

## フルオレセインの収率 Fluorescein Yield.

田上陽翔 古賀柊成 木原陽輝 高志駿 水上光陽 森本剛匠  
Tanoue Haruka Koga Shuusei Kihara Haruki Takaji Shun Mizukami Kouyou  
Morimoto Goushou

指導教諭 坂井 恵理香  
高橋 美里

### 要約

エステル化の先行研究を見て、実際に触媒によって収率の差が出るのか別の物質で見たいと思った。そこで電子レンジで簡単に合成することができるフルオレセインが試料としていいと考え研究を始めた。触媒の変化によるフルオレセインの収率の差を検証している。

### ABSTRACT

After looking at previous studies on esterification, I wanted to see if there was actually a difference in yield depending on the catalyst using a different substance. I thought that fluorescein, which can be easily synthesized in a microwave oven, would make a good sample, so I began my research. We are now examining the difference in yield of fluorescein due to changes in catalyst.

### 1. 目的

エステル化の先行研究を見て、実際に触媒によって収率の差が出るのか、市販のフルオレセインを基準として触媒の変化による、フルオレセインの収率の差を検証する。

### 2. 研究内容

#### フルオレセインについて

レゾルシノールフタレインともいう。融点314~316°C。エタノールにやや溶けにくい。水には不要だが、塩基性水溶液にはよく溶け、強い黄緑色の蛍光をもつ。可視光に蛍光波長をもつ最も一般的な蛍光物質である。多くの誘導体が開発されており、生体成分の蛍光誘導化、検出などに汎用されている。[1]

#### 触媒について

反応物に少量加えることにより反応速度を増大させる物質。[1]

#### 分光光度計

スペクトルの各波長について、その強度を測定する装置。普通、分光光度計と言われる場合は紫外可視分光光度計のことをさす。紫外可視分光光度計は分

子の電子エネルギーの遷移を起こす紫外から可視(200nm~830nm)の波長の光を試料に入射し、その吸収強度を入射する光の波長に対して測定することで、物質の性質やその存在量を知ることができる。[1]

実験は、まず2.00mmol/Lで触媒を変えて実験を行った。しかし、モル濃度が高く吸収スペクトルの値の差異が小さかった。そこで、産業技術センターの龍先生のご助言により溶液のモル濃度を0.20mmol/L、0.02mmol/Lで検証することにした。

### 3. 実験器具

#### 3. 1【器具】

ビーカー、試験管、駒込ピペット、時計皿、乳鉢、乳棒、葉さじ、薬包紙、濾紙、漏斗、蛍光可視分光光度計

#### 3. 2【薬品】

レゾルシノール、フルオレセイン、無水フタル酸、水酸化ナトリウム、エタノール、硫酸水素ナトリウム、ゼオライト、酢酸エチル

## 4. 実験方法

レゾルシノール0.440g(  $C_6H_4(OH)_2$  , 0.002mol), 無水フタル酸0.296g(  $C_6H_4(CO)_2O$  , 0.004mol)\* , 触媒※を粉砕し, 均等に混ぜ合わせ, 電子レンジ(600w, 12分)で加熱する.

加熱した混合物を放冷する. 混合物を濾過溶媒に溶かす. 濾過後揮発させフルオレセインを析出させる.

析出した物質を混合液(エタノール:水酸化ナトリウム(1mol/L)=1:1)に溶かす.

分光光度計で合成した物質の吸光度と吸収スペクトルを測定する.

加熱時間, 触媒の量を固定して, 市販のフルオレセインと合成した物質の吸収スペクトル, 吸光度を用いて比較する.



※ 触媒はゼオライトと硫酸水素ナトリウムを用いる.

ゼオライトは固体触媒として, 硫酸水素ナトリウムは先行研究から選んだ.

## 5. 仮説

硫酸水素ナトリウムやゼオライトを用いて合成したフルオレセインは, 触媒なしより収率が高くなると予想した.

先行研究より, 硫酸水素ナトリウムはゼオライトよりも触媒効果が高いことから, 硫酸水素ナトリウムの収率はゼオライトの収率よりも高くなると予想した.

そのため吸光度の値は, 硫酸水素ナトリウムが最も高く, 触媒なしが最も低くなると予想した.

## 6. 結果

### ①吸光度比較(フルオレセイン1)

図1

ゼオライトより硫酸水素ナトリウムのほうが吸光度が高くなった. 触媒なしが3つの中で最も大きい値となった.

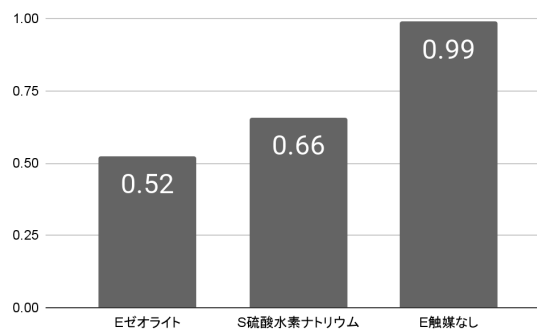


図1 : 2.00mmol/L 吸光度比較

図2

ゼオライトより硫酸水素ナトリウムのほうが吸光度が高くなった. ゼオライトと硫酸水素ナトリウムが市販品の吸光度を上回った.

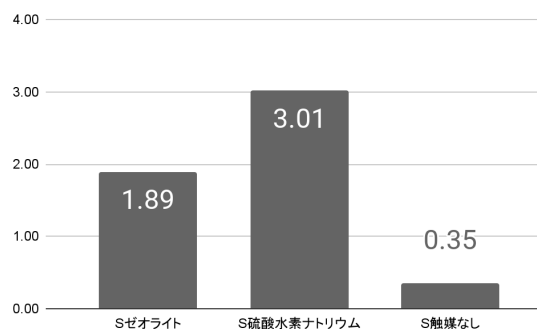


図2 : 0.20mmol/L 吸光度比較

図3

硫酸水素ナトリウムが他とくらべて大幅に吸光度が高い. 硫酸水素ナトリウムが市販品の吸光度を上回った.

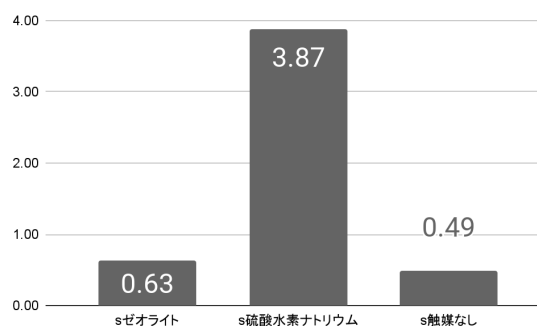


図3 : 0.02mmol/L 吸光度比較

## ②モル濃度による吸光度率比較

図4

合成したフルオレセインの濃度が低いと触媒ごとの吸光度の値の差が大きく濃度が高いと値の差が小さくなる。

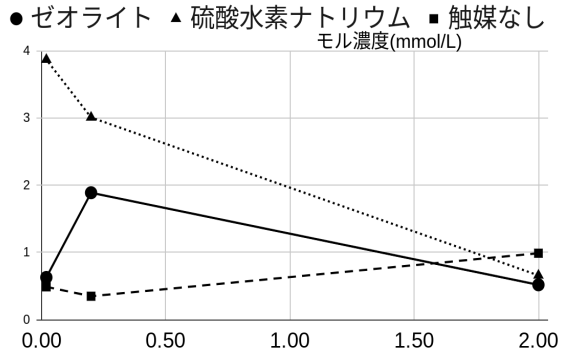


図4:モル濃度による吸光度比較

## ③吸収スペクトル

フルオレセインの極大吸収波長である494nm付近にピークが現れている。濃度を薄めることで吸光度が上昇している。[2]

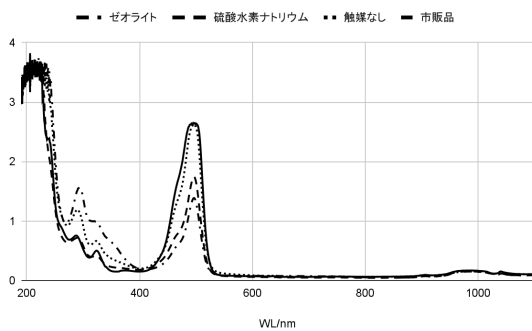


図6:2.00mmol/L 吸収スペクトル

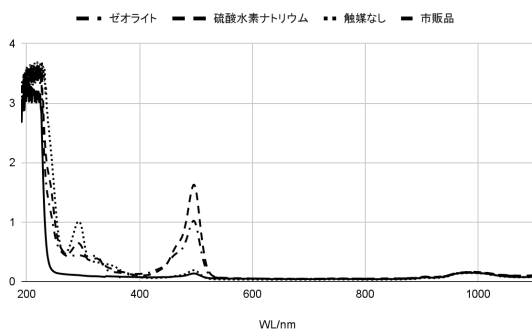


図7:0.20mmol/L 吸収スペクトル

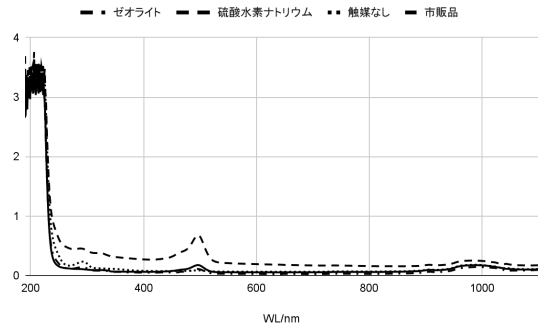


図8:0.02mmol/L 吸収スペクトル

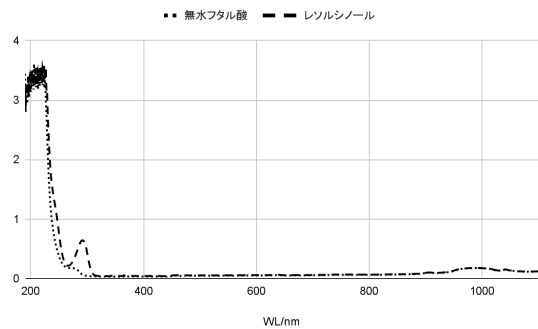


図9:レゾルシノール, 無水フタル酸の単体 吸収スペクトル

## ⑤フルオレセインのろ過における残渣

市販品のフルオレセインでは溶け残りが生じる。

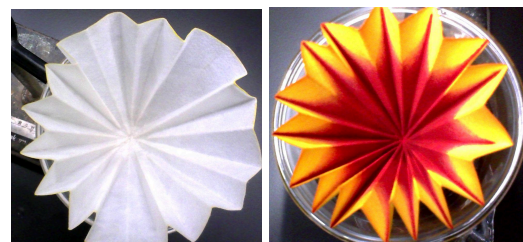
溶質(g)	溶け残り(g)
0.05	0.029
0.10	0.070
0.15	0.119
0.20	0.160

図6:フルオレセイン溶け残り



ゼオライト

硫酸水素ナトリウム



触媒なし

市販品

写真:ろ過後ろ紙

## 7. 考察

今回の研究は収率を測定するために吸光度を用いた。吸光度は物質に光を通して透過した光の量を測定して値を出す。フルオレセインが発する蛍光も測定してしまうため、吸光度の値に誤差が生じる。

### ①吸光度比較

図1～3より、触媒はゼオライトより硫酸水素ナトリウムの方が触媒効果が高いと考えられる。そのため、硫酸水素ナトリウムの方が吸光度の値が大きくなっていると思われる。

図4より、2.0mmol/Lでの触媒なしの方が触媒を用いたものより吸光度が高いのは、触媒なしのフルオレセインの濃度が触媒を用いているものより低いので、フルオレセインの蛍光による吸光度の低下の影響が少なかったからと考えられる。

### ②モル濃度による吸光度率比較

図4より、0.20～0.02mmol/Lのゼオライトの値が下降していることからこのときの実験は失敗していた可能性がある。

### ③吸収スペクトル

図6より、硫酸水素ナトリウムの最大吸収波長である250nm付近に値が出ていることから硫酸水素ナトリウムが溶液に溶けていると判断できるため、ろ過が不十分だった可能性がある。[3]

図6, 7より、図6の市販品のフルオレセインのスペクトルの値が300nm程が変動しているが図7の市販品のフルオレセインの300nm程のスペクトルの値が変動していないので、2.0mmol/Lのフルオレセイン全ての値が変動している可能性がある。

図6～8のスペクトルを図9の無水フタル酸とレソルシノールのスペクトラムと比較すると、市販品を除く他の全てのフルオレセインで345nm程でスペクトラムが見られるので、未反応のレソルシノールと無水フタル酸が反応していないと考えられる。

### ④市販品のフルオレセイン

図6～10より、合成した物質に無水フタル酸とレソルシノールのピークが見られることから、市販品に比べフルオレセインの濃度が低いと考えられる。

## 8. 展望

フルオレセインが発する蛍光で測定値に誤差が生じた可能性がある。セル内部でフルオレセインの極大蛍光波長前後の光を反射させることで測定値への影響を小さくできるのではないかと考え、特定の波長を反射したり、遮断したりする光学フィルターのノッチフィルターなどを使いたい。

また、なぜ溶液の濃度を下げていくと触媒がゼオライトのときは吸光度が減少し、触媒が硫酸水素ナトリウムのときは吸光度が増加するののかの謎を解明していきたい。

今回の実験は電子レンジで簡単に合成することができ、条件を変えて合成することが容易なので、温度や加熱時間を変えてフルオレセインの収率を調べてみたい。

なぜ、市販品のフルオレセインは少ししか水に溶けなく、ろ過時に多くの沈殿物が残った。しかし、合成した物質はろ過した後にほとんど沈殿物が残らなかった。その違いの原因を調べたい。

## 9. 参考文献

[1] 旺文社 化学辞典 ©Obunsha Co.,Ltd,2010/2021

[2] 蛍光標識用フルオレセイン

[TCI America](https://www.tcichemicals.com)

<https://www.tcichemicals.com> > tcimail > application

[3] 硫化水素発生-紫外吸収法による鋼中微量硫黄の定量 小野 昭 紘\*・大槻 孝 \*2

[https://www.istage.ist.go.jp/article/tetsutohagane1955/68/2/68\\_2\\_333/pdf](https://www.istage.ist.go.jp/article/tetsutohagane1955/68/2/68_2_333/pdf)

## 10. 謝辞・協力

本研究にあたり、

熊本県産業技術センター

材料・地域資源室 研究主任 博士(工学)

龍 直哉 氏

にご指導、ご助言を頂きました。深く感謝申し上げます。