

福岡大学理学集報

第54巻

令和 6 年 9 月

論文

化学

ルベアン酸架橋多核ニッケル錯体における電気化学的水素発生触媒挙動

..... 濱口智彦・倉岡 遼・山本拓実・安藤 功 (1)

Morphology of cow erythrocytes exposed to a pressure of 200 MPa

..... Takeo YAMAGUCHI and Ruka HIRAKAWA (5)

生物学

福岡大学キャンパス内において観察される飛翔性のハチ目昆虫種について

..... 山口藍加・伊東綱男・林 晋也 (11)

総説

化学

Dyes for food and fabrics - Advanced student experiments using azo compounds

..... Jun KOGA, Taichi MIYAKAWA, Yoko SATO and Masatada MATSUOKA (17)

硫黄を含むキサントリウム類に関する最近の展開

..... 長洞記嘉 (25)

論 文

ルベアン酸架橋多核ニッケル錯体における 電気化学的水素発生触媒挙動

濱口智彦*・倉岡 遼・山本拓実・安藤 功

(令和6年5月10日受理)

Electrochemical hydrogen production by dithiooxamidate-bridged polynuclear Ni complexes

Tomohiko HAMAGUCHI*, Ryo KURAOKA, Takumi YAMAMOTO and Isao ANDO

(Received May 10, 2024)

Abstract

The behaviour of dithiooxamidate-bridged dinuclear and tetranuclear nickel complexes as catalysts for electrochemical hydrogen production was evaluated. The behaviour was investigated by cyclic voltammetry. Both complexes showed significant catalytic cathodic currents when trifluoroacetic acid was used as a proton source. This catalytic cathodic current suggests that the two complexes are candidates for electrochemical hydrogen production catalysis.

Keywords: catalysts, Ni complex, hydrogen

1. 序論

持続可能な社会の達成にはさまざまな課題が立ち
はだかっている。その中の課題の一つであるエネ
ルギー問題や気候変動問題の対策の一環として、無限の
エネルギー源の一つである太陽光エネルギーを電気エ
ネルギーに変換し、これをもちいて環境負荷の小さい
化学エネルギー源である水素分子を生成したり、地球
温暖化の原因物質である二酸化炭素を有用な化学エネ
ルギー源に変換したりする手法が模索されている [1,
2, 3, 4, 5].

筆者らは特に前者に関係する研究として、電気化
学的に水素イオンから水素分子を生成する反応にお
いて、その反応を触媒する錯体分子について研究を
行なってきた [6, 7]. 特に、金属を一つ有する単核錯
体においては強酸添加時にしか触媒挙動を示さない
が [6], これを連結した金属を二つ有する二核錯体
においては弱酸添加時にも触媒挙動を示すことを見出
した [7]. 一般に、強酸添加時と弱酸添加時を比較した
場合、後者は水素イオン濃度が前者よりも小さいこ
とから、二核錯体の方が触媒能力としては優れてい

いえる。一方で、水素イオン源としてはコストが低く
また極めて弱い酸である水を利用できることが望まし
く、触媒能力を向上させる必要がある。そこで、さら
に核数を増加させた多核金属錯体を用いる手法につ
いて検討を行ってきた。昨年、補配位子としてジホスフ
ィンを、架橋配位子としてルベアン酸を用いることで、
ニッケル二核、三核、四核錯体を構築し、その単結晶
X線構造解析結果及び二核錯体については電気化学的
挙動について報告した [8]. しかし、その電気化学的
水素発生触媒挙動は明らかにできていなかった。

本報告では、ルベアン酸を架橋配位子として用いた
二核及び四核ニッケル錯体における電気化学的水素発
生触媒挙動について報告する。

2. 実験

2.1 錯体の合成

全ての錯体は、既報の手法により合成した [8].

2.2 触媒能力測定

サイクリックボルタモグラム測定には、BAS 社製
BAS 100B/W Electrochemical Workstation を用い、三電

1) 福岡大学理学部化学科 〒814-0180 福岡県福岡市城南区七隈8-19-1

Department of Chemistry, Faculty of Science, Fukuoka University, Nanakuma 8-19-1, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan.

*Corresponding author: T. Hamaguchi (e-mail:thama@fukuoka-u.ac.jp)

極系 (作用電極: グラッシーカーボン, 対極: 白金コイル, 参照電極: Ag^+/Ag 電極) を用いて測定を行った. 溶媒として, $0.1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ テトラ-*n*-ブチルアンモニウムヘキサフルオロリン酸塩/ CH_3CN 溶液を用いた. 錯体濃度は $1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ とした. 酸添加用の溶液としては, $10 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ トリフルオロ酢酸/ $0.1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ テトラ-*n*-ブチルアンモニウムヘキサフルオロリン酸塩/ CH_3CN 溶液を用いた. 電位の外部標準としてフェロセニウム/フェロセンの酸化還元対を用いた. 本実験条件では $E_{1/2} = 0.084 \sim 0.088 \text{ V vs Ag}^+/\text{Ag}$ であった. 全ての測定で走引速度は $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ で行った.

3. 結果と考察

3.1 二核錯体

本測定で用いた二核錯体の分子構造を図1に示す. この錯体は二つの Ni(II) を dithiooxamidate イオンで架橋した構造をしており, 補配位子として 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane が配位した構造をしている. また, 二つの Ni イオンは化学的に等価構造であり, さらに平面四配位構造である. 電気化学的測定の結果, この錯体は $-1 \sim -1.8 \text{ V vs Ag}^+/\text{Ag}$ の電位領域に準可逆な一電子酸化還元波を四つ示す.

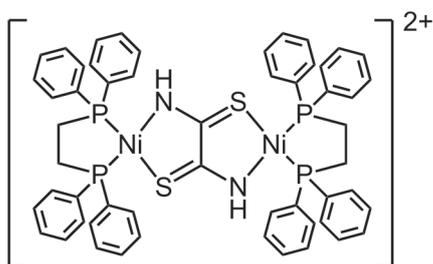


Fig. 1. 合成した二核錯体のカチオン部の分子構造

この錯体に対し, 強酸であるトリフルオロ酢酸を用いた時の電気化学的触媒挙動について調査した. 図2にその結果を示す. なお, $0 \text{ V vs Ag}^+/\text{Ag}$ 付近に現れた可逆な酸化還元波は内部標準として添加したフェロセン由来のものである. トリフルオロ酢酸溶液の添加に伴い, $-1.68 \text{ V vs Ag}^+/\text{Ag}$ に還元ピークの電流値の増加が確認された. また, 錯体が存在しない条件においては, この電位領域では大きな還元電流は確認されないことから, この還元電流は, 錯体の酸化還元に伴って発現するプロトン還元触媒反応に由来するものと考えられる.

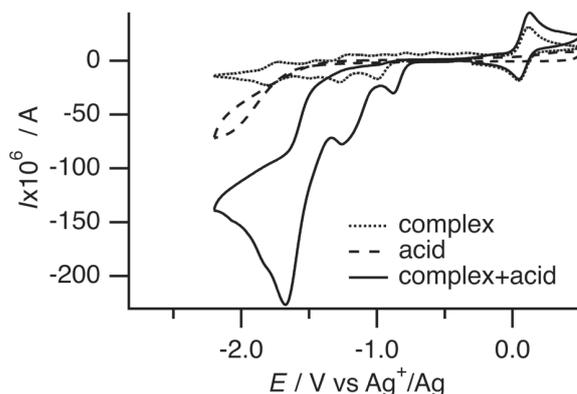


Fig. 2. 二核錯体の電気化学的触媒挙動 点線: 錯体 ($1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) のみ, 破線: トリフルオロ酢酸 ($20 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) のみ, 実線: 錯体 ($1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) + トリフルオロ酢酸 ($20 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$)

3.2 四核錯体

本測定で用いた四核錯体の分子構造を図3に示す. 先ほどの二核錯体では, dithiooxamidate イオンは二つの Ni(II) イオンを架橋した構造をとり, また Ni(II) イオンは補配位子であるジホスフィン配位子が配位することで平面四配位構造を取っている. 一方でこちらの四核錯体では Ni(II) に三つの dithiooxamidate イオンが六配位八面体型構造で配位している. 三つの dithiooxamidate イオンの残りの配座には, それぞれ Ni(II) イオンが配位し, 補配位子である 1,3-bis(diphenylphosphino)propane が配位することで平面四配位構造を取っている.

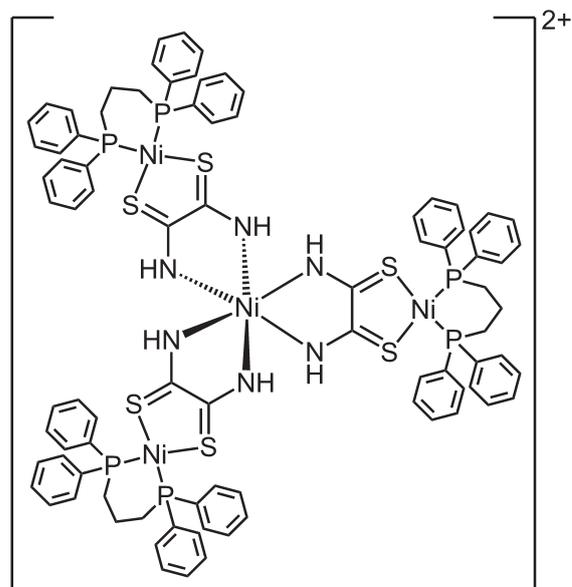


Fig. 3. 合成した四核錯体のカチオン部の分子構造

この四核錯体の電気化学的挙動を図4に示す. なお, $0 \text{ V vs Ag}^+/\text{Ag}$ 付近に現れた可逆な酸化還元波は

内部標準として添加したフェロセン由来のものである。錯体由来の酸化還元波として、-1.29 V, -1.55 V, -1.87 V, -2.50 V vs Ag^+/Ag にいずれも非可逆な還元ピークが確認された。電流値から判断して、それぞれ移動電子数は二電子、一電子、一電子、三電子と推定される。したがって、中央のNiを Ni_c 、末端のNiを Ni_t と表記すると、一段目の還元は $\text{Ni}_c(\text{II})\text{Ni}_t(\text{II},\text{II},\text{II})/\text{Ni}_c(\text{II})\text{Ni}_t(\text{I},\text{I},\text{I})$ 、二段目の還元は $\text{Ni}_c(\text{II})\text{Ni}_t(\text{I},\text{I},\text{II})/\text{Ni}_c(\text{II})\text{Ni}_t(\text{I},\text{I},\text{I})$ 、三段目の還元は $\text{Ni}_c(\text{II})\text{Ni}_t(\text{I},\text{I},\text{I})/\text{Ni}_c(\text{I})\text{Ni}_t(\text{I},\text{I},\text{I})$ であると帰属した。なお、四段目の還元はdithiooxamidate由来であると帰属した。

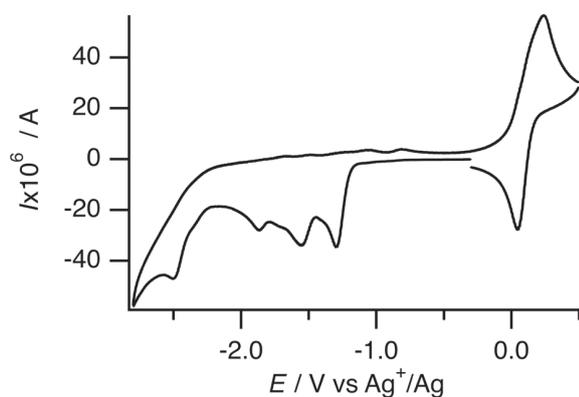


Fig. 4. 四核錯体の電気化学的挙動

この錯体に対し、強酸であるトリフルオロ酢酸を用いた時の電気化学的触媒挙動について調査した。図5にその結果を示す。トリフルオロ酢酸溶液の添加に伴い、-1.58 V vs Ag^+/Ag に還元ピークの電流値の増加が確認された。また、錯体が存在しない条件においては、この電位領域では大きな還元電流は確認されないことから、この還元電流は、錯体の酸化還元に伴って発現するプロトン還元触媒反応に由来するものと考えられる。なお、-2.28 V vs Ag^+/Ag にも大きな還元ピーク電流が確認されている。他の酸化還元ピークに比べて半値幅が小さいこと、酸未添加条件における四段目の還元電位に近いことから、何らかのプロトン化した錯体が還元されたことに伴って電極に吸着したためと考えられる。

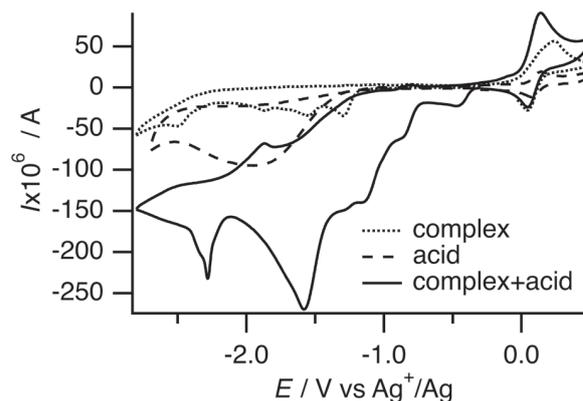


Fig. 5. 四核錯体の電気化学的触媒挙動 点線：錯体 ($1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) のみ、破線：トリフルオロ酢酸 ($20 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) のみ、実線：錯体 ($1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) + トリフルオロ酢酸 ($20 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)

4. 結論

以前より我々は、電気化学的プロトン還元反応に対する触媒として、多核金属錯体を用いることを検討している。その一環として、ルベアン酸を架橋配位子として用いた二核及び四核ニッケル錯体における電気化学的水素発生触媒挙動について、本研究では調査した。二核錯体、四核錯体共に強酸であるトリフルオロ酢酸に対して電気化学的水素発生触媒として働くことを明らかにした。残念ながら錯体の収率が低い問題を解決することができず、より弱い酸に対する触媒挙動やガスクロマトグラフィーを用いた定量的な触媒挙動の検討は現状ではできていない。今後、(1) 合成法を改良して収率を改善し、(2) 定量的な電気化学的触媒挙動の検討と、(3) より弱い酸に対する触媒挙動の検討をすることで、触媒能力を向上させる手法として金属核数を増加させた多核金属錯体を用いる手法の妥当性を明らかにしていきたい。

References

- [1] M.S. Dresselhaus, I.L. Thomas, *Nature*, **414**, 332 (2001).
- [2] T.R. Cook, D.K. Dogutan, S.Y. Reece, Y. Surendranath, T.S. Teets, D.G. Nocera, *Chem. Rev.*, **110**, 6474 (2010).
- [3] V.S. Thoi, Y. Sun, J.R. Long, C.J. Chang, *Chem. Soc. Rev.*, **42**, 2388 (2013).
- [4] V.R. Stamenkovic, D. Strmcnik, P.P. Lopes, N.M. Markovic, *Nature Materials*, **16**, 57 (2016).
- [5] N. Armaroli, V. Balzani, *Chem. Eur. J.*, **22**, 32 (2016).
- [6] T. Hamaguchi, K. Kai, S. Konishi, I. Ando, *Polyhedron*, **141**, 267 (2018).
- [7] T. Hamaguchi, K. Kai, I. Ando, K. Kawano, K. Yamauchi, K. Sakai, *Inorg. Chim. Acta*, **505**, 119498 (2020).

- [8] T. Hamaguchi, R. Kuraoka, T. Yamamoto, N. Takagi, I. Ando, S. Kawata, *Chemistry*, **5**, 2246 (2023).

Morphology of cow erythrocytes exposed to a pressure of 200 MPa

Takeo YAMAGUCHI* and Ruka HIRAKAWA

(Received May 13, 2024)

Abstract

Morphology of erythrocytes is controlled by vertical interactions between lipid bilayer and cytoskeleton or horizontal interactions between cytoskeletal proteins. These interactions are influenced by pressure. However, the cell shape of pressure-treated cow erythrocyte has not been determined. So, the effect of pressure (200 MPa) on the morphology of human and cow erythrocytes was examined using light microscope and scanning electron microscope. The shape of pressure-treated human erythrocytes was spherical and various sizes of vesicles were observed on the membrane surface. On the other hand, pressure-treated cow erythrocytes demonstrated an elliptical shape and smooth membrane surface. On the basis of the extraction of cytoskeletal proteins from the membrane by low ionic strength buffer, we found that the lipid bilayer is tightly linked to cytoskeleton in cow erythrocytes than human cells. Taking hemolytic anemia into account, these results suggest that the horizontal interactions than vertical ones are affected by pressure in the cow erythrocytes.

Keywords: bilayer-cytoskeleton interaction, cell shape, cow erythrocyte, hemolysis, high pressure

1. Introduction

The morphology of normal human erythrocytes is a biconcave disc. However, this morphology is changed by the incorporation of drugs into the bilayer. According to the bilayer-couple hypothesis, cationic drugs such as chlorpromazine are intercalated into the inner leaflet of the bilayer and induce the shape change to stomatocyte from discocyte, whereas anionic drugs such as phenylbutazone intercalated into the outer leaflet transform to echinocyte [1, 2]. As seen in hemolytic anemia, on the other hand, this normal shape is altered in hereditary spherocytosis (HS) [3, 4] and hereditary elliptocytosis (HE) [3, 4]. These abnormal shapes are induced by defective cytoskeleton [3-5]. Therefore, the stability of cytoskeleton is an important factor in the morphology of erythrocytes. Of mammalian erythrocytes, cow red blood cells are extremely stable against the membrane perturbations by heating [6] and high hydrostatic pressure (hereafter, referred to as pressure) [7]. Therefore, the information from the cow erythrocyte membrane is helpful to fully understand the membrane structure of the human red blood cells. Here, the properties of cow erythrocytes are compared with those of human red blood cells. Human and cow erythrocytes are characterized by follow-

ing properties: 7.6 and 5.3 μm in diameter [8, 9], 1.7 and 2.1 μm^{-1} in surface area-to-volume ratio [10, 11], and 120 and 150 days in life span [6], respectively. In both erythrocytes, the membrane lipid composition is greatly different. Phosphatidylcholine (PC), which is contained in the human erythrocyte membrane, is replaced by sphingomyelin (SM) in the cow membrane [12]. Bovine serum contains anti-aminoethylphosphonolipid antibodies, which react with PC and phosphatidylethanolamine (PE) and exhibit a hemolytic activity [13]. Aminoethylphosphonolipids are synthesized by rumen ciliates [13]. Moreover, the response of erythrocytes to metal ions is different in human and cow. For instance, zinc ions induce the cell agglutination in human erythrocytes, but not in cow ones [14]. This different response is ascribed to the difference in amino acid sequence on the extracellular domain of band 3 in the erythrocyte membrane [14].

Hemolytic properties of erythrocytes provide unique information about the membrane structure. For instance, hypotonic hemolysis is extremely sensitive to the surface area-to-volume ratio of the cell [10, 15]. So, this method is used to diagnose HS as the inherited erythrocyte membrane disorder [16]. On the other hand, the hemolysis induced by pressure provides information about the bilayer-cyto-

skeleton interaction [17]. So, it is of interest to compare the behavior of human and cow erythrocyte membranes under pressure and hypotonic conditions. In this work, we describe that pressure-treated cow erythrocytes exhibit the elliptical cell shape due to the perturbation of cytoskeleton, whereas human cells are spherical in cell shape due to the reduced interaction between lipid bilayer and cytoskeleton.

2. Materials and methods

2.1 Hemolysis

Human erythrocytes were obtained from the Kyushu Red Cross Center. Cow blood was obtained using heparin as an anticoagulant from bovines raised in animal facility of Azabu University and centrifuged for 10 min at $1,000 \times g$ and 4°C . Erythrocytes were washed three times in PBS (10 mM sodium phosphate, 150 mM NaCl, pH 7.4). For pressure-induced hemolysis, the erythrocytes suspended in PBS were exposed to a pressure of 200 MPa for 30 min at 37°C [18,19]. After the decompression, the erythrocyte suspensions were centrifuged for 1 min at $1,000 \times g$ and room temperature (25°C), and the absorbance of the supernatants was measured at 542 nm [17]. Complete hemolysis was obtained using Triton X-100 [19]. For hypotonic hemolysis, the erythrocytes were suspended in 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4) containing 54 mM NaCl, incubated for 10 min at 37°C [18], and centrifuged for 1 min at $1,000 \times g$. The degree of hemolysis was estimated as mentioned above.

2.2 Cell shape of pressure-treated erythrocytes

The cell shape of 200 MPa-treated erythrocytes was observed using a light microscope (Olympus, model IX-71) [20]. Furthermore, the membrane surface of erythrocytes was in detail examined by a scanning electron microscope (SEM)(model JSM-LV, JEOL) [20].

2.3 Preparation and stability of lipid vesicles

Membrane lipids were extracted from erythrocytes by using a mixed solvent of chloroform and methanol ($v/v = 2:1$) [21]. For the detection of membrane lipids by matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) in linear positive-ion mode, 2, 5-dihydroxybenzoic acid (2, 5-DHB, 10 mg/mL, Tokyo Kasei) was dissolved in a mixed solvent of chloroform and methanol ($v/v = 2:1$) and used as a matrix [22]. The lipids were dissolved in a mixed solvent of chloroform and methanol ($v/v = 1:9$). As samples for MALDI-TOF-MS, equal volumes of lipids and 2, 5-DHB

were mixed [22]. The measurement was performed by an Auto-flex speed MALDI-TOF mass spectrometer (Bruker).

To prepare hemoglobin (Hb)-containing vesicles, the solvent in lipid solution was evaporated by rotary evaporator. Dried lipids (1 mg) were suspended by sonication for 3 min in 0.1 mL of the Hb solution ($w/v = 9\%$) that cow Hb (50 mg) was dissolved in PBS. The resulting suspension was gently pumped back and forth with a microsyringe [23]. The pumped suspension was diluted with 1 mL of PBS and centrifuged for 10 min at $100 \times g$. The supernatant was filtered using a Millipore filter (diameter 12 μm) and then centrifuged for 10 min at $1,000 \times g$. The pellets were suspended in PBS and subjected to a pressure of 200 MPa for 30 min at 37°C . After the decompression, the size of vesicles was measured using an EPICS XL-MCL flow cytometer (Coulter, USA) [17, 19].

2.4 Bilayer-cytoskeleton interaction

Detachment of the cytoskeletal proteins from the membrane was carried out using open ghosts, which were prepared from erythrocytes by 5 mM sodium phosphate, pH 8 (5P8) at 0°C . In brief, these open ghosts were suspended in 7 volumes of 5P8 and incubated for 30 min at 37°C [24]. After the incubation, ghost suspensions were centrifuged for 20 min at $20,000 \times g$ and 4°C . The supernatants were used for SDS-PAGE [14] and determination of protein concentration by the method of Lowry et al. [25].

3. Results

3.1 Hemolysis of cow erythrocytes at 200 MPa

Hemolysis of erythrocytes is widely used as an indicator of the membrane stability. So, using this indicator we examined the membrane stability of human and cow erythrocytes under pressure or hypotonic buffer. As shown in Fig. 1, the hemolysis of cow erythrocytes at 200 MPa was compared with that of human red blood cells. When the degree of pressure-induced hemolysis in human erythrocytes was 44.4 ± 3.3 ($n = 3$), that in cow red blood cells was 5.7 ± 1.2 ($n = 3$). This result indicates that the cow erythrocyte membrane is stable against pressure, compared with human red blood cell membrane. On the other hand, when the value of hypotonic hemolysis in human erythrocytes was 10.0 ± 9.0 ($n = 3$), cow erythrocytes were completely hemolyzed (Fig. 1). This suggests the osmotic fragility of the cow erythrocyte membrane.

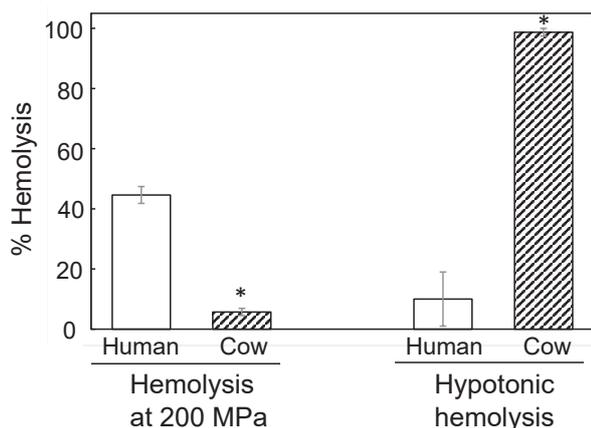


Fig.1 Stress-induced hemolysis of human and cow erythrocytes. For pressure-induced hemolysis, erythrocytes were exposed to a pressure of 200 MPa for 30 min at 37°C. In the hypotonic hemolysis, erythrocytes were incubated for 10 min at 37°C in the hypotonic buffer. Values are means \pm SD for three independent experiments.

* $p < 0.02$ vs. Human (Student's *t*-test).

3. 2 Morphological changes of pressure-treated erythrocytes

To examine the morphology of pressure-treated erythrocytes using a light microscope, cell suspensions exposed to a pressure of 200 MPa were put on the slide glass and observed under atmospheric pressure (Fig. 2). Intact erythrocytes in both human and cow were a biconcave disc in cell shape (Fig. 2A and C). Upon exposure to a pressure of 200 MPa, the shape of human erythrocytes was spherical (Fig. 2B), but cow cells became elliptical (Fig. 2D). Here, we were unable to observe the erythrocytes that were hemolyzed by pressure of 200 MPa.

Furthermore, the membrane surface of pres-

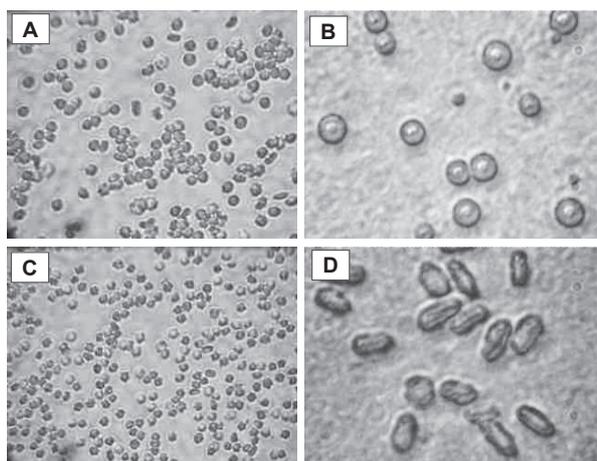


Fig.2 Light microscopy of pressure-treated erythrocytes. Erythrocytes were exposed to a pressure of 200 MPa for 30 min at 37°C. After decompression, the morphology of the cells was observed using a light microscope. A, intact human cells (normal); B, 200 MPa-treated human cells (magnification); C, intact cow cells (normal) ; D, 200 MPa-treated cow cells (magnification).

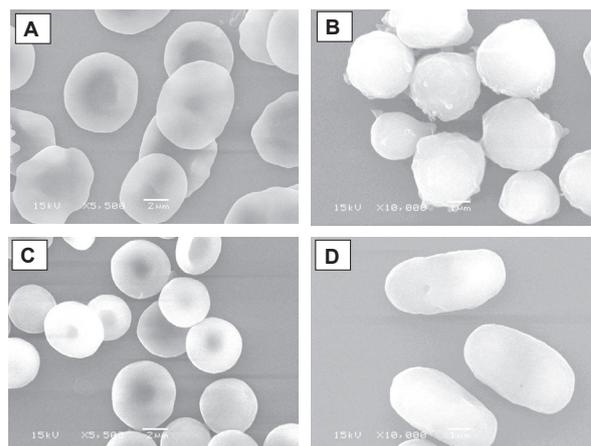


Fig.3 Scanning electron microscopy of pressure-treated erythrocytes. Erythrocytes were exposed to a pressure of 200 MPa for 30 min at 37°C. After decompression, the morphology of the cells was observed using a SEM.

A, intact human cells; B, 200 MPa-treated human cells; C, intact cow cells; D, 200 MPa-treated cow cells.

sure-treated erythrocytes was examined in detail by a SEM (Fig. 3). Upon exposure to a pressure of 200 MPa, the shape of human erythrocytes changed from biconcave disc to spherical form (Fig. 3A and B). In addition, it was found that various sizes of vesicles are formed on the surface of the erythrocyte membrane (Fig. 3B). On the other hand, cow erythrocytes transformed from normal discoidal shape to elliptical form by pressure (Fig. 3C and D). Interestingly, no such membrane vesicles as seen in human erythrocytes were observed in this case (Fig. 3D).

3. 3 Analysis of phospholipids in cow erythrocyte membranes by MALDI-TOF MS

To understand the properties of pressure-induced hemolysis in cow erythrocytes, we paid attention to the membrane phospholipid composition. So, using MAL-

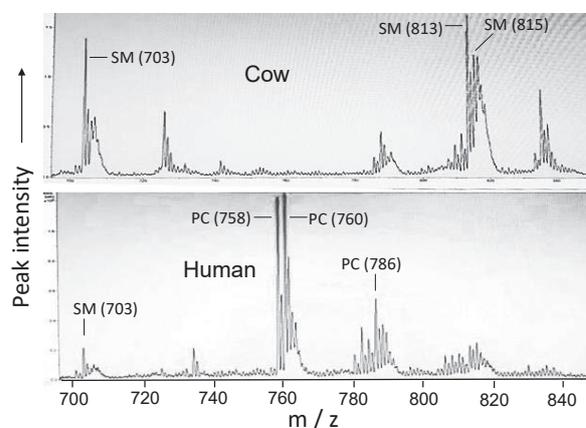


Fig.4 MALDI-TOF mass spectra of erythrocyte membrane lipids. Membrane lipids were extracted from erythrocytes by using a mixed solvent of chloroform and methanol. 2, 5-DHB was used as a matrix.

DI-TOF MS we analyzed the membrane phospholipids of human and cow erythrocytes (Fig. 4). In human erythrocyte membranes, major PC peaks at m/z 758, 760, and 786 correspond to protonated 16:0-18:2, 16:0-18:1, and 18:1-18:1PCs, respectively [7]. On the other hand, in cow erythrocyte membranes SM peaks at m/z 703, 813, and 815 correspond to protonated 16:0, 24:1, and 24:0 amides, respectively [7]. Interestingly, PC peaks, PC (758) and PC (760), seen in human erythrocyte membranes were absent in cow red cell membranes, where SMs were dominant phospholipids.

3. 4 Stability at 200 MPa of vesicles prepared from erythrocyte membrane lipids

Membrane protein-free vesicles were prepared using lipids extracted from erythrocyte membranes of human and cow. Such lipid vesicles were suspended in the buffer and exposed to a pressure of 200 MPa. After the decompression, vesicle size was measured using a flow cytometer. As shown in Fig. 5, the vesicle size in lipid vesicles prepared from both erythrocytes remained constant before or after compression. This suggests that these vesicles are stable against the pressure.

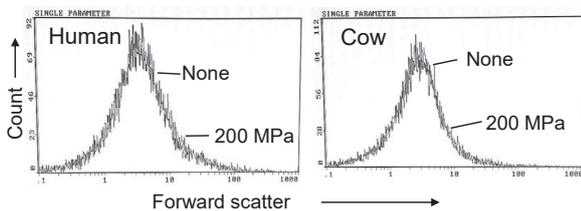


Fig.5 Flow cytometry of pressure-treated lipid vesicles. Vesicles were prepared using human or cow erythrocyte membrane lipids. Prepared vesicles (none) were exposed to a pressure of 200 MPa for 30 min at 37°C.

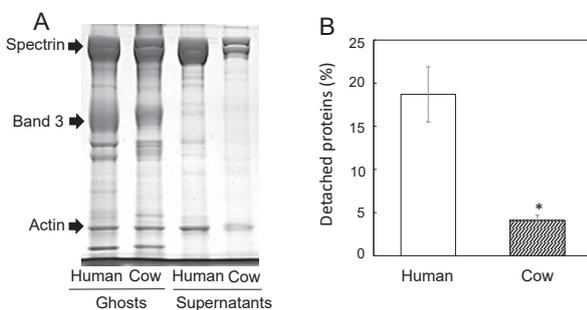


Fig.6 Detachment of cytoskeletal proteins from the erythrocyte membrane. A, SDS-PAGE of erythrocyte membrane proteins. B, detachment of cytoskeletal proteins from the membrane. To extract cytoskeleton from the membrane, ghost suspensions in 5P8 were incubated for 30 min at 37°C and centrifuged. The supernatants were used for SDS-PAGE and determination of protein concentration. Values are means \pm SD for three independent experiments. * $P < 0.02$ vs. Human (Student's *t*-test).

3. 5 Tight association of cytoskeleton with lipid bilayer in cow erythrocyte membranes

The stability of erythrocyte membranes is affected by the bilayer-cytoskeleton interaction [3]. The membrane proteins of human and cow erythrocytes were analyzed by SDS-PAGE (Fig. 6A). There was no difference in human and cow membrane proteins. Moreover, the interaction between bilayer and cytoskeleton in the erythrocyte membrane was examined using hypotonic buffer at 37°C. Detachment of cytoskeletal proteins such as spectrin and actin from the membrane was greatly suppressed in cow erythrocytes than human cells (Fig. 6A and B). This suggests the tight association of bilayer with cytoskeleton in the cow erythrocyte membrane.

4. Discussion

In the present work, we have demonstrated that lipid vesicles prepared from human and cow erythrocyte membranes are stable on their size under a pressure of 200 MPa. Here, such vesicle membranes contain cholesterol within lipid bilayer [7]. Moreover, the morphology of giant vesicles composed of egg yolk PC is reported in the presence or absence of cholesterol under a pressure of 285 MPa [26]. The shape of cholesterol-containing vesicles remains spherical under pressure, whereas the cholesterol-free vesicles change from the spherical form to budding form during pressure release [26]. These data suggest that the cholesterol-containing vesicles are stable against pressure of 200 MPa. Therefore, the different responses, as seen in hemolysis and morphology, to pressure of human and cow erythrocytes are unable to explain on the basis of properties of lipids only.

The morphology of erythrocytes changes under various conditions. For instance, sickle cells that look like a crescent shape are due to the formation of insoluble fibers of hemoglobin S in deoxygenated state [27]. Additionally, the erythrocyte functions as an osmometer since the cell swells in hypotonic medium and shrinks in hypertonic conditions [28]. Interestingly, the morphology of the erythrocyte is also controlled by the two interactions that are acted on the membrane [5]. One is vertical interactions in which transmembrane proteins such as band 3 and glycoprotein C in the lipid bilayer are linked to cytoskeletal proteins such as spectrin via anchor proteins [3, 29]. Dysfunction or deficiency of proteins that are associated with these vertical interactions induces the vesiculation so that the surface area-to volume ratio of the cell is reduced [5, 30]. As seen in HS, such cells are spherical in shape and are extremely

fragile against hypotonic stress [30]. The other is horizontal interactions between spectrin dimers to form the spectrin tetramer [29, 30] or between components of the spectrin-actin-protein 4.1R ternary complex [3]. Thus, HE is induced by abnormal horizontal interactions due to the dysfunction and deficiency of cytoskeletal proteins and the resulting cell shape is elliptical [4, 5, 30]. In the extraction of cytoskeleton from the bilayer under hypotonic conditions, cow erythrocyte membrane is more stable than human cells. This indicates the tight linkage between the bilayer and cytoskeleton in the cow erythrocytes, compared to human cells. Therefore, the elliptical shape in 200 MPa-treated cow erythrocytes suggests the perturbation of horizontal interactions rather than vertical interactions by pressure.

In conclusion, the morphological changes of erythrocytes are induced by dysfunction or deficiency of membrane proteins, as seen in red cell disorders. Similar shape changes in red blood cells are observed by pressure. Upon exposure to pressure, human red blood cells changed from the biconcave disc to spherical shape, whereas cow cells exhibited the elliptical shape. In human erythrocytes, perhaps, vertical interactions between the bilayer and cytoskeleton are affected by pressure, whereas in cow cells, horizontal interactions between cytoskeletal proteins are greatly perturbed. Further study is necessary for the perturbation mechanism of membrane protein interactions by pressure.

Acknowledgment

This work was supported in part by a grant (155003) from the Central Research Institute of Fukuoka University.

References

- [1] M. P. Sheetz and S. J. Singer, Biological membranes as bilayer couples. A molecular mechanism of drug-erythrocyte interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **71**, 4457-4461 (1974).
- [2] T. Fujii, T. Sato, A. Tamura, M. Wakatsuki, Y. Kanaho, Shape changes of human erythrocytes induced by various amphipathic drugs acting on the membrane of the intact cells. *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 613-620 (1979).
- [3] J. Narla and N. Mohandas, Red cell membrane disorders. *Int. J. Lab. Hematol.*, **39**, 47-52 (2017).
- [4] A. Iolascon, I. Andolfo, R. Russo, Advances in understanding the pathogenesis of red cell membrane disorders. *Br. J. Haematol.*, **187**, 13-24 (2019).
- [5] J. Palek, Hereditary elliptocytosis, spherocytosis and related disorders: consequences of a deficiency or a mutation of membrane skeletal proteins. *Blood Rev.*, **1**, 147-168 (1987).
- [6] I. T. Ivanov, Allometric dependence of the life span of mammal erythrocytes on thermal stability and sphingomyelin content of plasma membranes. *Comp. Biochem. Physiol. A*, **147**, 876-884 (2007).
- [7] T. Yamaguchi, R. Hirakawa, H. Ochiai, Correlation between sphingomyelin and the membrane stability of mammalian erythrocytes. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, **265**, 110833 (2023).
- [8] J. E. Smith, N. Mohandas, S. B. Shohet, Variability in erythrocyte deformability among various mammals. *Am. J. Physiol.*, **236**, H725-730 (1979).
- [9] T. Fukuda, E. Asou, K. Nogi, K. Goto, Evaluation of mouse red blood cell and platelet counting with an automated hematology analyzer. *J. Vet. Med. Sci.*, **79**, 1707-1711 (2017).
- [10] D. A. Jones, The important of surface area/volume ratio to the rate of oxygen uptake by red cells. *J. Gen. Physiol.*, **74**, 643-646 (1979).
- [11] U. Windberger, A. Bartholovitsch, R. Plasenzotti, K. J. Korak, G. Heinze, Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species: reference values and comparison of data. *Exp. Physiol.*, **88**, 431-440 (2003).
- [12] G. J. Nelson, Lipid composition of erythrocytes in various mammalian species. *Biochim. Biophys. Acta*, **144**, 221-232 (1967).
- [13] J. Florin-Christensen, C. E. Suarez, M. Florin-Christensen, M. Wainszelbaum, W. C. Brown, T. F. McElwain, G. H. Palmer, A unique phospholipid organization in bovine erythrocyte membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **98**, 7736-7741 (2001).
- [14] K. Kiyotake, H. Ochiai, T. Yamaguchi, Agglutination of human erythrocytes by the interaction of Zn²⁺ ion with histidine-651 on the extracellular domain of band 3. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, **141**, 284-290 (2016).
- [15] G. B. Nash, C. S. Johnson, H. J. Meiselman, Mechanical properties of oxygenated red blood cells in sickle cell (HbSS) disease. *Blood*, **63**, 73-82 (1984).
- [16] O. Ciepiela, Old and new insights into the diagnosis of hereditary spherocytosis. *Ann. Transl. Med.*, **6**, 339 (2018).
- [17] T. Yamaguchi and S. Fukuzaki, ATP effects on response of human erythrocyte membrane to high pressure. *Biophys. Physicobiol.*, **16**, 158-166 (2019).
- [18] T. Yamaguchi, H. Kawamura, E. Kimoto, M. Tanaka, Effects of temperature and pH on hemoglobin release

- from hydrostatic pressure-treated erythrocytes. *J. Biochem.*, **106**, 1080-1085 (1989).
- [19] T. Yamaguchi, I. Satoh, N. Ariyoshi, S. Terada, High-pressure-induced hemolysis in papain-digested human erythrocytes is suppressed by cross-linking of band 3 via anti-band 3 antibodies. *J. Biochem.*, **137**, 535-541 (2005).
- [20] T. Yamaguchi, K. Tajiri, K. Murata, S. Nagadome, Membrane damages under high pressure of human erythrocytes agglutinated by concanavalin A. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, **116**, 695-699 (2014).
- [21] E. G. Bligh and W. J. Dyer, A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917 (1959).
- [22] T. Yamaguchi and T. Ishimatu, A double bond in ring B of cholesterol is not required for the membrane stability of human erythrocytes, *Fukuoka Univ. Sci. Reports*, **52**, 53-58 (2022).
- [23] S. Pautot, B. J. Frisken, D. A. Weitz, Production of unilamellar vesicles using an inverted emulsion. *Langmuir*, **19**, 2870–2879 (2003).
- [24] T. Yamaguchi, S. Ozaki, T. Shimomura, S. Terada, Membrane perturbations of erythrocyte ghosts by spectrin release. *J. Biochem.*, **141**, 747-754 (2007).
- [25] O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
- [26] L. Beney, J. M. Perrier-Cornet, M. Hayert, P. Gervais, Shape modification of phospholipid vesicles induced by high pressure: influence of bilayer compressibility. *Biophys. J.*, **72**, 1258-1263 (1997).
- [27] E. I. Obeagu, N. I. Ubosi, G. U. Obeagu, S. I. Egba, M. H. Bluth, Understanding apoptosis in sickle cell anemia patients: Mechanisms and implications. *Medicine (Baltimore)*, **103**, e36898 (2024).
- [28] D. E. Pafundo, C. L. Alvarez, G. Krumschnabel, P. J. Schwarzbau, A volume regulatory response can be triggered by nucleosides in human erythrocytes, a perfect osmometer no longer. *J. Biol. Chem.*, **285**, 6134-6144 (2010).
- [29] M. Risinger and T. A. Kalfa, Red cell membrane disorders: structure meets function. *Blood*, **136**, 1250-1261 (2020).
- [30] L. Da Costa, J. Galimand, O. Fenneteau, N. Mohandas, Hereditary spherocytosis, elliptocytosis, and other red cell membrane disorders. *Blood Rev.*, **27**, 167-178 (2013).

福岡大学キャンパス内において観察される 飛翔性のハチ目昆虫種について

山口藍加*・伊東綱男・林 晋也*

(令和6年5月21日受理)

Flying hymenopteran insects observed in the fields of Fukuoka University

Aika YAMAGUCHI*, Tsunao ITOH and Shinya HAYASHI*

(Received May 21, 2024)

Abstract

Flying hymenopteran insects in Fukuoka University were collected, and the number of species was documented by family and genus, excepting for small parasitic wasp, and ant (Formicidae). Additionally, the species listed on the RDB category were identified. In total, 80 species of hymenopteran insects belonging to 14 families and 43 genera were found on the campus. Among these, living and nesting 5 species listed on RDB, which are vulnerable to environmental changes with anthropogenic activities, were confirmed.

Keywords: bee, hornet, wasp, red data book

1. はじめに

ミツバチやアリといったハチ目に属している昆虫種は、世界では約13万種、日本では約4,200種が確認されている[1]。これらハチ目に属する種の多くは、土中、木の洞、竹筒、建物の外壁・軒下など、種に応じて様々な場所に営巣する。ハチのメスは、営巣地を拠点とし採餌活動に従事し、子の餌となる蜜や花粉、あるいは狩りによって得た昆虫等を巣へと運ぶ。

ハチの採餌範囲は種の体の大きさや、生活様式にもよるが、さして広いものではない。例えば、ハナバチ類の推定採餌距離は、ミツバチのような社会性種では最大7-14 kmにも及ぶことが報告されているが、ハチ目のグループでより多くの種数を占めている単独性種では、およそ600 mほどである[2-4]。ハチ目昆虫の個体の移動能力、巣を拠点とし生活する特性を考慮すると、地域におけるハチの生存、ならびにハチの群集構成は、局所的な環境変化であっても、大きな影響を受けるものと考えられる。しかしながら、生息種の詳細な調査が実施されていない地域も多く、人為的な活動に伴う環境変化により、希少種、固有種が期せずし

て失われている可能性も高い。地域におけるハチ類の生息種の観察調査は、こうした危惧される事象を避けるうえで不可欠であると考えられる。

本稿では福岡大学キャンパス内で採集された飛翔性のハチ目昆虫種について記録した。また環境省と福岡県のレッドリスト・レッドデータブックを参照し、本調査で採集した種に絶滅の恐れのあるカテゴリーに該当する種が含まれているかを確認した。

2. 調査地および採集方法

ハチの採集は福岡県福岡市城南区に位置する福岡大学キャンパスの敷地内(約64ha)で行った。本キャンパスは市街地に囲まれた場所にあり、周囲の緑地は断片化している。キャンパスの南方位は道路をはさみ油山に面し、キャンパス内は山の麓を造成した丘陵な地形となっている。キャンパス内は周辺環境に比べ緑地が密集しており、薬草園、薬草植物園、English Garden (バラ園)、木々に囲まれた池(ひょうたん池)など、種々の植生・環境が混在している。

薬草園、薬草植物園、バラ園では、海浜植物であるハマゴウといった本来の自然環境とは異なる環境で生

Table 1 List of hymenopteran species captured in the campus: the numbers in brackets indicate the number of species by family and genus.

科	属	種名	学名	
スズメバチ科 (19)	アシナガバチ属 (6)	キアシナガバチ	<i>Polistes rothneyi</i>	
		キボシアシナガバチ	<i>Polistes nipponensis</i>	
		コアシナガバチ	<i>Polistes snelleni</i>	
		セグロアシナガバチ	<i>Polistes jokahamae</i>	
		フタモンアシナガバチ	<i>Polistes chinensis</i>	
		ヤマトアシナガバチ	<i>Polistes japonicus</i>	
	スズメバチ属 (4)	オオスズメバチ	<i>Vespa mandarina</i>	
		キイロスズメバチ	<i>Vespa simillima</i>	
		コガタスズメバチ	<i>Vespa analis</i>	
		ヒメスズメバチ	<i>Vespa ducalis</i>	
	フタオビドロバチ属 (2)	オオフタオビドロバチ	<i>Anterhynchium flavomarginatum</i>	
		ハグロフタオビドロバチ	<i>Anterhynchium melanopterum</i>	
	トックリバチ属 (1)	ムモントックリバチ	<i>Eumenes rubronotatus</i>	
	カバオビドロバチ属 (1)	ミカドドロバチ	<i>Euodynerus nipanicus</i>	
	エントツドロバチ属 (1)	エントツドロバチ	<i>Orancistrocerus drewseni</i>	
	スズバチ属 (1)	スズバチ	<i>Oreumenes decoratus</i>	
	カバフドロバチ属 (1)	ナミカバフドロバチ	<i>Pararrhynchium ornatum</i>	
	チビドロバチ属 (1)	カタグロチビドロバチ	<i>Stenodynerus chinensis</i>	
	クロスズメバチ属 (1)	クロスズメバチ	<i>Vespula flaviceps</i>	
ハキリバチ科 (16)	ハキリバチ属 (12)	オオハキリバチ	<i>Megachile sculpturalis</i>	
		キヌゲハキリバチ	<i>Megachile kobensis</i>	
		クズハキリバチ	<i>Megachile pseudomonticola</i>	
		サカガミハキリバチ	<i>Megachile remota sakagamii</i>	
		スダキヌゲハキリバチ	<i>Megachile sudai</i>	
		スミスハキリバチ	<i>Megachile humilis</i>	
		スミヅメハキリバチ	<i>Megachile willughbiella sumizome</i>	
		ツルガハキリバチ	<i>Megachile tsurugensis</i>	
		ネジロハキリバチ	<i>Megachile disjunctiformis</i>	
		バラハキリバチ	<i>Megachile nipponica</i>	
		ヒメツツハキリバチ	<i>Megachile subalbata</i>	
		ヒメハキリバチ	<i>Megachile spissula</i>	
	トガリハナバチ属 (2)	オオトガリハナバチ	<i>Coelioxys fenestrata</i>	
		ヤノトガリハナバチ	<i>Coelioxys yanonis</i>	
		ヤドリハキリバチ属 (1)	ハラアカヤドリハキリバチ	<i>Euaspiis basalis</i>
		ツツハナバチ属 (1)	シロオビツツハナバチ	<i>Osmia excavata</i>
コハナバチ科 (14)	コハナバチ属 (10)	サビイロカタコハナバチ	<i>Lasioglossum mutilum</i>	
		シオカワコハナバチ	<i>Lasioglossum baleicum</i>	
		シロスジカタコハナバチ	<i>Lasioglossum occidens</i>	
		ズマルコハナバチ	<i>Lasioglossum affine</i>	
		ニセキオビコハナバチ	<i>Lasioglossum hoffmanni</i>	
		ヒゲナガコハナバチ	<i>Lasioglossum vulsum</i>	
		フタモンカタコハナバチ	<i>Lasioglossum scitulum</i>	
		ホクダイコハナバチ	<i>Lasioglossum duplex</i>	
		ミヤマツヤコハナバチ	<i>Lasioglossum exiliceps</i>	
		未同定	<i>Lasioglossum sp.</i>	
アトジマコハナバチ属 (2)	アカガネコハナバチ	<i>Halictus aerarius</i>		
	アトジマコハナバチ	<i>Halictus tsingtauensis</i>		
	アオスジハナバチ属 (1)	アオスジハナバチ	<i>Nomia incerta</i>	
ヤドリコハナバチ属 (1)	ミズホヤドリコハナバチ	<i>Sphecodes scabricollis</i>		

科	属	種名	学名
ミツバチ科 (8)	ミツバチ属 (2)	セイヨウミツバチ	<i>Apis mellifera</i>
		ニホンミツバチ	<i>Apis cerana japonica</i>
	コシブトハナバチ属 (1)	ケブカコシブトハナバチ	<i>Anthophora plumipes</i>
	マルハナバチ属 (1)	コマルハナバチ	<i>Bombus ardens</i>
	ツヤハナバチ属 (1)	サトウチビツヤハナバチ	<i>Ceratina satoi</i>
	ヒゲナガハナバチ属 (1)	ニッポンヒゲナガハナバチ	<i>Eucera nipponensis</i>
	キマダラハナバチ属 (1)	ダイミョウキマダラハナバチ	<i>Nomada japonica</i>
ツチバチ科 (5)	クマバチ属 (1)	キムネクマバチ	<i>Xylocopa appendiculata circumvolans</i>
		オオモンツチバチ	<i>Scolia histrionica</i>
		ナミツチバチ属 (3)	キオビツチバチ
	アラメハラナガツチバチ属 (1)	キンケハラナガツチバチ	<i>Megacampsomeris prismatica</i>
	ツヤハラナガツチバチ属 (1)	ヒメハラナガツチバチ	<i>Campsomeriella annulata</i>
アナバチ科 (5)	ドロジガバチ属 (1)	アメリカジガバチ	<i>Sceliphron caementarium</i>
	オオアナバチ属 (1)	クロアナバチ	<i>Sphex argentatus</i>
	ツツアナバチ属 (1)	ココロアナバチ	<i>Isodontia nigella</i>
	ジガバチ属 (1)	サトジガバチ	<i>Ammophila vagabunda</i>
	ルリジガバチ属 (1)	ヤマトルリジガバチ	<i>Chalybion japonicum</i>
ヒメハナバチ科 (3)	ヒメハナバチ属 (3)	トゲアシヒメハナバチ	<i>Andrena taraxaci orienticola</i>
		ミツクリフシダカヒメハナバチ	<i>Andrena japonica</i>
		未同定	<i>Andrena sp.</i>
ムカシハナバチ科 (2)	ムカシハナバチ属 (2)	アシプトムカシハナバチ	<i>Colletes patellatus</i>
		オオムカシハナバチ	<i>Colletes collaris</i>
ギングチバチ科 (2)	ツチスガリ属 (1)	マルモンツチスガリ	<i>Cerceris japonica</i>
	スナハキバチ属 (1)	ヤマトスナハキバチ	<i>Bembecinus hungaricus</i>
ヒメバチ科 (2)	<i>Achaisus</i> (1)	シロスジヒメバチ	<i>Achaisus oratorius albizonellus</i>
	アシナガバチヤドリヒメバチ属 (1)	アシナガバチヤドリヒメバチ	<i>Latibulus nigrinotum</i>
ミフシハバチ科 (1)	チュウレンジハバチ属 (1)	ルリチュウレンジ	<i>Arge similis</i>
セイボウ科 (1)	オオセイボウ属 (1)	オオセイボウ	<i>Stilbum cyanurum</i>
コンボウヤセバチ科 (1)	<i>Gasteruption</i> (1)	ヒメコンボウヤセバチ	<i>Gasteruption assectator</i>
シリアゲコバチ科 (1)	<i>Leucospis</i> (1)	シリアゲコバチ	<i>Leucospis japonica</i>

育している植物も見られる他、フジ、アンズ、ホタルブクロ、バラ、シャクヤク、ケイトウなどの多数の園芸品種が栽培管理されている。また、キャンパス内の各所には、ツツジ、サツキが植え込まれている。その他、アレチハナガサ、アザミ、シロツメクサ、クズ、メハジキ、ヤブガラシ、トウネズミモチ等の自生植物も観察される。

ハチの採集は、見つけ採り法により、2022年の4月初旬から10月中旬の間に行った。また、採集時にハチの訪花が観察された植物種を記録した。採集した個体は採集時期と、実体顕微鏡観察で得た形態の特徴を基に、「日本産ハナバチ図鑑」[5]、「日本産有剣ハチ類図鑑」[6]、「狩蜂生態図鑑」[7]を参照し種名を同定した。同定できなかった種については属まで分類した。種名(あるいは属)を同定した種は、科および

属別に種数をまとめた。また、環境省レッドリスト2020・福岡県レッドデータブック2014を参照し[8,9]、採集種に絶滅の恐れのあるカテゴリーに該当する種が含まれているかを確認した。なお、本調査では、小型の寄生蜂、アリ科は対象としなかった。

3. 結果と考察

3.1 ハチ目昆虫の科及び属別種数

本調査において、14科、43属、80種のハチ目昆虫を採集した (Table 1)。科別種数は1-19種、属別では、1-12種であった。科別種数の内訳は、スズメバチ科(19種)、ハキリバチ科(16種)、コハナバチ科(14種)、ミツバチ科(8種)、ツチバチ科(5種)、アナバチ科(5種)、ヒメハナバチ科(3種)、ムカシハナバチ科(2種)、ギングチバチ科(2種)、ヒメバチ科(2種)、ミフシ

ハバチ科（1種）、セイボウ科（1種）、コンボウヤセバチ科（1種）、シリアゲコバチ科（1種）が確認された。属別種数の内訳は、ハキリバチ属（12種）、コハナバチ属（10種）、アシナガバチ属（6種）、スズメバチ属（4種）、他属については1-3種であった（詳細に関しては Table 1 を参照）。

この結果からキャンパス内では、チョウ目等の幼虫を利用するカリバチ類（スズメバチ科）、花蜜や花粉を利用するハナバチ類（ハキリバチ科、コハナバチ科、ミツバチ科）の種数が多いことが明らかになった。また、科別および属別の種数は少ないものの、他種のハチが育児のために集めた食料（チョウ目の幼虫、花粉）に産卵するハチ（オオセイボウ、オオトガリハナバチ、シロスジヒメバチ、ダイミョウキマダラハナバチ、ハラアカヤドリハキリバチ）や、他種のハチの幼虫に産卵するハチ（シリアゲコバチ）といった労働寄生の種も観察された。

3.2 キャンパス内で観察されたハチの訪花食性

アシナガバチ属、スズメバチ属を含むカリバチの多くは、ヤブガラシに訪花していた。また、開花していない植物の周囲をヒメスズメバチ等が飛ぶ様子が観察された。これは餌となるチョウ目の幼虫を探しているものと考えられる。

ハナバチ類は、アレチハナガサ、ホタルブクロ、メハジキ、ハマゴウ、ケイトウ、バラ、ヤブガラシ、ツツジへ訪花していた。以下分類群別に、ハキリバチ属では、アレチハナガサ、ホタルブクロ、メハジキ、ハマゴウへの訪花、コハナバチ属では、アレチハナガサ、メハジキ、ケイトウ、バラへの訪花、ミツバチ属ではヤブガラシ、ツツジへの訪花が観察された。また、植物種は不明だが、ミツバチ科やコハナバチ科のハチは後脚の花粉運搬毛に、ハキリバチ科のハチでは下腹部

の花粉運搬毛に花粉を付けていることが確認されたことから、キャンパス内の植物の花蜜だけでなく花粉も利用していると考えられる。

多くのハナバチ類は蜜源植物が少なくなる7月初旬から8月初旬の間、特に薬草園で管理されているハマゴウに訪花していた（Fig 1）。キャンパス内におけるハマゴウの開花期間は、海辺の環境で生育した場合の報告と似ていたが[10]、背丈の成長には大きな違いが見られた。海辺のハマゴウは海風の影響により通常、背丈が小さいのに対して、キャンパス内のハマゴウは海風の影響を受けないことから、海辺のものよりもより大きく成長していた。そのため、ハマゴウは開花植物が少ない夏季において重要な蜜源となっていた可能性が高い。また、ハマゴウの開花が終わった9月頃から、ハチは薬草園内のアレチハナガサに集中して訪花するようになった。本キャンパスにおいて、アレチハナガサは8月初旬から10月中旬と長期間にわたって開花しており、夏から秋における重要な蜜源植物になっていたと考えられる。

3.3 絶滅危惧種について

本調査により、環境省レッドリスト2020に情報不足（DD）として掲載されているヤマトアシナガバチ、ヤマトスナハキバチ、クズハキリバチ、福岡県レッドデータブック2014に準絶滅危惧種（NT）として掲載されているクズハキリバチとスミゾメハキリバチ、及び情報不足（DD）であるネジロハキリバチの計5種がキャンパス内で確認された。

環境省レッドリストカテゴリーの判定基準によると、準絶滅危惧種に該当する種は、「生息状況の推移から見て、種の存続への圧迫が強まっていると判断されるもの」となっている[11]。具体的には次のいずれかの傾向が顕著であり、今後さらに進行する恐れがあ



Fig.1 *Vitex* sp. in campus. Due to the lack of influence of the sea winds, the plant bodies grow larger than those on the seaside (the left figure). Carpenter bees, *Xylocopa appendiculata*, visiting on *Vitex* sp (the right figure).

るものである。a) 個体数が減少している, b) 生息条件が悪化している, c) 過度の捕獲・採取圧による圧迫を受けている, d) 交雑可能な別種が侵入している。情報不足に該当する種は、「環境条件の変化によって、容易に絶滅危惧のカテゴリーに移行し得る複数の属性を有しているが、生息状況をはじめとして、カテゴリーを判定するに足る情報が得られていない種」であり、具体的には以下の属性である。a) どの生息地においても生息密度が低く希少である, b) 生息地が局限されている, c) 生物地理上、孤立した分布特性を有する, d) 生活史の一部又は全部で特殊な環境条件を必要としている [11]。したがって、これらの判定基準に基づくと、現時点で絶滅の可能性は低いものの、人為活動などの環境変化に対して弱いと考えられる複数の種が本キャンパス内に生息しているものと推察される。以下に、上記5種のうち4種について、キャンパス内で確認できた営巣状況、訪花・食性等について記載した。

3.3.1 キャンパス内における準絶滅危惧種、情報不足種の観察・記載

クズハキリバチ、スミゾメハキリバチは双子葉植物の葉を切り抜き、地中に掘った巣穴や竹筒の中等に葉を詰めて営巣し [5,12]、ネジロハキリバチは葉ではなく樹脂を用いて営巣する。キャンパス内において、スミゾメハキリバチが、朽ちた木材に切り取った葉を丸めて営巣している姿が観察された。スミゾメハキリバチはホタルブクロへの訪花が観察され、ホタルブクロの開花が終わる5月下旬頃には姿が確認できなくなった。ネジロハキリバチとクズハキリバチは夏季に観察され、ハマゴウ、アレチハナガサへの訪花が観察された。

ヤマトアシナガバチは、草本の表皮、樹脂の皮を用いて、草本の枝や建物の軒下、石垣等に小さい巣を作る [5,13]。本調査において、校舎の軒下と薬草園内の草本の枝、以上の2か所において営巣が観察された。本種はチョウ目の幼虫を子の餌として与えることから [13]、キャンパス内に豊富に存在するチョウ目の幼虫を利用していった可能性が高い。

まとめ

本調査において、14科、43属、80種の飛翔性ハチ目昆虫が観察された。福岡大学キャンパス内は、自生植物だけでなく、人為的に持ち込まれた多数の植物種が栽培、管理されており、花資源が不足する夏季においても多くのハナバチの訪花が観察される。また、カリバチの餌となるチョウ目の幼虫、カメムシ類も多数生息していることから、多くのハチ目昆虫が採餌場と

して利用している好適な環境であると推察される。

さらに、キャンパスの敷地内において、人為活動などの環境変化に対して弱いと考えられる準絶滅危惧種、情報不足に該当する複数種の生息、および営巣が確認された。本キャンパス周囲の緑地が断片化していること、ハチの移動範囲が一般に広くないことを考慮すると、採集された多くの種の生活はキャンパス内で完結している可能性が高い。そのため、キャンパス内、あるいはその近辺の環境変化は、一部種の個体数の減少、ひいては喪失につながる恐れがある。本調査で対象とならなかった分類群を含み、キャンパス内ではその他にも多くの種が生息している可能性が高く、キャンパスおよび周辺域の生息種の現状の理解のためにもさらなる調査が必要である。

謝辞

植物種の同定に関して貴重な助言を頂きました福岡大学薬学部の大川雅史教授に感謝いたします。

Acknowledgment

We would like to thank Prof. Masafumi Ookawa for his valuable comments and assistance in identifying plant species.

参考文献

- [1] 森本桂, 哺乳類科学, 37, 27-32 (1997).
- [2] A. Gathmann and T. Tscharntke, *Journal of Animal Ecology*, 71, 757-764 (2002).
- [3] S.S. Greenleaf, N.M. Williams, R. Winfree, and C. Kremen, *Oecologia*, 153, 589-596 (2007).
- [4] A. Zurbuchen, L. Landert, J. Klaiber, A. Müller, S. Hein, and S. Dorn, *Biological Conservation*, 143, 669-676 (2010).
- [5] 多田内修, 村尾竜起, “日本産ハナバチ図鑑”, 文一総合出版, 東京 (2014).
- [6] 寺山守, 須田博久, “日本産有剣ハチ類図鑑”, 東海大学出版部, (2016).
- [7] 田仲義弘, “狩蜂生態図鑑: ハンティング行動を写真で解く”, 全国農村教育協会, (2012).
- [8] 環境省, “環境省レッドリスト. 2020. 昆虫類”, (2020).
- [9] 福岡県, “福岡県レッドデータブック 2014. 昆虫類. 改訂版”, (2014).
- [10] 黒田有寿茂, 人と自然, 31, 73-92 (2021).
- [11] 環境省 (編), “環境省レッドリストカテゴリーと判定基準. 2020”, (2020).
- [12] 多田内修, 農業および園芸, 95, 291-300 (2020).
- [13] 山根爽一, 農業および園芸, 95, 301-321 (2020).

総説

Dyes for food and fabrics

- Advanced student experiments using azo compounds

Jun KOGA¹⁾, Taichi MIYAKAWA¹⁾, Yoko SATO²⁾ and Masatada MATSUOKA^{1)*}

(Received May 1, 2024)

Abstract

In high school and university chemistry courses, students learn about the structure, reactions, and uses of aromatic compounds in daily life in the field of “properties of organic compounds.” These courses highlight the effect of functional groups on the properties of materials and the mutual relationship between the reactions and structures of compounds. Herein, we focused on bleaching synthetic colorants using chlorine bleach. An experimental class program was designed to evaluate dyeing and bleaching processes using three types of synthetic colorants that are susceptible to bleaching. This experiment is suitable as a teaching material to make students aware that organic compounds are decomposed by bleaching and disinfection.

By analyzing the patterns generated by thin layer chromatography (TLC), the progress of organic chemical reactions and the polarity of compounds is compared. In this study, we develop an experimental program that includes the synthesis of an azo dye and generation of dot matrix using the synthesized azo dye.

Keywords: introductory chemistry, hands-on learning, chlorine bleach, azo dyes, thin-layer chromatography

1. Introduction

Since ancient times, humans have enriched their lives by dyeing thread and cloth using pigments obtained from the flowers, leaves, and roots of plants, as well as from animals such as insects and shellfish. In 1856, William Perkin of England developed a purple synthetic dye (mauve), after which synthetic dyes rapidly became popular. Currently, the most widely used dyes are azo dyes. In addition to washing with soap and synthetic detergents, bleaching, which decomposes and removes stains and dirt through oxidation-reduction reactions, is a typical way to keep clothes and fabrics clean.

The development of teaching materials that focus on bleaching an aqueous dye solution is not only effective for visualizing the removal of stains using chemical methods, but can also be used as a model for the decomposition of organic matter through disinfection. Therefore, herein, we introduce a student experiment involving visual changes in which an aqueous solution of a synthetic colorant is bleached using chlorine bleach [1].

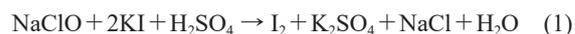
In addition, azo compounds are synthesized through the reaction of phenols and aromatic amines. Experiments

in which fabrics are dyed using synthesized azo compounds are often practiced, but many of the azo compounds that can be synthesized in the laboratory have yellowish colors, making it difficult to distinguish between the compounds. Therefore, we developed a new student experiment that uses thin layer chromatography (TLC) to represent numbers as a dot matrix [2].

2. Development of chemical experiment as a teaching material to observe bleaching of synthetic colorants by chlorine bleach

2.1 Determination of sodium hypochlorite contained in chlorine bleach

First, we determined the molar concentration of an aqueous sodium hypochlorite solution sold as a reagent [3]. In this titration, sodium hypochlorite and potassium iodide are reacted in the presence of sulfuric acid to generate free iodine.



The produced iodine is then titrated with a sodium thiosulfate standard solution.



After adding sodium hypochlorite aqueous solution

1) Department of Chemistry, Faculty of Science, Fukuoka University. Nanakuma 8-19-1, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan.

2) Department of Education, Faculty of Education, Kamakura Women's University. Ōfuna 6-1-3, Kamakura, Kanagawa 247-8512, Japan.

*Corresponding author: M. Matsuoka (e-mail: mtokmstd@fukuoka-u.ac.jp)

(5 mL, using a whole pipette) into a 100 mL volumetric flask, distilled water is added up to the marked line. A 10 mL sample of this aqueous solution is accurately measured using a whole pipette, placed into a 200 mL Erlenmeyer flask, and 90 mL of distilled water is added. Thereafter, 1.0 g of potassium iodide and 5.0 mL of 3.0 mol/L sulfuric acid are added to this solution and mixed gently to generate iodine. This solution is titrated with 0.100 mol/L sodium thiosulfate standard solution. When the yellow color of the solution becomes lighter, 5 drops of 0.5% starch solution are added as an indicator, and the end point is marked by the disappearance of the blue color. Each titration is performed five times, and the average is used.

An experiment was conducted on the day of opening the package of sodium hypochlorite aqueous solution (manufactured by FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation), where the concentration was 0.625 mol/L, which is within the range of 0.5– 0.7 mol/L for commercially available chlorine bleach. Note that the commercially available sodium hypochlorite aqueous solution (chlorine bleach) tends to

change depending on the storage period and storage conditions after manufacture; thus, immediate use after purchase is recommended in student experiments.

2.2 Bleaching of synthetic colorants with chlorine bleach

The original color of food often changes due to oxidation under air and decomposition by light and microorganisms. Therefore, synthetic colorants are added to processed foods in order to maintain the original color of the food or improve the coloring.

Synthetic colorants were discovered during the development of dyes for dyeing textiles. Currently, twelve compounds are approved as synthetic food colorants in many countries [4]. All of these have either a carboxy group (-COONa), sulfo group (-SO₃Na), or phenolic hydroxy (-ONa) functional group. Based on their skeleton, these compounds are classified into azo type, which has an azo group (-N=N-), xanthene type, triphenylmethane type, or indigoid type (Figure 1).

Student experiments using these synthetic colorants

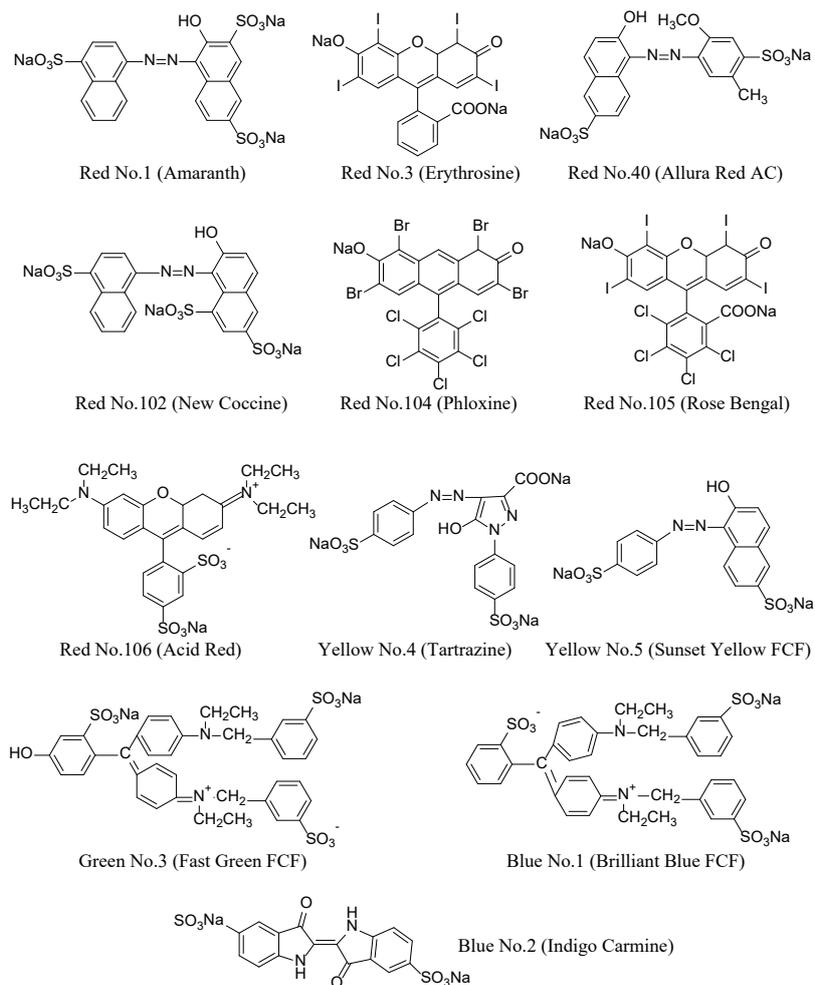


Fig.1 Synthetic colorants for food.

include practicing the separation of synthetic colorants contained in foods by thin layer chromatography [5] and dyeing of wool [6], as well as teaching materials on reaction rates using bleach [7]. A route in which the hypochlorite ion (ClO^-) attacks the carbon bonded to the azo group $-\text{N}=\text{N}-$ in a nucleophilic manner and cleaves it to produce a diazonium ion has been assumed as one of the mechanisms by which dyes with azo groups are bleached by chlorine bleach [8]. Therefore, we observed the color change upon adding a sodium hypochlorite aqueous solution to a synthetic colorant aqueous solution and evaluated the susceptibility to bleaching. All experiments were conducted at 25 °C.

2.3 Bleaching of synthetic colorants with chlorine bleach

The synthetic colorant (10 mg; manufactured by Tokyo Chemical Industry) was dissolved in water to make 1 L solution. Thereafter, 10 mL of sodium hypochlorite aqueous solution was measured and placed in a 100 mL volumetric flask, and distilled water was added up to the marked line.

The diluted sodium hypochlorite aqueous solution (5.0 mL) was placed a 10 mL beaker, into which 1.0 mL of synthetic colorant aqueous solution was added, and the color change was observed. At this time, as a reference, mixed solution of 5.0 mL of distilled water and 1.0 mL of an aqueous solution of the synthetic colorant were prepared in advance, and both were observed side by side.

The results of the experiment are summarized in Table 1. Red 102 and Blue 2 were immediately bleached after dropping the bleach solution and became almost colorless and transparent. Red 2, Red 40, Yellow 4, and Yellow 5 be-

came colorless and transparent within 3 min.

The experimental results of bleaching synthetic colorants using sodium hypochlorite aqueous solution are summarized in Table 2. Synthetic colorants with azo-based and indigoid-based pigments are easily bleached, and it is assumed that the corresponding functional groups are oxidized and decomposed by hypochlorite ions, causing the color to disappear.

Table 2 Decomposition of synthetic colorants by chlorine bleach.

	Name	Molecular structure
Easily bleached	Red 102 Yellow 5	Azo type
	Blue 2	Indigoid type
Bleached, but slow color change	Red 2, 40 Yellow 4	Azo type
Difficult to observe bleaching	Red 3, 104 Red 105, 106	Xanthene type
	Green 3 Blue 1	Triphenylmethane type

When an aqueous solution of synthetic colorant is acidified with acetic acid and a polymeric compound with amino groups or amide bonds, such as wool or polyamide, is added to the solution, the dye binds to the polymer and dyes the product. Therefore, we investigated the dyeing and bleaching of multifiber fabrics using Red 102, Yellow 5, and Blue 2, which are easily bleached with chlorine bleach.

An aqueous solution of the synthetic colorant (10 mL) was placed in a 50 mL beaker, and a multifiber fabric (width 1 cm) was immersed using tweezers and soaked thoroughly. Thereafter, 0.5 mL of acetic acid was added and allowed to stand for 10 min. Afterwards, the solution

Table 1 Bleaching characteristics with aqueous sodium hypochlorite solution.

(◎◎ indicates that the solution became colorless and transparent, ◎ indicates that the color was slightly faded, and × indicates that no change was observed)

Name	Maximum absorption wavelength (nm)	Molar absorption coefficient ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	Color change	
			After 1 min	After 3 min
Red 2	521	1.85×10^4	◎	◎◎
Red 3	526	4.24×10^4	×	×
Red 40	504	1.61×10^4	◎	◎◎
Red 102	506	1.44×10^4	◎◎	◎◎
Red 104	538	2.72×10^4	×	×
Red 105	549	6.97×10^4	×	×
Red 106	565	5.32×10^4	×	×
Yellow 4	424	2.48×10^4	×	◎◎
Yellow 5	481	2.86×10^4	×	◎◎
Green 3	623	6.47×10^4	×	×
Blue 1	629	7.69×10^4	×	×
Blue 2	610	9.55×10^3	◎◎	◎◎

was discarded, the cloth was washed with water, and the dyeing process was observed. Subsequently, 10 mL of aqueous sodium hypochlorite solution (diluted 10-fold) was placed in a 50 mL beaker, the dyed cloth was immersed using tweezers, and the beaker was covered with a watch glass and allowed to stand for 10 min. Afterwards, the solution was discarded, the cloth was washed with water, and the bleaching process was observed.

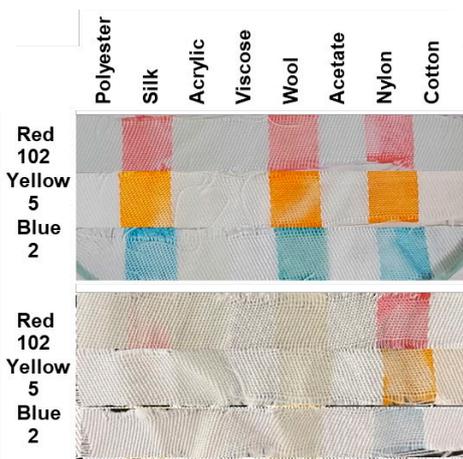


Fig.2 Dyeing and bleaching using multi-fiber woven fabric. (Top: after dyeing, bottom: after bleaching)

The results of the experiment are shown in Figure 2, and although yellowing (due to the formation of chloramines) was observed in silk and wool, it was confirmed that bleaching was easier when silk fabric was dyed with Red 102. Blue 2 is sensitive to heat and light, and its aqueous solution loses its blue color within a week even in the dark; thus, this dye was judged to be unsuitable for student experiments.

2.4 Student experiment

2.4.1 Dyeing and bleaching of silk fabric with synthetic colorants

Through experiments, students will be made aware that synthetic colorants are easily bleached. First, we dyed a silk cloth (4 cm square) with Red 102 using the method in Section 2.3. Thereafter, 10 mL of an aqueous solution of chlorine bleach (10 times diluted) was poured into two 50 mL beakers. A silk cloth dyed red was dipped on one side and a commercially available red cloth was immersed on the other side with tweezers, covered with a watch glass, allowed to stand for 7 min, then washed with water and the color change was observed.

2.4.2 Bleaching of synthetic colorant aqueous solution with chlorine bleach

To make effective use of the aqueous bleach solution used in the experiment and to enhance the presentation effect, students will be asked to observe continuous color changes.

First, 10 mL each of an aqueous solution of chlorine bleach (10 times diluted), Red 102, Yellow 5, and Blue 2 was poured into four 50 mL beakers. Thereafter, the bleach solution was added to the Red 102 solution the change to almost colorless and transparent was observed. Next, by sequentially adding the aqueous solution after the reaction to the Yellow 5 and Blue 2 aqueous solutions, a continuous color change can be observed.

2.5 Advanced demonstration experiment

Because the aqueous solution in Section 2.4.2 contains unreacted sodium hypochlorite, the continuous color change can be further highlighted by combining the reactions performed in Section 2.3 (Figure 3).

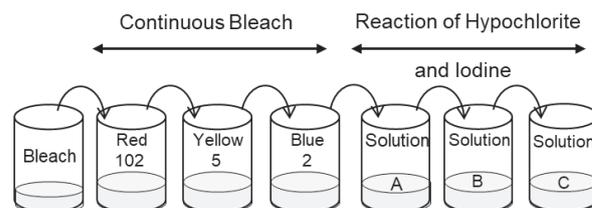


Fig.3 Observation of continuous color changes.

First, when a potassium iodide aqueous solution is added to the bleach solution after the reaction, iodine is freed. After observing a deep purple color due to the iodine-starch reaction, adding sodium thiosulfate aqueous solution returns the solution to colorless and transparent [9]. The concentration and volume of the aqueous solution are as follows:

Solution A	
5% potassium iodide aqueous solution	20 mL
Solution B	
0.5% starch aqueous solution	20 mL
Solution C	
0.10 mol/L sodium thiosulfate aqueous solution	20 mL

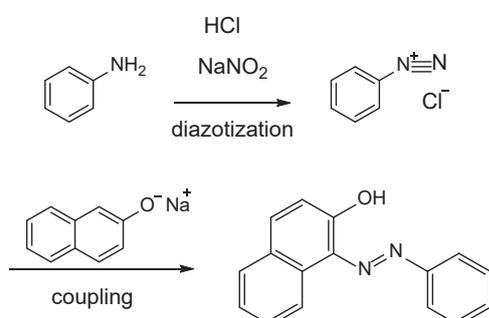
The above aqueous solutions (solutions A–C) are prepared and placed in different 100 mL beakers. The aqueous solution that was previously decolorized with the three types of synthetic coloring aqueous solutions in Section 2.4.2 is poured into the beaker containing Solution A. If a color change is observed, we sequentially transfer the liquid

to beakers containing liquids B and C and observe the color change in each. Observing continuous color changes like this can also be used as ‘chemistry magic’ at science experiment events for elementary and junior high school students.

3. Synthesis of azo dyes and generation of dot matrix using thin-layer chromatography

3.1 Overview of the experiment

When aromatic amines are diazotized and sodium salts of phenols are added, a coupling reaction proceeds and azo dyes are produced (Scheme 1). Azo dyes generally occur as yellow to red crystals. Various azo dyes can be synthesized by combining multiple aromatic amines and phenols.



Scheme 1 Synthesis of 1-phenylazo-2-naphthol.

Thin-layer chromatography (TLC) is a technique for separating and purifying various substances using a thin layer membrane made of silica gel (SiO_2). When a sample compound is adsorbed on the plate and the edge of the plate is immersed in a solvent, capillary action causes the solvent to travel through the silica gel layer and the compound on the plate to travel as well. Therefore, when the experiment is performed using a mixture of organic compounds, they can be separated from each other.

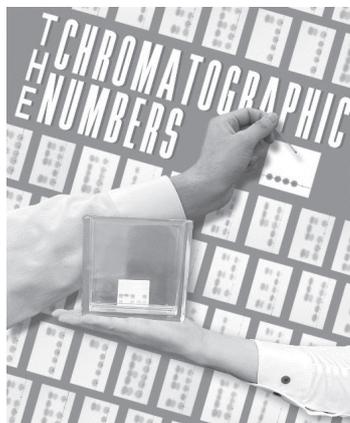


Fig. 4 Diagram of experiment to express numbers on TLC plate.

In this learning program, we will conduct two experiments: synthesis of azo dyes and separation of azo compound mixtures using TLC. Part A involves the synthesis of azo dyes. Students experience how various azo dyes can be synthesized from prepared aromatic amines and phenols. This experiment takes about 120 min. Part B is a fun experiment in which we draw numbers like that in Figure 4 on TLC plates using the synthesized azo dyes. It takes 30 min to prepare the azo dye solution and 50 min to draw the three numbers on the TLC plate.

3.2 Generation of dot matrix using thin-layer chromatography

When a mixed solution of multiple dyes is separated using TLC, multiple spots are lined up vertically. Here, we use this to experiment to draw a pattern (dot matrix) that looks like numbers. Figure 5 is a schematic of the process. By using three types of azo dyes (A, B, and C) that move different distances on the TLC plate, it is possible to draw numbers from 0 to 9 on the plate. If five locations are spotted on the TLC plate and elution is allowed to proceed, the numbers will grow sideways. Thereafter, by rotating the resulting TLC plate by 90° , the spots look like numbers.

Figure 6 shows how the numbers 0–9 appear on the TLC plate. Four types of dye solutions, a–d, are required to perform this experiment. The compositions of the dye solutions a–d are shown in Table 3.

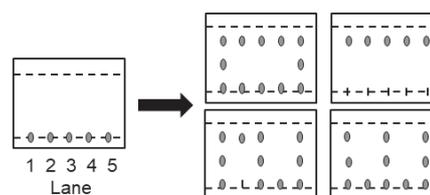


Fig. 5 Generation of dot matrix by TLC (the numbers appear sideways).

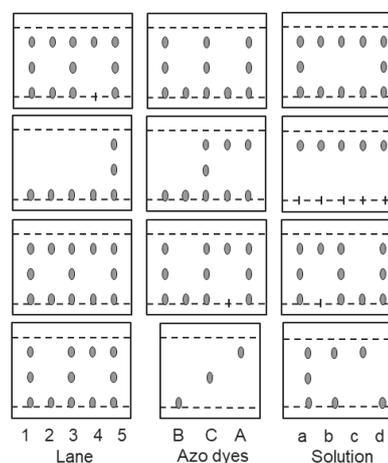


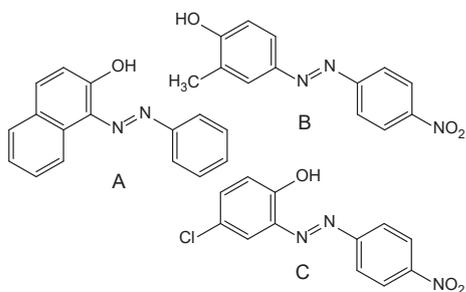
Fig. 6 Expression of numbers 0–9 in dot matrix form.

Table 3 Composition of dye solutions required for the experiment.

Solution	Composition
a	A, B, C
b	A,B
c	A
d	B

3.3 Part A: Preparation of azo dyes

Experimental teaching materials for synthesizing azo compounds from multiple aromatic amines and phenols have also been developed to introduce students to combinatorial chemistry [10]. The synthesized azo compounds are of the three types shown in Figure 7. Although it is assumed that each group will divide up their efforts in synthesizing the compounds, it is also possible for instructors to prepare the dyes in advance and carry out only Part B.

**Fig. 7** Azo dyes to be synthesized.

The aromatic amines (2.0×10^{-3} mol) are added to a 50 mL glass vial, then 4.0 mL of 2.0 mol/L hydrochloric acid is added and the glass vial is immersed in an ice-water bath and stirred with a magnetic stirrer. After 5 min, 2.0 mL of 1.0 mol/L sodium nitrite aqueous solution is added dropwise and stirred for an additional 5 min in an ice-bath to proceed with diazotization. An ice-cooled solution is also prepared by mixing 2.0×10^{-3} mol phenol and 4.0 mL of 2.0 mol/L sodium hydroxide aqueous solution in

a 20 mL beaker.

The aqueous solution of sodium phenoxide is slowly added to the solution in the glass vial. The solution then turns yellow to reddish brown and a precipitate forms. Cold water 20 mL is added to this solution and stirred for 5 min.

Approximately 150 mL of distilled water is added to a 300 mL beaker. The reaction mixture is poured into this beaker and then filtered. A total of 50 mL of distilled water is used to wash the precipitated product in the funnel, the filter paper is placed on a paper towel to absorb water, and the product is then dried at room temperature for 24 h. Table 4 shows the crude yield of each compound. When drawing the dot matrices, satisfactory results can be obtained using the crude products.

Table 4 Yield of azo dyes used to produce dot matrix using TLC.

3.4 Part B: Generation of dot matrix

The four types of dye solutions will be shared with group members, but each person will conduct experiments using TLC. Before the experiment, we instruct the students to think about the three numbers they want to draw on the TLC plate and think about which dye solution to spot on Lanes 1 to 5.

First, we prepare four types of dye solutions a–d for use in the TLC demonstration. As shown in Table 3, 10 mg of each dye is weighed and placed in a 10 mL glass vial; 5 mL of acetone is added to dissolve the dye. Instructors can also prepare four types of solutions in advance and perform just the TLC demonstration.

Next, we select the number to be drawn in the dot matrix and spot the solution at the origin of Lane 1 to Lane 5, respectively, referring to Figure. 6. When spotting, a hematocrit capillary tube is used so that the diameter of the spot is approximately 5 mm. Even if the spot becomes large and overlaps with neighboring spots, the experimental re-

Table 4 Yield of azo dyes used to produce dot matrix using TLC.

	A (Sudan I) 402 mg, 81% $R_f = 0.58^a$		
		B 357 mg, 69% $R_f = 0.19^a$	C 353 mg, 64% $R_f = 0.48^a$

^a R_f values were calculated for the selected dyes after developing in hexane:acetone = 5:1

sults will not be significantly affected.

The TLC plate is placed in a 100 mL beaker containing 2 mL of the demonstration solvent (hexane : acetone = 5:1), covered with a watch glass, and observed for approximately 5 min, with the demonstration ending when the solvent rises to roughly 5 mm from the top of the TLC plate. The same experiment is repeated with the remaining two TLC plates to generate different numbers using the dot matrix. The experiment is shown in Figure 8.

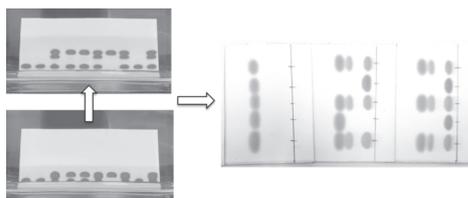


Fig. 8 Generation of Dot Matrix using TLC.

In 1994, Reynolds and Comber reported a novel demonstration of drawing the alphabet with a dot matrix using a solution prepared by combining seven kinds of dyes [11]. Since the dyes employed in their experiment were bright in color, this strongly indicated that TLC can be used for the separation and purification of organic compounds.

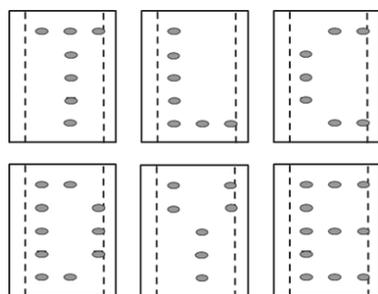


Fig. 9 Generation of Alphabet using TLC.

We can also use this to display several alphabet letters, as shown in Figure 9. At this time, it is appropriate to have students consider how many types of dye solutions should be prepared and which solution should be spotted on each lane as a topic for the report.

4. Conclusion

In high school and university chemistry, students learn about the structure, properties, and reactions of aromatic compounds in the “Properties of Organic Compounds” unit [12]. The properties characterized by functional groups and the interrelationships of compounds are dealt with in relation to the reactions and structures.

We introduced some surprising experiments regard-

ing dyeing, bleaching, and the properties of azo compounds. It is hoped that through these experiments, students will be able to deepen their understanding of the basic concepts of chemistry and develop an attitude of scientific inquiry. Students can also write reports and give presentations in class, and the experiment is considered an appropriate teaching material for developing thinking and expressive skills.

Hazards

The students and instructors should wear lab coats, safety goggles, and suitable gloves during the preparation and demonstration. Chlorine bleach and Azo dye solutions are considered irritants upon inhalation, ingestion, skin contact, and eye contact. Organic solvent may cause drowsiness or dizziness. The demonstration should not be performed near open flames or ignition sources. In the event of skin contact, the affected area should be washed thoroughly with soap and water. Recent (material) safety data sheets should be reviewed. Since the organic solvents tends to evaporate, development of the TLC was performed under a fume hood. After the experiment, the solvent should be disposed of in an organic waste container.

Acknowledgment

This work was partly supported by JSPS KAKENHI Grant Number 21K13663.

References

- [1] T. Miyakawa, Y. Sato, M. Matsuoka, *Kagaku-to Kyoiku (Chemistry & Education)*, **71**, 170 (2023).
- [2] M. Matsuoka, J. Koga, A. Miyahara, *J. Chem. Educ.*, **100**, 869 (2023).
- [3] Minneapolis Community and Technical College, “Determination of Sodium Hypochlorite in Household Bleach” (accessed 2024.05.01). https://www.mctcteach.org/chemistry/C1152/C1152_handouts/lab_handouts/Titration_of_bleach.pdf
- [4] Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (TCI), “Food Color Solutions (permitted 12 food colors in Japan)”, (accessed 2024.05.10). <https://www.tcichemicals.com/JP/ja/c/10111>
- [5] K. Goto, T. Usui, *Kagaku-to Kyoiku (Chemistry & Education)*, **41**, 394 (1993).
- [6] S. F. Palme, A.H. Johnson, G. R. A. Wyllie, *J. Chem. Educ.*, **101**, 124 (2024).
- [7] I. Madriz, F. M. Cabrerizo, R. Vargas, *J. Chem. Educ.*, **98**, 2127 (2021).

- [8] J. Oakes, P. Gratton, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.*, **10**, 2201 (1998).
- [9] S. W. Wright, W. D. Cotton, *J. Chem. Educ.*, **79**, 44 (2002).
- [10] B. W. Gung, R. T. Taylor, *J. Chem. Educ.*, **81**, 1630 (2004).
- [11] R. C. Reynolds, R. N. Comber, *J. Chem. Educ.*, **71**, 1075 (1994).
- [12] Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT), “National Curriculum Standards for lower and upper secondary schools (学習指導要領)”, 2017.

硫黄を含むキサントリウム類に関する最近の展開

長洞 記嘉

(令和6年5月10日受理)

Recent Development in the Chemistry of Xanthylium Salts Containing a Sulfur Atom

Noriyoshi NAGAHORA

(Received May 10, 2024)

Abstract

Xanthylium salt represents one of the most fundamental classes of molecules in the field of organic chemistry. The chemistry of xanthylium salts in particular has received much attention, as they not only represent fascinating synthetic building blocks for new compounds, but potentially also offer promise in functional devices, such as organic electronic devices, dyes or sensors. On the other hand, several papers have been published on the synthesis of thio- or selenoxanthylium salts, and some of these compounds have known to be present among bioimaging molecules. In contrast to the chemistry of xanthylium salts, study on the synthetic investigations of thioxanthylium salts as well as its selenium congeners still remain limited. As far as superior properties of organic devices based on xanthylium salts are concerned, thio- and selenoxanthylium salts are promising candidates for molecular electronics. Disclosing their properties is extremely fascinating from the viewpoint of not only fundamental chemistry but also developing molecular electronics or new building blocks containing sulfur or selenium heterocycles. Herein, this review is described recent synthetic studies on the chemistry of thioxanthylium salts.

Keywords: Thioxanthylium salts, Friedel–Crafts reaction, UV-vis absorption spectroscopy, NMR spectroscopy

1. はじめに

キサントリウム塩は陽イオンの酸素原子を6員環内に含む化合物であり、ヒュッケル則を満たす芳香族化合物である(図1)。安定な物質であり、レーザーや色素材料として活発に研究が展開されている。更に適度な反応性も有しているため、有機合成化学分野では合成前駆体として用いられ、有用な物質への変換も可能であり広く研究されている[1,2]。その高周期類縁体であるチオおよびセレンオピリリウム塩に関する合成研究は古くから散見されるものの系統的な調査はされおらず、合成化学者の挑戦課題と言える[3–22]。

既存のチオキサントリウム塩の合成法は次の3つに大別可能である(Scheme 1)。第一には9*H*-チオキサト-9-オンを原料として使用し、カルボニル基を還元、引き続きチオピリリウム骨格へと導く方法であり、取

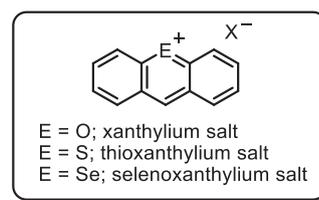
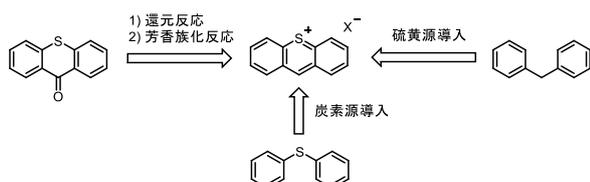


Fig.1 キサントリウム塩とその高周期類縁体の構造

率良く生成物を得る堅実な手法である。次は、ジアリールメタン誘導体から硫黄源を作用させ、環化反応とチオピリリウム骨格形成を一度に行う方法である[23]。報文は限られおり、更なる検討が必要である。最後は、ジアリールスルフィド類に炭素源となる試薬を作用させ、環状骨格を作り出す方法である[24]。効率的な合成にはジアリールスルフィド類に適切な置換基導入により、反応位置の制御が必要ではあるが、多様な誘導

体を合成可能な優れた方法である。

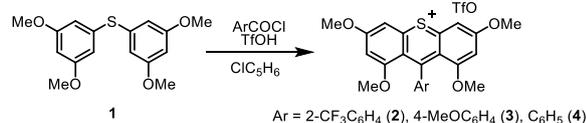


Scheme 1 チオキサントリウム塩の既存合成法

本稿では、最近報告された硫黄を含むキサントリウム塩の合成法をまとめた。

2. ジアリールスルフィドと塩化アシルの反応によるチオキサントリウム塩の合成

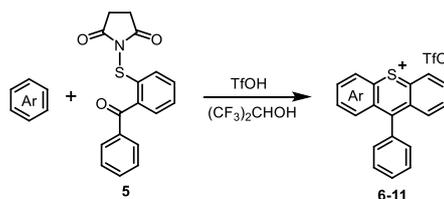
2018年、田中らはアリールスルフィド **1** と塩化ベンゾイルを用いた Friedel-Crafts 反応による新規なチオキサントリウム塩 **2-4** の合成を報告した (Scheme 2) [25-26]. アリールスルフィドの芳香族環にメトキシ基を適切に配置することで、反応の選択性を高め、所望のチオキサントリウム骨格を形成する優れた反応である。この論文では合成したチオキサントリウム塩を光レドックス触媒として用いて、Diels-Alder 反応を実施しており、チオキサントリウム塩を利用した新たな有機合成を開拓することにも成功している。



Scheme 2 化合物 **2-4** の合成

3. チオスクシンイミド誘導体と芳香族炭化水素類の反応によるチオキサントリウム塩の合成

2023年、伊丹らは *N*-チオスクシンイミド誘導体 **5** と芳香族炭化水素類との反応で縮合多環チオキサントリウム塩合成に成功した (Scheme 3) [27]. 簡便に入手できる芳香族炭化水素を反応原料として用い、選択的に縮合多環誘導体を合成できる非常に優れた反応である。化合物 **5** のスクシンイミド部位は酸性条件下で脱離基として働き、芳香族化合物との反応によりジアリールチオエーテルが発生すると考えられる。引き続き、分子内 Friedel-Crafts 反応により生成物を与えると予想される。この方法によりこれまで合成が困難であった分子構造を有する芳香族縮合体 **6-11** が合成できるようになった (Chart 1).



Scheme 3 チオキサントリウム塩 **6-11** の合成

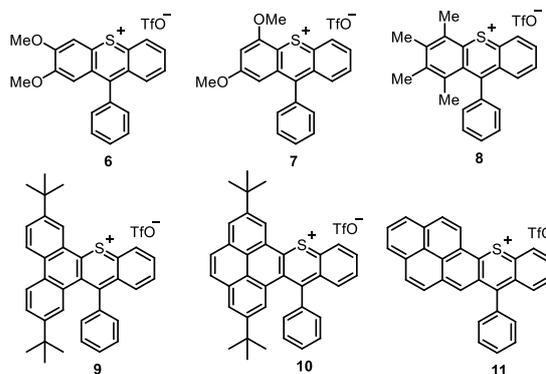
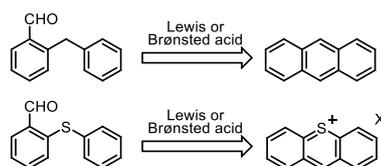


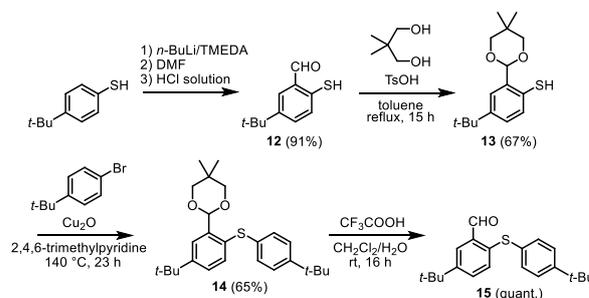
Chart 1 チオキサントリウム塩 **6-11** の分子構造

4. 近接位にホルミル基を有するチオエーテルの分子内環化によるチオキサントリウム塩の合成

筆者もチオキサントリウム塩合成を行うにあたり、芳香族炭化水素類の構築法を調査した。文献を調べると、ホルミル基をもつジフェニルメタンにルイス酸もしくはブレンステッド酸を作用させ、アントラセンが合成できることが報告されていた [28-30]. この方法をジフェニルチオエーテルに適用させればチオキサントリウム骨格を形成できると着想した (Scheme 4).

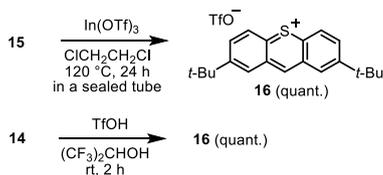


Scheme 4 チオキサントリウム塩の新規合成戦略



Scheme 5 ジアリールチオエーテル **15** の合成

そこで近接位にホルミル基を有するジアリールチオエーテルを合成し、環化反応によるチオピリリウム骨格形成を確認することにした。市販の *tert*-ブチルベンゼンチオールをリチオ化し、*N,N*-ジメチルホルムアミドを作用させホルミル基を導入した (Scheme 5)。ホルミル基を保護し、銅試薬存在下、*tert*-ブチルプロモベンゼンとカップリングすることで化合物 **14** へと誘導した。脱保護することで近接位にホルミル基を有するチオエーテル **15** を得た。化合物 **15** にルイス酸として $\text{In}(\text{OTf})_3$ を作用させたところ反応は定量的に進行し、目的のチオピリリウム塩 **16** を合成することに成功した (Scheme 6)。ホルミル基の脱保護と共に環化反応も可能と考え、アセタール **14** に TfOH を室温で作用させたところ、二時間で反応はスムーズに進行しチオピリリウム塩 **16** を定量的に与えた。予期した分子内環化反応が進行し、ジベンゾチオピリリウム塩を合成できることが明らかになった [31,32]。



Scheme 6 チオキサンチリウム塩 **16** の合成

次にこの反応の適用範囲を確認するために構造の異なるチオエーテル類を合成し、それらの分子内環化反応を検討した (Chart 2 および Scheme 7)。Chart 2 には立体選択的に進行した反応で得られたチオピリリウム塩を示している。いずれの反応でも室温で2時間以内に高い収率で生成物を与えることが明らかになった。Scheme 7 には二種類の生成物を与えた反応を示した。立体選択性はやや低下するものの、環化反応は容易に進行することが明確になった。これらの結果から、ホルミル基を近接位に配置したチオエーテル誘導

体のプレンステッド酸もしくはルイス酸により誘起される環化反応により芳香族縮環チオキサンチリウム塩を合成できることが実験的に証明された。

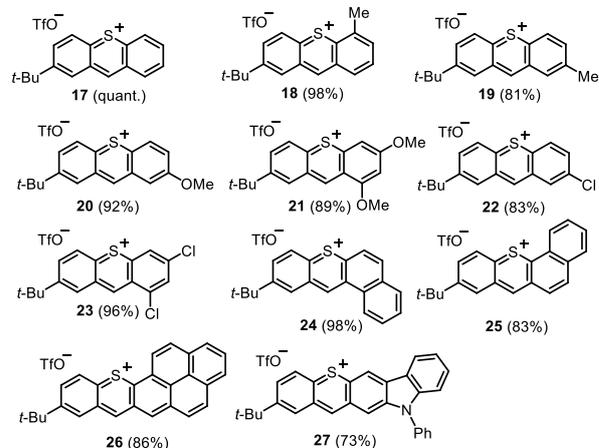
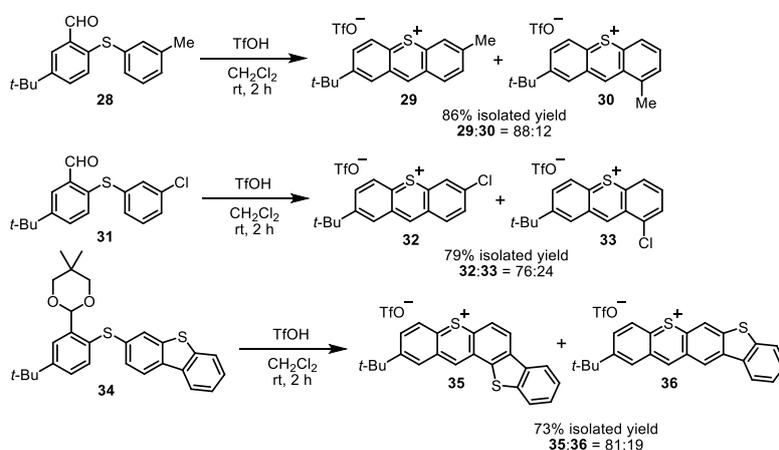


Chart 2 チオキサンチリウム塩 **17-27** の分子構造

分子構造の確認は各種 NMR、質量・元素分析で行った。更に、固体構造を単結晶 X 線構造解析で行った。合成した新規チオピリリウム塩の電子構造を調査するために紫外可視吸収スペクトルの測定を行った。化合物 **19**, **26**, および **27** のジクロロメタン溶液のスペクトルにおいて最長波長吸収帯の極大は、それぞれ 530, 701 および 693 nm であり、共役平面拡大が長波長化を引き起こしていることが明らかになった。さらに、対応する炭化水素化合物であるアントラセン ($\lambda = 357$ nm) やナフトピレン ($\lambda = 550$ nm) のそれらと比較すると、チオキサンチリウム骨格を組み入れることで顕著な吸収波長の長波長シフトが観測された。これは、第3周期硫黄原子が骨格内に含まれることで硫黄 3p 軌道と炭素 2p 軌道の重なりが小さくなり、HOMO 準位の上昇と LUMO 準位の低下が起こったと考えられる。



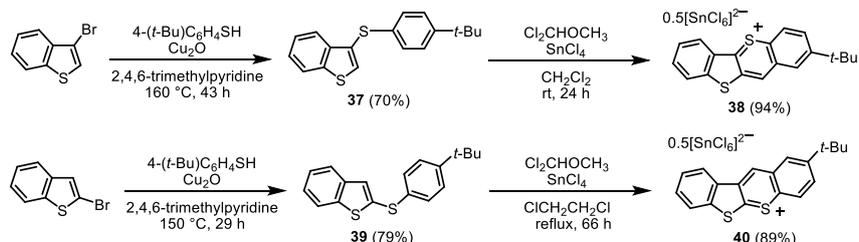
Scheme 7 チオキサンチリウム塩 **29-36** の合成

5. 新規なチオフェン含有チオピリリウム塩の合成

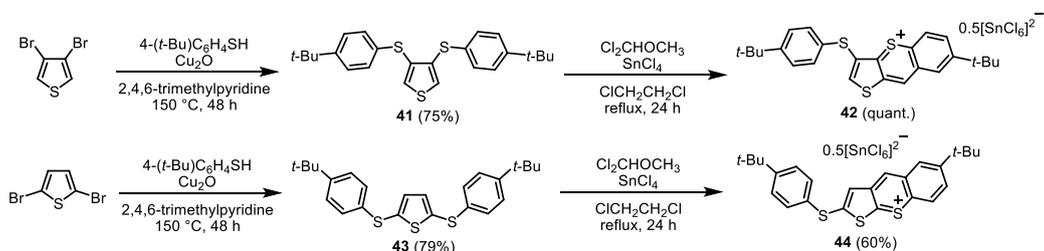
前述のように新規チオキサントリウム環形成反応が確立したため、チオフェンを縮環させた幾つかの誘導体の合成も試みた。2- および3- ブロモベンゾチオフェンに酸化銅存在下、4-*tert*-ブチルベンゼンチオールを作用させチオエーテル類 **37** および **39** を得た (Scheme 8)。次に、ルイス酸として塩化スズを用い、ジクロロメチルメチルエーテルを反応させたところ、化合物 **37** では室温で容易に反応は進行し、対応するチオピリリウム塩 **38** を良好な収率で合成することに成功した。一方、チオエーテル **39** の場合には、室温で反応させると3位にホルミル基が導入された誘導体が確認された。ジクロロメタンを溶媒として使用し還流で反応させると、対応するチオピリリウム塩 **40** が高収率で得られた。つまりこの反応は、チオエーテル **37** お

よび **39** の反応性の高いチオフェン環にホルミル化に相当する反応が進行し、引き続き近接のベンゼン環と環化反応することでチオピリリウム環骨格を形成できることが明らかになった。チオフェン縮環チオピリリウム化合物の合成に有用な反応であると考えられる [33]。

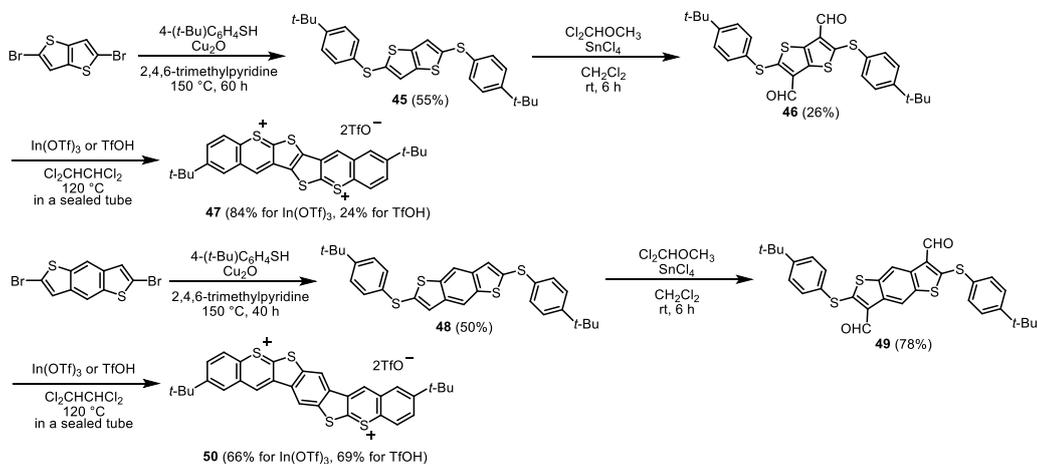
次に、分子内に複数のチオピリリウム環を縮環した誘導体の合成にも挑戦した。ジブロモチオフェンを出発物質にして、4-*tert*-ブチルベンゼンチオールとのカップリング反応を施し、二種類のビスチオエーテル **41** および **43** を調製した (Scheme 9)。これらのジクロロメチルメチルエーテル・塩化スズの分子内環化反応を行ったが、分子内一つのチオエーテル部位はチオピリリウム環に変換可能であったが、もう一方のチオエーテル部分への修飾は難しく、モノチオピリリウム塩 **42** および **44** を与えた。これは分子内にチオピリリウム環が形成されると、縮合するチオフェン部位の



Scheme 8 新規チオフェン縮環チオキサントリウム塩 **38** および **40** の合成



Scheme 9 新規チオフェン縮環チオキサントリウム塩 **42** および **44** の合成



Scheme 10 新規チオフェン縮環チオキサントリウム塩 **47** および **50** の合成

Friedel-Crafts 反応が進行し難くなることを示しており、同一分子内に複数のチオピリリウム環を導入するには更なる分子設計の工夫が求められる。

そこで次に、チエノチオフェンおよびベンゾジチオフェンを足場にして、チオピリリウム環の縮合を検討した (Scheme 10)。市販のジプロモチエノチオフェンおよびジプロモベンゾジチオフェンとチオールをカップリングし、対応するビスチオエーテル **45** および **48** を合成した。次に、チオフェン部位の徹底 Rieche ホルミル化を行いホルミル体 **46** および **49** を得ることができた。最後に、ルイス酸もしくはブレンステッド酸を用いた分子内環化を検討した。室温あるいは常圧加熱条件で反応を検討したが、反応の進行は効率的ではなかったため、耐圧反応器に入れ、加圧・加熱条件で反応させたところ、中程度の収率で反応が進行した。反応混合物を冷却したジエチルエーテルに注ぎ込むと粉末状の物質が得られ、遠心分離・減圧乾燥後、各種 NMR および質量分析・元素分析で構造決定を行い、目的のチオフェン-チオピリリウム縮環化合物 **47** および **50** であることが明らかになった。

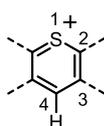


Fig.2 チオキササンチリウム骨格と位置番号

化合物 **38**, **40**, **42**, **44**, **47** および **50** の重アセトニトリル溶液の ^1H NMR では、すべてのベンゼン環水素は 8.86-7.82 ppm に観測され、チオピリリウム環 4 位の水素 (図 2 参照) はより低磁場領域の 9.98-10.35 ppm の範囲に観測された。また、これらのジクロロメタン溶液の紫外可視吸収スペクトルを測定したところ、最も長波長の極大吸収が 501-555 nm に観測された。共役電子系が拡大するにつれ長波長側に観測された。これらのことから、合成したチオフェン縮環型チオピリリウム塩は芳香族性を有する化合物であることが明らかになった。

6. おわりに

本稿では、最近報告された硫黄を含むキササンチリウム塩の新規合成法をまとめた。チオキササンチリウム塩は、効率的な合成方法が開発されていなかったことや取り扱いの困難さから、化学者の研究対象からは外れていた。近年、適切な分子設計と合成法が見い出され、基礎的な性質も解明されてきた。このような知見が礎となり、チオおよびセレンキササンチリウム塩誘導体が材料化学分野などでも用いられることが強く期待される。

参考文献

- [1] Hetarenes and Related Ring Systems, Six-Membered Hetarenes with One Chalcogen, Science of Synthesis, ed. by E. J. Thomas, Thieme, 2004, Vol. 14.
- [2] Y. Li, H. Wang, X. Li, *Chem. Sci.*, **11**, 12249 (2020).
- [3] C. C. Price, M. Hori, T. Parasaran, M. Polk, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2278 (1963).
- [4] M. Renson, P. Pirson, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **75**, 456 (1966).
- [5] M. Hori, T. Kataoka, H. Shimizu, S. Yoshimura, *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 2485 (1974).
- [6] H. Sashida, H. Minamida, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1665 (1999).
- [7] H. Sashida, H. Minamida, *J. Chem. Res.*, 569 (2000).
- [8] H. Sashida, M. Yoshida, H. Minamida, M. Teranishi, *J. Heterocyclic Chem.*, **39**, 405 (2002).
- [9] Sashida, H.; Yoshida, M. *Heterocycles*, **57**, 649 (2002).
- [10] K. Fukui, T. Matsumoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **36**, 806 (1963).
- [11] H. Seidl, K. Biemann, *J. Heterocycl. Chem.*, **4**, 209 (1967).
- [12] M. Hori, T. Kataoka, C.-F. Hsü, *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 15 (1974).
- [13] M. Hori, T. Kataoka, H. Shimizu, C.-F. Hsü, Y. Hasegawa, N. Eyama, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2271 (1988).
- [14] J. M. Bedlek, M. R. Valentino, M. K. Boyd, *J. Photochem. Photobiol. A*, **94**, 7 (1996).
- [15] K. Okada, T. Imakura, M. Oda, A. Kajiwara, M. Kamachi, M. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 5740 (1997).
- [16] T. Erabi, M. Asahara, M. Miyamoto, K. Goto, M. Wada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **75**, 1325 (2002).
- [17] W. R. Browne, M. M. Pollard, B. de Lange, A. Meetsma, B. L. Feringa, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 12412 (2006).
- [18] L. V. Lutkus, H. E. Irving, K. S. Davies, J. E. Hill, J. E. Lohman, M. W. Eskew, M. R. Detty, T. M. McCormick, *Organometallics*, **36**, 2588 (2017).
- [19] T. E. Young, C. J. Ohnmacht, *J. Org. Chem.*, **32**, 444 (1967).
- [20] M. W. Kryman, T. M. McCormick, M. R. Detty, *Organometallics*, **35**, 1944 (2016).
- [21] T. Freund, U. Scherf, K. Müllen, *Angew. Chem.*, **106**, 2547 (1994).
- [22] S. Dong, T. S. Heng, T. Y. Gopalakrishna, H. Phan, Z. L. Lim, P. Hu, R. D. Webster, J. Ding, C. Chi, *Angew.*

- Chem. Int. Ed.*, **55**, 9316 (2016).
- [23] R. H. Nealey, J. S. Driscoll, *J. Heterocycl. Chem.*, **3**, 228 (1966).
- [24] J. Ashby, M. Ayad, O. Meth-Cohn, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1104 (1973).
- [25] K. Tanaka, M. Kishimoto, M. Sukekawa, Y. Hoshino, K. Honda, *Tetrahedron Lett.*, **59**, 3361 (2018).
- [26] K. Tanaka, Y. Tanaka, M. Kishimoto, Y. Hoshino, K. Honda, *Beilstein J. Org. Chem.*, **15**, 2105 (2019).
- [27] K. P. Kawahara, H. Ito, K. Itami, *Chem. Commun.*, **59**, 1157 (2023).
- [28] C. K. Bradsher, *Chem. Rev.*, **87**, 1277 (1987).
- [29] Y. Kuninobu, T. Tatsuzaki, T. Matsuki, K. Takai, *J. Org. Chem.*, **76**, 7005 (2011).
- [30] Y. Xufen, L. Xiyan, *Adv. Synth. Catal.*, **353**, 569 (2011)
- [31] N. Nagahora, T. Kushida, K. Shioji, K. Okuma, *Organometallics*, **38**, 1800 (2019).
- [32] N. Nagahora, R. Tanaka, T. Tada, A. Yasuda, Y. Yamada, K. Shioji, K. Okuma, *Org. Lett.*, **22**, 6192 (2020).
- [33] N. Nagahora, K. Kitahara, Y. Mizuhata, N. Tokitoh, K. Shioji, K. Okuma, *J. Org. Chem.*, **85**, 7748 (2020).

前号(第53巻)

目次

論文

数学

Genus problems of classifying spaces

..... Kenshi ISHIGURO and Makoto YAMAGATA (1)

物理学

突発性重力波のスパース性を用いたノイズ除去法の提案

..... 川添一城・端山和大 (11)

化学

アニオン交換膜における水の輸送機構解明にむけた分子動力学シミュレーション

..... 川井田拓弥・永井哲郎・吉田亨次 (15)

Early *Xenopus* embryos are sensitive to high pressure

..... Ryosuke TAKEDA, Takumi KAMATA, Hikaru TATARA,
Masaaki KOGA and Takeo YAMAGUCHI (23)

Phase coexistence observed in phosphonium-based and imidazolium-based ionic liquids: Influence of thermal history and water content

..... Yuto TERUYAMA, Chihiro MIURA, Yusuke SANADA,
Yukiteru KATSUMOTO and Keisuke WATANABE (29)

HTR2C pre-mRNA の RNA 編集における RNA 編集酵素 ADAR2 の二本鎖 RNA 結合ドメインの役割

..... 福田将虎・西垂水梓・緒方悠岐・野瀬可那子 (37)

Temperature-responsive agglutination, pH-induced disaggregation, and guest-release behavior of amphiphilic cyclophane dimer having a PEG linkage

..... Osamu HAYASHIDA, Akari YAMAMOTO and Takaaki MIYAZAKI (45)

地球圏科学

地上ラマンライダーを用いた水蒸気計測

..... 白石浩一・白石凌也・吉田 智・酒井 哲・永井智広・小司禎教 (51)

総説

数学

不動点集合と分類空間のホモトピー論

..... 石黒賢士・西原夢斗・花田維吹・山縣 真 (57)

化学

Development of teaching materials for chemistry experiments to observe crystal growth

..... Ginga SHIBUYA, Yukimaru YAMAUCHI and Masatada MATSUOKA (67)

福岡大学論叢寄稿取扱要領

〔制定 昭和60年6月19日〕
〔改正 令和3年4月1日〕

- 1 福岡大学研究推進部規程第3条第1号に基づき、各分野における研究の成果等を発表するため、各学部は論文集（以下「論叢」という。）を発行することができる。
- 2 論叢の編集は、各学部を設置する編集委員会が行う。
- 3 各学部の編集委員会の委員長は、研究推進部委員とし、委員会の構成員は3人以上とする。
- 4 論叢の各巻における原著論文及び資料（以下「論文等」という。）を発行できる総頁数の上限は、次のとおりとする。

(1) 人文論叢	3,500 頁	(A 5 判)
(2) 法学論叢	1,500 頁	(A 5 判)
(3) 経済学論叢	500 頁	(A 5 判)
(4) 商学論叢	1,300 頁	(A 5 判)
(5) 理学集報	200 頁	(A 4 判)
(6) 工学集報	600 頁	(A 4 判)
(7) 医学紀要	350 頁	(A 4 判)
(8) 薬学集報	200 頁	(A 4 判)
(9) スポーツ科学研究	150 頁	(A 4 判)
- 5 論叢の発行は、研究推進部長が行う。
- 6 論叢の発行に関する事項は、研究推進部委員会において協議する。
- 7 論叢に論文等を寄稿することができる者は、本学の教育職員（特任教育職員、病院客員教授及び病院臨床教授・准教授を含む。以下同じ。）とする。ただし、連名で寄稿し、本学の教育職員が寄稿筆頭者となる場合は、その連名者については制限をしない。
- 8 前項本文の規定にかかわらず、次の各号のいずれかに該当する場合は、寄稿することができる。なお、第4号から第7号までに該当する場合は、当該学部教授会の承認が必要である。
 - (1) 本学の専任職員（教育職員を除く。）、非常勤講師、臨床研修医、大学院学生・研究生又は外国人研究員が寄稿筆頭者となり、本学の教育職員と連名で寄稿する場合
 - (2) 本学の非常勤講師又は外国人研究員が単独で寄稿する場合
 - (3) 本学の大学院学生・研究生が博士学位論文を単独で寄稿する場合
 - (4) 本学の教育職員であった者が、在職中に行った研究の成果を退職後6月以内に寄稿する場合
 - (5) 学外の者に特に原稿を依頼する場合
 - (6) 本学の名誉教授が寄稿する場合
 - (7) 前各号に該当しない者が編集委員会が推薦する場合
- 9 前2項により本学の教育職員以外の者が寄稿する場合は、その所属・職氏名を論文等の巻頭に記載しなければならない。
- 10 掲載された論文等の著作権は、著者に属し、その内容についての責任は著者が負うものとする。
- 11 掲載された論文等は、原則として電子化レインターネット等を介し公開する。
- 12 論文等一編の原稿枚数は、原則として、A 4サイズ20枚（30,000字程度、図表、写真及び余白等を含む。）以内でなければならない。
- 13 この要領は、令和3年4月1日から実施する。

Guidelines for Submissions to Fukuoka University Reviews

Guidelines established: June 19, 1985

Revised on April 1, 2021

1. According to the Fukuoka University Central Research Institute's regulations, Article 3, Section 1, in order to publish research results in any field, departments may issue publications called "Reviews".
2. Each department is to select faculty members to carry out editing responsibilities.
3. The Chief Editor from each department should be a member of the Central Research Institute Committee. Each department should form an editing committee, comprised of three or more members.
4. Every issue of the Reviews should contain original articles, notes and materials. The maximum number of pages for each issue should be as follows:
 - (1) Review of Literature & Humanities 3500 pages (A5 paper)
 - (2) Review of Law 1500 pages (A5 paper)
 - (3) Review of Economics 500 pages (A5 paper)
 - (4) Review of Commercial Sciences 1300 pages (A5 paper)
 - (5) Science Reports 200 pages (A4 paper)
 - (6) Review of Technological Sciences 600 pages (A4 paper)
 - (7) Medical Bulletin 350 pages (A4 paper)
 - (8) Pharmaceutical Bulletin 200 pages (A4 paper)
 - (9) Review of Sports and Health Science 150 pages (A4 paper)
5. The Chief of the Central Research Institute is responsible for publication of the Reviews.
6. The Central Research Institute Committee members will discuss matters pertaining to issuing the Reviews.
7. Faculty members of this university, hereafter including specially-appointed faculty members and visiting professors of medicine, are eligible to make submissions to the Reviews. In the case of multiple contributors, provided that a faculty member of this university is the main contributor, no restrictions apply to the sub-contributors.
8. In exception to the provisions in the preceding article, any person who falls under any of the following categories may be allowed to make a submission. Persons who falls under the categories (4) to (7), need to receive approval of submission from the concerned department.
 - (1) In the case that staff members (non-faculty), part-time teachers, clinical pathology residents, graduate students, post-graduate researchers or foreign researchers of this university are the main contributor along with one or more faculty members as sub-contributors.
 - (2) In the case that part-time teachers or foreign researchers of this university make individual submissions.
 - (3) In the case that graduate students and post-graduate researchers of this university individually submit doctoral dissertations.
 - (4) In the case that retired faculty members of this university submit for publication the results of research conducted while still a staff member, provided that submissions are received within six months after retirement.
 - (5) In the special case that outside contributors are requested to make submissions.
 - (6) In the case that emeritus professors make submissions.
 - (7) In the case that persons who fall under no category above but are recommended by the editing committee of the relevant department.
9. In such cases as 7. and 8. above, non-faculty members should mention their affiliation, position and name on the first page.
10. Copyrights belong to the authors. The authors bear responsibility for their contents.
11. Generally, publications will be made available in digital format for Internet access.
12. The maximum number of pages for each submission is 20 pages of A4 size including all charts, figures and photos. One page should have no more than 26 lines of 70 letters each.
13. These guidelines come into effect as of April 1, 2021.

福岡大学理学集報 第54巻

令和6年9月17日 印刷 編 集 福岡大学
理学集報編集委員会

令和6年9月30日 発行 編集委員長 佐 藤 拓
(福岡大学研究推進部委員)

(非売品)

発行人 野 田 慶 太
(福岡大学研究推進部長)

(無断転載を禁ず)

発行所 福岡大学研究推進部
福岡市城南区七隈八丁目19番1号

印刷所 正光印刷株式会社
福岡市西区周船寺3丁目28番1号

FUKUOKA UNIVERSITY SCIENCE REPORTS

Vol. 54

September 2024

Article

Chemistry

Electrochemical hydrogen production by dithiooxamidate-bridged polynuclear Ni complexes
..... Tomohiko HAMAGUCHI, Ryo KURAOKA, Takumi YAMAMOTO and Isao ANDO (1)

Morphology of cow erythrocytes exposed to a pressure of 200 MPa
..... Takeo YAMAGUCHI and Ruka HIRAKAWA (5)

Biology

Flying hymenopteran insects observed in the fields of Fukuoka University
..... Aika YAMAGUCHI, Tsunao ITOH and Shinya HAYASHI (11)

Review

Chemistry

Dyes for food and fabrics - Advanced student experiments using azo compounds
..... Jun KOGA, Taichi MIYAKAWA, Yoko SATO and Masatada MATSUOKA (17)

Recent Development in the Chemistry of Xanthylum Salts Containing a Sulfur Atom
..... Noriyoshi NAGAHORA (25)