィコエリスリン色素」を題材に、担体の開発および複合化の方法について検討をおこなった。

以下に、本論文各章の結論を要約する。

第 1 章では、本研究の主題である有機無機複合化技術を中心に、研究の意義について説明をおこなった。「アントシアニン色素」「フィコエリスリン色素」の性質、無機担体として用いたメソポーラスシリカおよび層状粘土鉱物の性質、および色素と無機担体の複合化技術の現状と課題について明確にした。

第 2 章及び第 3 章では、フラボノイド系天然色素である「アントシアニン色素」の安定化を目指して、担体であるメソポーラスシリカと色素の複合化について検討をおこなった。アントシアニン色素は単離すると熱や光で褪色するという問題が発生しがちである。また、親水性の構造を持つため、水や有機溶媒へ溶出しやすいといった欠点がある。そこで、メソポーラスシリカとの複合化でこの欠点の克服を目指した。

第 2 章では、最も一般的なメソポーラスシリカである MCM-41 型メソポーラスシリカを無機担体として、色素との複合化を行った。

まず、アントシアニン色素を MCM-41 に吸着する条件を明らかにした。アントシアニン色素はそのままで MCM-41 及び Al 含有 MCM-41 に吸着しなかった。一方、親水化したアントシアニン色素 (アントシアニジン色素) にすることでは Al 含有 MCM-41 に吸着し、明るい赤色粉体を得ることができた。ただし、Al を含有しない MCM-41 に色素は吸着せず、Al 含有量を増えることで、色素吸着率も増加した。これらの結果から、Al によって MCM-41 のシリカネットワークにカチオン交換サイトが色素吸着に関与しており、色素は静電気相互作用及び疎水性相互作用により吸着しているものと考えられた。Al と同様に 3 価の Fe を用い、Fe 含有 MCM-41 を合成したところ、Fe 含有 MCM-41 複合体も Al 含有 MCM-41 複合体と同様な挙動を示し、Fe 含有量を増えると色素吸着率も増加した。ただし Fe 含有 MCM-41 で得られた複合体は青色粉体であった。

続いて色材としての性能について確認を行った。Fe 含有 MCM-41 は期待通りに、可視光を長時間照射によって光安定性が高い色材であることが確認された。一方、Al 含有 MCM-41 では、照射によって徐々に退色をしていった。しかしながら、MCM-41 と単純混合した AN 色素 (細孔内には存在せず) と比較すれば、明確に退色をおこしにくいものであった。水とエタノールへの溶出性は、Fe 含有 MCM-41 との複合体はほとんど溶出をおこしにくいものであった。これは色素と MCM-41 細孔表面との相互作用が強いためと考えられる。

第 3 章では、アントシアニジン色素と HMS 型メソポーラスシリカの複合化挙動について検討をおこなった。

前章では、最も一般的なメソポーラスシリカである MCM-41 での検討をおこなったが、強塩基性条件で合成をおこなう MCM-41 では水洗浄工程に多大な労力がかかる。そこで中性条件で合成をする HMS 型メソポーラスシリカを用いて、MCM-41 との比較をおこなった。

HMS でも MCM-41 と同様に、Al 含有量が増加すると色素の吸着量は増加した。

ただし、Al含有量が少ない場合は、鮮やかな赤色であったが、Al含有量増加で色が徐々に紫に変化した。この現象は Al-MCM41 ではみられなかったことから、中性条件での合成では骨格内に入れなかった Al イオンが Al_2O_3 を形成し、そこに色素が吸着したためと考えられた。そこで HMS の合成段階で希薄 NaOH 水溶液で洗浄する工程を入れ、 Al_2O_3 の除去をおこなったところ、複合体は Al 量を増やしても鮮やかな赤色を呈するようになった。このようにして得られた赤色の Al-HMS 型メソポーラスシリカ色素複合体は Al-MCM-41 複合体と比較して光照射に対して高い安定性を示した。水とエタノールへの溶出性も Al-HMS 型の複合体は Al-MCM-41 型と同様に低かった。以上のように、洗浄工程が簡易な中性条件で合成をする HMS 型メソポーラスシリカと疎水化したアントシアニン色素を複合化させ、鮮やかな赤色顔料を得ることに成功した。

第 4 章及び第 5 章では、天然由来の蛍光発色色素として海苔に含有される色素タンパクであるフィコエリスリン色素の安定化を検討した。

フィコエリスリン色素は蛍光色を発し、また食用海苔に含まれることから安全性の懸念が少ない。しかしながら、光と温度に極端に弱く、容易に変色や退色をしてしまう。そこで有機無機複合化によってこれらの克服が可能なのかを調べた

第 4 章では、まず最も基本的な担体である粘土鉱物を用いて、フィコエリスリン色素を吸着させる条件の検討および複合体の安定性の評価を行った。

粘土鉱物として二種類のスメクタイト構造物質(天然モンモリロナイトおよび合成ヘクトライト)を無機担体とし、これに海苔から分離精製したフィコエリスリン色素を吸着させた。フィコエリスリン色素はヘクトライトへ高い吸着性を示したがモンモリロナイトへの吸着は困難であった。両者で差が生じた原因として層間に含まれるイオン濃度の差が示差されたことから、色素溶液への各種塩を添加すると、モンモリロナイトでも吸着が改善した。ただし、合成品であるヘクトライトは、モンモリロナイトより透明であり、そのため色素との複合体の色はより鮮明であった。このことからフィコエリスリン色

素の担体としては、ヘクトライトが適していた。得られた複合体は鮮やかな赤色の粉末で、鮮明な蛍光を示した。

得られた複合体は 60℃保管や可視光の照射でも退色をおこさず、粘土鉱物との複合化によって大幅に改善されることが明らかになった。

第 5 章では、膨潤性のために色材としての実用化が難しい粘土鉱物の代わりに、水に分散しやすい多孔質粉体の細孔内に吸着させることで色素の安定化が可能であるかの検討をおこなった。

担体としては構造が単純なものとの観点から球状多孔質シリカ(シリカゲル)を用いた。色素は中性の水溶液では多孔質シリカにほとんど吸着しないが、色素の等電点より酸性側に水溶液を調製した場合は良好に吸着した。また、フィコエリスリン色素をモンモリロナイトに吸着させるために効果的であった色素水溶液へ塩(カチオン)の添加や多孔質シリカの表面の疎水化処理でも高い色素吸着性を示した。これらの色素複合体はヘクトライトとの複合体と同様に赤色の外観色と紫外光照射による蛍光発色を示した。これらの方法で複合化すると、いずれも耐熱性の向上がみられたものの、可視光照射による耐光性試験ではヘクトライト複合体のような光安定性の向上は見られなかった。このように、多孔質シリカとの複合化での性能向上は不十分であることが明らかになった。

以上の研究結果をまとめると以下のようなようになる。

アントシアニン色素をメソポーラスシリカに吸着させるためには、Al または Fe を含有したメソポーラスシリカを用いること、そして疎水化したアントシアニン色素(アントシアニン)を用いることが必要であった。複合化によって光や熱に対する安定性が向上し、水や有機溶媒への溶出性が抑制された。

MCM-41 型、HMS 型メソポーラスシリカは、ともに安定性の高い色素複合体が得られるが、強塩基性条件で合成する Al-MCM-41 は大量のイオン交換水で洗浄する

ことが必要である。一方、Al-HMS は中性条件で簡便な合成であるが、残存する Al_2O_3 の影響を避けるため希薄 NaOH 水溶液での洗浄が必要であった。

フィコエリスリン色素を良好に粘土鉱物や多孔質シリカに良好に吸着させるためには、色素溶液中への少量の塩の添加や pH の調整が効果的であった。得られた粉体は鮮やかな赤色の外観とオレンジ色の蛍光を発色した。

ただし、光に対する安定性では多孔質シリカへの吸着では向上せず、複合体が層状粘土鉱物である場合のみ向上が見られた。現状では合成ヘクトライトを担体として用いるものが最も良好であった。

以上のように人体無害性と環境負荷の低さを特徴とする天然色素であるアントシアニン色素ならびにフィコエリスリン色素を適切な無機担体を用い、吸着方法を工夫することで安定性に優れた複合体を得られ、これらは化粧品分野をはじめ各種産業用途の色材として利用が可能であることが示唆された。

第7章 参考文献

- [1] 柴田雅史 and 河野芳海, 光化学, 38 (2008) 212.
- [2] A. Castañeda-Ovando, M.d.L. Pacheco-Hernández, M.E. Páez-Hernández, J.A. Rodríguez and C.A. Galán-Vidal, *Food Chemistry*, 113 (2009) 859.
- [3] 安田齊, 花色の生理・生化学, 株式会社 内田老鶴圃, 1993.
- [4] 中川裕子, 一柳考志, 小西徹也 and 松郷誠一, 色材協会誌, 79 (2006) 113.
- [5] M.S. Starr and F.J. Francis, *Journal of Food Science*, 38 (1973) 1043.
- [6] K. Yoshida, S. Kitahara, D. Ito and T. Kondo, *Phytochemistry*, 67 (2006) 992.
- [7] L. Liu, H. Su, S. Yan, S. Shao, B. Xie, X. Chen, X. Zhang, B. Zhou and Y. Zhang, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1787 (2009) 939.
- [8] J. Fleurence, *Applied Biotechnology, Food Science and Policy*, 1 (2003) 63.
- [9] M. Munier, S. Jubeau, A. Wijaya, M. Moranças, J. Dumay, L. Marchal, P. Jaouen and J. Fleurence, *Food Chemistry*, 150 (2014) 400.
- [10] R. Bermejo, F. Gabriel Acién, M.J. Ibáñez, J.M. Fernández, E. Molina and J.M. Alvarez-Pez, *Journal of Chromatography B*, 790 (2003) 317.
- [11] P.-Å. Albertsson, *Photosynthesis Research*, 76 (2003) 217.
- [12] A. Marcati, A.V. Ursu, C. Laroche, N. Soanen, L. Marchal, S. Jubeau, G. Djelveh and P. Michaud, *Algal Research*, 5 (2014) 258.
- [13] J.-F. Niu, G.-C. Wang and C.-K. Tseng, *Protein Expression and Purification*, 49 (2006) 23.
- [14] L.-N. Liu, X.-L. Chen, X.-Y. Zhang, Y.-Z. Zhang and B.-C. Zhou, *Journal of Biotechnology*, 116 (2005) 91.
- [15] S.p.r.i.s. center, Vol. Japanese Open Patent, P2003-292815A,, 2003.
- [16] 特開平 8-01334、特開 2000-16918.
- [17] 特開昭 62-169716 号.
- [18] 特開 2000—226307.
- [19] 稲垣香那 and 駒城素子, 生活工学研究, 7 (2005) 178
- [20] Y. Kohno, R. Kinoshita, S. Ikoma, K. Yoda, M. Shibata, R. Matsushima, Y. Tomita, Y. Maeda and K. Kobayashi, *Applied Clay Science*, 42 (2009) 519.
- [21] Y. Kohno, K. Totsuka, S. Ikoma, K. Yoda, M. Shibata, R. Matsushima, Y. Tomita, Y. Maeda and K. Kobayashi, *Journal of Colloid and Interface Science*, 337 (2009) 117.
- [22] 特公昭 52-44377、特公昭 53-47139.
- [23] 久保靖 and 四方茂樹, 色材協会誌, 69 (1996) 512.
- [24] P. Baskaralingam, M. Pulikesi, D. Elango, V. Ramamurthi and S. Sivanesan, *Journal of Hazardous Materials*, 128 (2006) 138.
- [25] 特公平 6-39574.
- [26] 小野嘉夫 and 八嶋建明, ゼオライトの科学と工学, 2007.

- [27] A. Gignone, L. Manna, S. Ronchetti, M. Banchemo and B. Onida, *Microporous and Mesoporous Materials*, 200 (2014) 291.
- [28] L. Chen, Z. Zhang, X. Yao, X. Chen and X. Chen, *Microporous and Mesoporous Materials*, 201 (2015) 169.
- [29] B. Zapotoczny, N. Guskos, J.J. Koziol and M.R. Dudek, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 374 (2015) 96.
- [30] J.M. Rosenholm and M. Lindén, *Journal of Controlled Release*, 128 (2008) 157.
- [31] C.T.W. Chu and C.D. Chang, *The Journal of Physical Chemistry*, 89 (1985) 1569.
- [32] J. Datka and T. Abramowicz, *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 90 (1994) 2417.
- [33] S. Kunsági-Máté, E. Ortmann, L. Kollár, K. Szabó and M.P. Nikfardjam, *Journal of Molecular Structure*, 891 (2008) 471.
- [34] A. Corma, V. Fornes, M.T. Navarro and J. Perezpariente, *Journal of Catalysis*, 148 (1994) 569.
- [35] G. Muthu Kumaran, S. Garg, K. Soni, M. Kumar, J.K. Gupta, L.D. Sharma, K.S. Rama Rao and G. Murali Dhar, *Microporous and Mesoporous Materials*, 114 (2008) 103.
- [36] T. Yamamoto, T. Tanaka, S. Inagaki, T. Funabiki and S. Yoshida, *The Journal of Physical Chemistry B*, 103 (1999) 6450.
- [37] T. Itoh, K. Yano, Y. Inada and Y. Fukushima, *Journal of the American Chemical Society*, 124 (2002) 13437.
- [38] 小川誠, *光化学*, 38 (2007) 29.
- [39] Z. Gabelica, S. Valange, M. Shibata, H. Hotta and T. Suzuki, *Microporous and Mesoporous Materials*, 44–45 (2001) 645.
- [40] M. Shibata, H. Hotta, T. Suzuki, S. Valange and Z. Gabelica, *Chemistry Letters*, 28 (1999) 1291.
- [41] Y. Kohno, M. Senga, M. Shibata, K. Yoda, R. Matsushima, Y. Tomita, Y. Maeda and K. Kobayashi, *Microporous and Mesoporous Materials*, 141 (2011) 77.
- [42] T. Takenouchi, Y. Kawano, Y. Takakeuchi, Y. Kohno, K. Takagi and M. Shibata, *Journal of the Japan Society of Colour Material* 84 (2011) 308.
- [43] M. Busio, J. Jänchen and J.H.C. van Hooff, *Microporous Materials*, 5 (1995) 211.
- [44] Z. Gabelica, M. Shibata, H. Hotta, T. Suzuki and S. Valange, in C.C. A. Gamba and S. Coluccia (Editors), *Studies in Surface Science and Catalysis*, Vol. Volume 140, Elsevier, 2001, p. 279.
- [45] Y. Kohno, R. Hoshino, S. Ikoma, M. Shibata, R. Matsushima, Y. Tomita, Y. Maeda and K. Kobayashi, *Journal of the Japan Society of Colour Material*, 83 (2010) 103.
- [46] W.H. Yu, N. Li, D.S. Tong, C.H. Zhou, C.X. Lin and C.Y. Xu, *Applied Clay Science*, 80–81 (2013) 443.

- [47] T.M. Fiorito, I. Icoz and G. Stotzky, *Applied Clay Science*, 39 (2008) 142.
- [48] S. Kohata, T. SUMI, S. Izumi and M. Asakawa, *J.Technology and Education*, 13 (2006) 19.
- [49] N. Her, G. Amy, H.-R. Park and M. Song, *Water Research*, 38 (2004) 1427.
- [50] 島田昌彦 and 遠藤忠, 秋田大学鉱山学部資源地学研究施設報告, 55 (1990) 43.
- [51] A.P.P. Cione, M.G. Neumann and F. Gessner, *Journal of Colloid and Interface Science*, 198 (1998) 106.
- [52] 白水春雄, 粘土鉱物学, 1995.

謝辞

本研究にあたり、終始ご懇篤なる指導、ご鞭撻を賜りました東京工科大学 応用生物学部 教授 柴田 雅史先生に厚く御礼申し上げます。

本研究にあたり、貴重なご助言を戴きました静岡大学工学部 助教 河野芳海先生に厚く御礼申し上げます。

本論文をご審査戴き、貴重なご助言と懇切なるご教示をを賜りました東京工科大学 応用生物学部 教授 斉木 博先生、東京工科大学 応用生物学部 教授 高柳 勉先生、東京工科大学 応用生物学部 教授 正木 仁先生、東京工科大学 応用生物学部 準教授 加藤 輝先生に心から御礼申し上げます。

本研究室の遂行にあたり、ご協力を戴きました東京工科大学 化粧品材料化学研究室(柴田研究室)の早乙女綾氏、堀裕美子氏、星野早紀氏、宮澤智穂氏、村上穂高氏の皆様に御礼申し上げます。