第 52 回愛媛県児童・生徒理科研究作品特別賞＜愛媛県高等学校教育研究会長賞＞

インジゴカルミンの信号反応の研究

愛媛県立松山西中等教育学校　第６学年　小 池 利 奈
第５学年　松 本 剛 征
阿 部　 完
木 梨 祐 輔
指導教員　八 木 康 行

１　研究の目的

インジゴカルミンは酸化還元反応によって信号反応を示すことが知られている。信号反応とは、インジゴカルミンが還元糖により還元され、ロイコインジゴカルミンになる過程で色が緑、赤、黄に変化する現象である（図１）。私たちは、インジゴカルミンの酸化還元反応に おけるさまざまな条件を制御することで、条件の 変化に伴い反応速度がどのように変化するかなど、反応速度の規則性について調べることにした。また、その中で反応回数を重ねると信号反応が起こらなくなるという現象が見られ、インジゴカルミンの反応回数を持続させるための条件を導くことにも着目することにした。

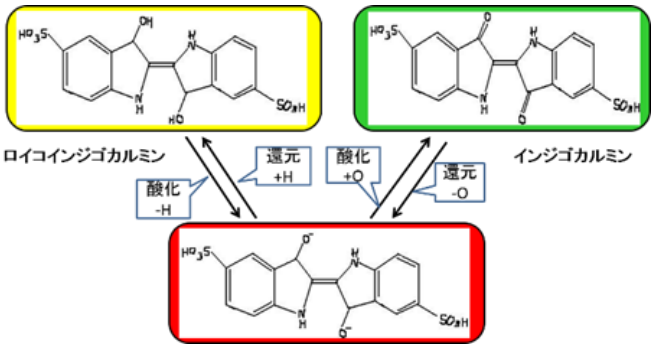


図１　信号反応

２　研究方法

溶液Ａ：水(100mL) ＋ グルコース $C_6H_{12}O_6$(1g：0.0056mol)＋NaOH(1g：0.025mol)
溶液Ｂ：1%のインジゴカルミン水溶液
上記の溶液Ａに 2mL の溶液Ｂを混ぜた濃度を基準の濃度、溶液の温度 25℃を基準の温度とし、以下の項目についての条件を変化させて実験を行った。

(1)　反応速度の規則性

ア　反応速度と温度
イ　反応速度と還元糖の種類
ウ　反応速度と酸素濃度
エ－１　反応速度と各物質の濃度
各物質の濃度を１つずつ 1/2 倍、２倍、４倍と変化させた。
エ－２　反応速度と水酸化ナトリウムの濃度
水酸化ナトリウムの濃度を変化させ、信号反応の色の変化のデータが最も得やすい赤色の継続時間を分光光度計を用いて測定した。
オ　反応速度と反応回数

(2)　反応回数を持続させることの条件

ア　反応回数と濃度
イ－１　時間経過による影響
①　インジゴカルミンの溶液、水酸化ナトリウム＋グルコースの溶液を混ぜる直前につくったもの。
②　インジゴカルミンの溶液のみ１週間常温で置き、水酸化ナトリウム＋グルコースの溶液を直前につくり混ぜたもの。
③　インジゴカルミンの溶液、水酸化ナトリウム＋グルコースの溶液を混ぜ、１週間常温で置いておいたもの。
上記①～③で信号反応の実験を行い、それぞれを比較した。

イー２　時間経過に伴う水酸化ナトリウムの作用

直前に溶液Ａと溶液Ｂを混ぜたものと、溶液Ａと溶液Ｂを混ぜて１週間放置したもの、および空気中の二酸化炭素の影響を考慮するために水酸化ナトリウム水溶液を１週間放置したものを用意し、それぞれの pH を測定した。

イー３　水酸化ナトリウムの影響によるインジゴカルミンの変化

以下の①～③の溶液を用いて薄層クロマトグラフィーで分離させた。

①　インジゴカルミン溶液と水酸化ナトリウム＋グルコース溶液を直前に作り、混ぜたもの

②　水酸化ナトリウム＋グルコース溶液を１週間放置し、直前にインジゴカルミン溶液を混ぜたもの

③　インジゴカルミン溶液と水酸化ナトリウム＋グルコース溶液を混ぜて１週間放置したもの

３　結果

それぞれの実験において、以下のような結果が得られた。

(1)　反応速度の規則性

・温度を上げると、反応速度は速くなった。

・フルクトース、ガラクトース、マルトース、グルコースの順で反応速度は速く、アスコルビン酸は測定不能であった。

・O_2 濃度が高くなると反応速度が遅くなった。

・水酸化ナトリウムの濃度やグルコースの濃度が高い方が反応速度は速くなった。一方、インジゴカルミンの濃度では２倍までは濃度が高い方が反応速度は速くなり、４倍のときには反応速度が遅くなった。これらの測定の中で、反応回数の増加にともなって緑から赤の反応が遅くなり、赤から黄の反応が速くなった（図 2）。

・水酸化ナトリウム濃度の薄い方が赤色を示した時間が長くなった（図３）。

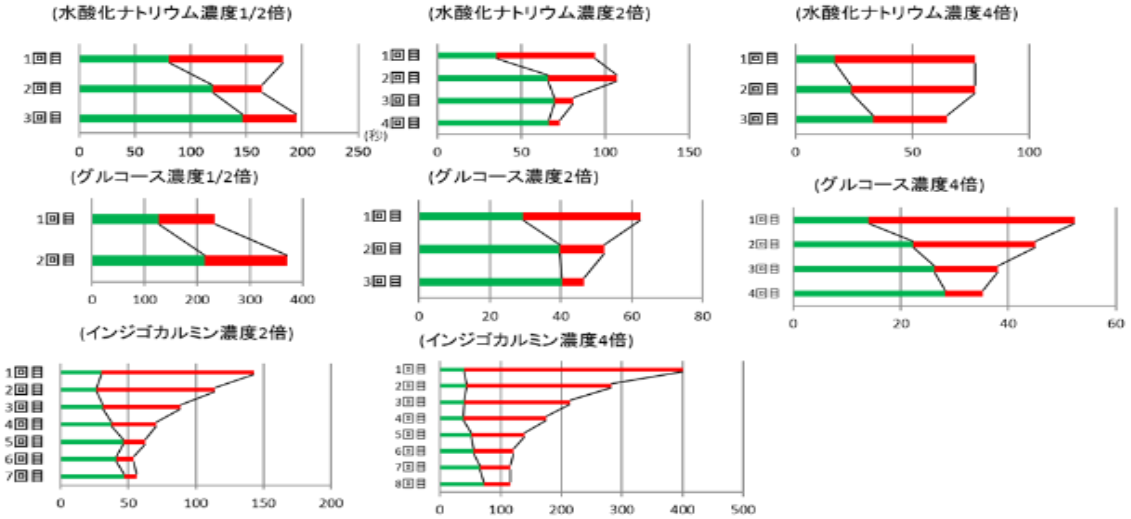
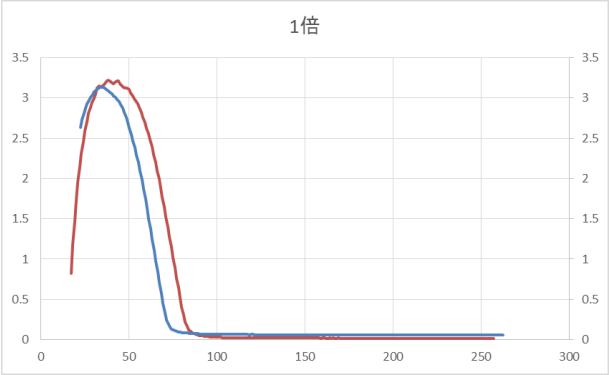


図２　各溶液の濃度と反応時間



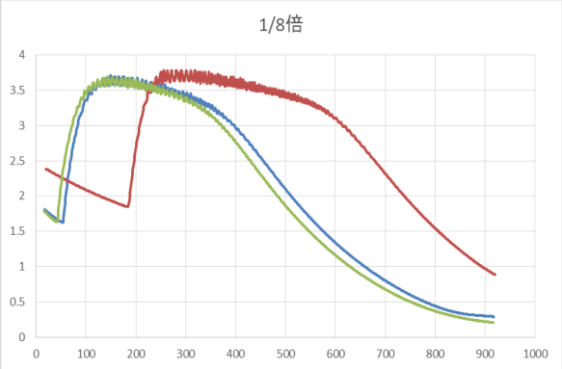


図３　水酸化ナトリウムの濃度と分光光度計による赤色の測定時間

(2)　反応回数を持続させることの条件

・水酸化ナトリウムは２倍で最も反応持続回数が増加し、グルコースやインジゴカルミンは濃度が高くなるにつれて反応持続回数が増加した（表１）。

・溶液Ａと溶液Ｂを混ぜて一週間放置させたものは信号反応を起こさなかった。

・溶液Ａと溶液Ｂを混ぜて一週間放置させた溶液は淡黄色であり、薄層クロマトグラフィーでの分離を試みたが、ほぼ無色となり、はっきりとした結果が得られなかった。

表１　各溶液の濃度と反応持続回数

水酸化ナトリウム濃度	回数	グルコース濃度	回数	インジゴカルミン濃度	回数
½倍	2.7	½倍	1.7	½倍	1
2倍	4	2倍	3	2倍	7
4倍	3	4倍	3.7	4倍	8.6

４　考察

今回の実験から以下のように考察した。

(1)　反応速度の規則性

ア　温度を上げると、反応速度が速くなったという結果については、分子の運動が活性化し、反応時間が速くなったと考えられる。

イ　グルコース、フルクトース、ガラクトース、マルトースについては、同じ還元糖でも構造が異なるため、還元する力に違いが見られるのではないかと考えられる。また、アスコルビン酸は酸素、アルカリ、光に弱いため、実験中に壊れてしまい結果が得られなかったと考えられる。

ウ　酸素との接触が増えると酸化が促進されるが、表面が酸化されており、内部への酸化が多少なりとも疎外されていると考えられる。

エー１　pH が大きくなることで還元糖の作用が促進されている。グルコースは還元を促すため、濃度が高いと反応が進行する。一方、インジゴカルミンは２倍から４倍の間で最も速度が上がる濃度があると推測されるが、他の物質との相対的な量により影響を受けていると考えられる。

エー２　通常ではすぐに青から緑に変化するところが、水酸化ナトリウムの濃度が低くなるにつれ、中間的な色を示し、最終的には黄色となったことから、一度にインジゴカルミンが変化を起こしたのでなく、水酸化ナトリウムの濃度が薄いことが影響し、徐々にインジゴカルミンが変化したためだと考えられる。

オ　全体的に、反応回数が増えるにつれて緑から赤の反応が遅くなり、赤から黄の反応が速くなったが、反応回数に限界がある理由や中間的な物質の状態が不明であるため、十分な考察をすることができなかった。

(2)　反応回数を持続させることの条件

ア　水酸化ナトリウムの濃度が高い方が反応が持続したのは、グルコースからグルコン酸の変

化が起こりやすくなっているからであると考えられる。また、水酸化ナトリウム濃度が高くなりすぎても回数がそれほど変化していないことが確認できたため、一定量の水酸化ナトリウムの量（濃度）があれば十分グルコースからグルコン酸への変化が起こるのではないかと考えられる。

一方、グルコースの濃度やインジゴカルミンの濃度が高い方が反応が持続したのは、グルコースやインジゴカルミン自身が反応に使われるため、その量が多いことが反応回数に関係していると言える。

したがって、反応回数が多くなると反応が起こりにくくなるのは、インジゴカルミン自身が分解するなどしで他の物質へと変化したからではないかという仮説を立てることができた。

イ　時間経過によってインジゴカルミンそのものは影響を受けない。このことは食品の着色料などの使用用途の有利な特性からも立証されている。また、水酸化ナトリウムがインジゴカルミンに影響を与え、完全に酸化できなくなったことや、無色の別の構造をもつものに変ったりしたことから水酸化ナトリウムに長時間さらすことでインジゴカルミンの構造自体に影響を与えていると考えられる。

したがって、ア・イの実験結果及び考察から、反応回数を重ねると信号反応が起こらなくなるという現象は、インジゴカルミンの他の物質への変化というものが原因の１つであると考えられる。

５　まとめと今後の課題

⑴　反応速度を上げる条件

以下のことが反応速度を上げる条件である。

・温度が高い。
・酸素濃度が低い。
・pH が大きい。
・グルコースの濃度が高い。

また、インジゴカルミンでは２倍までは濃度の高い方が反応速度は速くなったが、４倍のときには遅くなった。このことから、２倍から４倍の間に反応速度が最も速くなる濃度が存在すると考えられる。

⑵　反応回数を持続させることの条件

以下のことが反応回数を持続させる条件である。

・水酸化ナトリウムの濃度が高い。
・グルコースの濃度が高い。
・インジゴカルミンの濃度が高い。

また、反応回数と反応速度にも関係性があり、特に赤から黄色の反応速度は指数関数的なグラフを示した。一方、時間経過によって水酸化ナトリウムが作用し、インジゴカルミンが他の物質に変化したと考えられることから、水酸化ナトリウムが影響する仕組みや、それによって反応を示さなくなったインジゴカルミン溶液がどのような物質に変化しているかなどを解明することが今後の課題である。

６　おわりに

私たちの研究は元々決められたテーマに沿ったものであり、「与えられた研究」からスタートした。しかし、実験を行っていくうちに、「なぜだろう？」「どうなっているのだろう？」と思うことが多く出てきた。それらを解明するための研究は決して楽なものではなかったが、チームの仲間と協力し合い、実験を重ねることで、最初のテーマよりも更に深い研究をすることができた。信号反応はよく知られている実験テーマであるが、私たちの持った疑問は文献を調べても記載されておらず、研究方法の検討に苦労した。信号反応というものの研究が、これほど奥深いものだとは思いもせず、驚いたとともに新たな発見により興奮もした。今後とも広い視野で物事を見ることを心掛け、探求心や好奇心を持ち続けたい。