

信号反応におけるインジゴカルミンの分解要因の調査

戸谷 義明

理科教育講座 (化学)

Investigation of Degradation Factors of Indigo Carmine in “Traffic Light Reaction” Condition

Yoshiaki TOYA

Department of Science Education (Organic Chemistry), Aichi University of Education, Kariya 448-8542, Japan

Abstract

In order to elucidate the fading away of green color of oxidized indigo carmine (IC) in alkaline glucose solution at the demonstration of chemical magic “Traffic Light Reaction”, the degradation factors of indigo carmine were investigated by measuring time-dependent change of UV spectrum. The procedures developed for a practice in future were detailed in this report.

1. はじめに

著者は2006年度以降、化学を専攻する3、4年生を対象に、大学の授業科目「化学教材実験」、「化学教材演習」などの一環で、サービス・ラーニングによる授業として出前等による化学実験「出前化学実験」^{1, 2)}を実践してきた。理科が役に立つ教科であることを実感でき、理科学習に活用できるような、観察・参加型の化学マジックなどの演示実験、および個別指導体験型の実験の実験法と指導法を開発してきた。これらを出前化学実験として実践し、評価、改善して確立することを目的として研究を進めてきた。開発した教材と指導法は、いずれも、論文、そして最終的に2011年度末に「理科が役に立つことが実感できる化学教材実験集」³⁾としてまとめて印刷出版した。特に観察・参加型の11種の化学マジック実験に関しては実験法や演示法だけでなく、実験後の後始末や廃棄法まで詳細に示し、環境にも配慮したものとした。2012年度以降、この実験集に従って化学マジック実験を実践してきたが、実践を重ねるにつれて様々な改良点や不思議な現象が発見され、対策や原因の究明が行われてきた。その1つとして化学マジック「振盪色変化の中瓶四姉妹」における色素類、特にインジゴカルミン (以下IC) の分解があった。

「振盪色変化の中瓶四姉妹」³⁾は、酸化状態、還元状態で色が変わる色素メチレンブルー (以下MB) とアルカリ性グルコース溶液で行う、有名な「青いびん」の実験⁴⁾と、そのバリエーション^{5, 6, 7, 8)}である。4種の色素類 [MB^{4, 5, 6)}、フェノサフラニン (以下PS)⁶⁾、ベ

ンジルピオロゲン (以下BV)⁶⁾、およびIC^{5, 7, 8)}]が、溶液を振盪した際に導入される空気中の酸素により酸化された状態、および溶液を静置した際にアルカリ性下のグルコースにより還元された状態になり変色するのが繰り返される演示実験である。特にICを用いた場合、2段階で酸化還元が起こり、振盪により、黄色から赤色を経て緑色になる。これを静置すると、緑色から赤色を経て、元の黄色に戻る変色が観察されるので「信号反応」と呼ばれている。

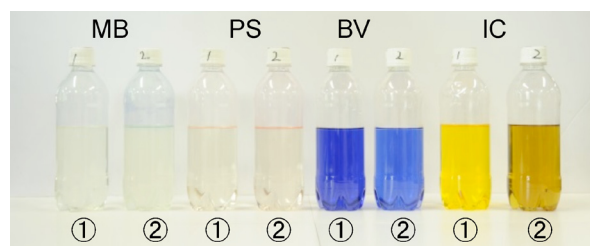


写真1 各色素 (振盪前, 還元型)

①約2年間冷凍暗所保存 ②1年半室温暗所保存

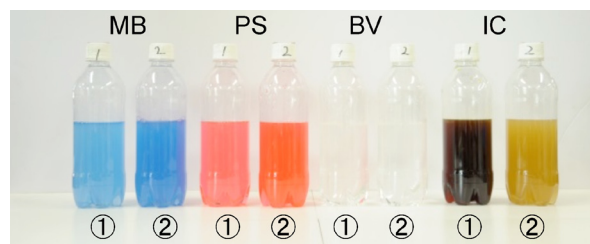


写真2 各色素 (振盪後, 酸化型)

①約2年間冷凍暗所保存 ②1年半室温暗所保存
ただし、IC①は緑から赤に変色し始めている

この演示を行う際、MB, PS, BVは0.1%水溶液、ICは1%水溶液を調製して使用してきた。これらの水溶液は -40°C で冷凍保存した場合、2年後でも調製時と変わらない色の変化を示した。MB, PS, BVの水溶液については室温暗所で、そのまま長期間(2年間)保存しても、若干の色調の変化はあるが、使用可能であった(写真1, 写真2)。一方、ICの水溶液については、室温暗所で11日保存後では使用可能であった(写真なし)が、長期間(1年半)保存では、完全に分解していると思われ、本来の濃い藍色の水溶液の色が濃い褐色になり、信号反応に使用しても、きれいな還元型の黄色や酸化型の緑色が出なくなった(写真1, 写真2, IC②)。

さらに、ICによる信号反応では、振盪する度に顕著な緑色の退色が見られ、途中でICの粉末、または水溶液の追加が必要なことがあった。これは、信号反応の条件下でICが分解していることが原因であると予想された。この現象についての調査が2014年の学会日本理科教育学会全国大会で愛媛大学附属高校の学生により発表された。振盪、および静置した信号反応溶液中のインジゴカルミンの経時分解を、塩酸で反応をストップさせ、比色法で残存量を定量するというものであり、アルカリ性や酸素が分解要因であるとともに、還元型が安定であることが示唆されていた。⁹⁾

インジゴカルミン^{10, 11, 12, 13, 14)}は1743年にドイツでJohann Christian Barthにより天然色素インジゴの濃硫酸処理により発見された歴史のある色素である。インジゴより水溶性がよく(1g/約100 mL H₂O, 25 $^{\circ}\text{C}$ ¹⁴⁾、羊毛や絹の染料として使われたが、堅牢度が低く、洗濯に良のほかはアルカリ、日光ともに可、または弱との記述がある。医療では腎機能診断薬(分腎機能検査で静脈投与後の排泄時間を測定)や色素内視鏡検査(病変部やひだにコントラストをつけて観察しやすくする)に用いられ、また、食用青色2号として食品添加物にも指定されている。ラットのLD₅₀(静注)は約90 mg/kg^{12, 13)}、マウスのLD₅₀(経口)は2.5 g/kg¹³⁾であり、他の毒性などのデータ¹³⁾から、医療や食用での使用量は少量であり、恐らく安全性に関する大きなリスクはないと思われる。化学では「信号反応」のほか、酸素の検出液、溶存酸素を測定するインジゴカルミン比色法(JIS B8224:2005, 定量範囲O: 0–60 mg/L)、局方の塩素酸塩の定性反応¹²⁾、第一チタン塩滴定などの酸化還元指示薬、pH指示薬[pH 11.5(青)–14.0(黄)¹⁴⁾]、酸化チタン(IV)(以下TiO₂)の光酸化活性を調査する化学物質などとして用いられている。

インジゴカルミンの安定性に関しては、既述の堅牢度のほか、局方¹²⁾や文献¹¹⁾では、調製した水溶液[0.2–0.4% (w/v)]は調製後60日以内に用いるように記述があった。文献⁵⁾には、IC水溶液は使用する前数時間以内に調製しなければならない、文献¹⁵⁾にはIC

は耐熱、耐塩、耐塩基、耐酸化、耐還元性に非常に劣る、文献¹⁴⁾には、ICは酸化剤に非常に敏感であり、水溶液の色は経時的に退色するとあった。さらに学会発表¹⁶⁾では、内視鏡撮影用の0.15%水溶液の安定性を、遮光・冷所、および非遮光・非冷所で保存し、極大の吸光度の経時変化で調べた。その結果、14日後の極大の吸光度が遮光・冷所では79%、非遮光・非冷所では14%になるというデータが示された。

以上のことから、「信号反応」で良好な結果を得るため、および退色(特に緑色)の原因を明らかにするために、ICの水溶液の各種条件における安定性を調査する必要があると考えた。

そこで、水溶液中、酸性、アルカリ性溶液中での酸化型ICの安定性ととも、アルカリ性溶液中の還元型のICの安定性を紫外可視吸収(UV)スペクトルの経時変化を調べることで、ICの分解要因を探ることにした。

2. 実験方法

紫外可視吸収(UV)スペクトルは、日立株式会社製U-3000、または株式会社島津製作所製UV-2700を用い、25 $^{\circ}\text{C}$ で測定した。水は2段蒸留水を脱イオン、脱有機物質、脱粒子処理したもの(ミリポア水)を使用した。インジゴカルミンは東京化成の化学用試薬を使用した。

酸化型のICについては、化学マジック演示と同様に、1.00% (w/v) IC水溶液(以下aq)を水で希釈し、0.020% IC aqのUVスペクトル測定を試みたが、濃過ぎたので、6分の1の濃度(0.0033%)になるようにした。サンプルセル、対照セルに各溶液3.00 mLを入れて(Ar曝気し)ベースライン測定した後、サンプルセルに1.00% (w/v) IC aq 10 μL を加え(Ar曝気置換し)キャップをして混ぜて、水中、3% (w/v) glucose aq [化学マジック時の濃度6% (w/v)の半分の濃度]中、 2.83×10^{-1} mol/L HCl aq中(2.50×10^{-1} mol/Lにする予定が若干濃くなった)、および 2.50×10^{-1} mol/L NaOH aq(化学マジック時の濃度 5.0×10^{-1} mol/Lの半分の濃度)でのUVスペクトルの経時変化を調べた。なお、NaOH aq中の分解についてはAr置換の有無の比較を行ったほか、学会発表⁹⁾を参考に、スペクトル繰り返し測定より速く追跡するため、NaOH aqにIC aqを混合後、120秒(以下s)ごとにICのNaOH aqを経時的に濃塩酸(以下concd HCl aq)で中和し、極大波長(以下 λ_{max})= 611 nm付近の吸光度(以下A)を測定した。

還元型のICについては、既述と同様に、化学マジックの半分の濃度になるように6% (w/v) glucose aqと 5.0×10^{-1} mol/L NaOH aqを同量の各1.50 mL混合したところに1.00% (w/v) IC aq 10 μL を添加してUVスペクトルの経時変化を調べた。酸素が影響していることが予想されたので、Ar置換した実験も行った。

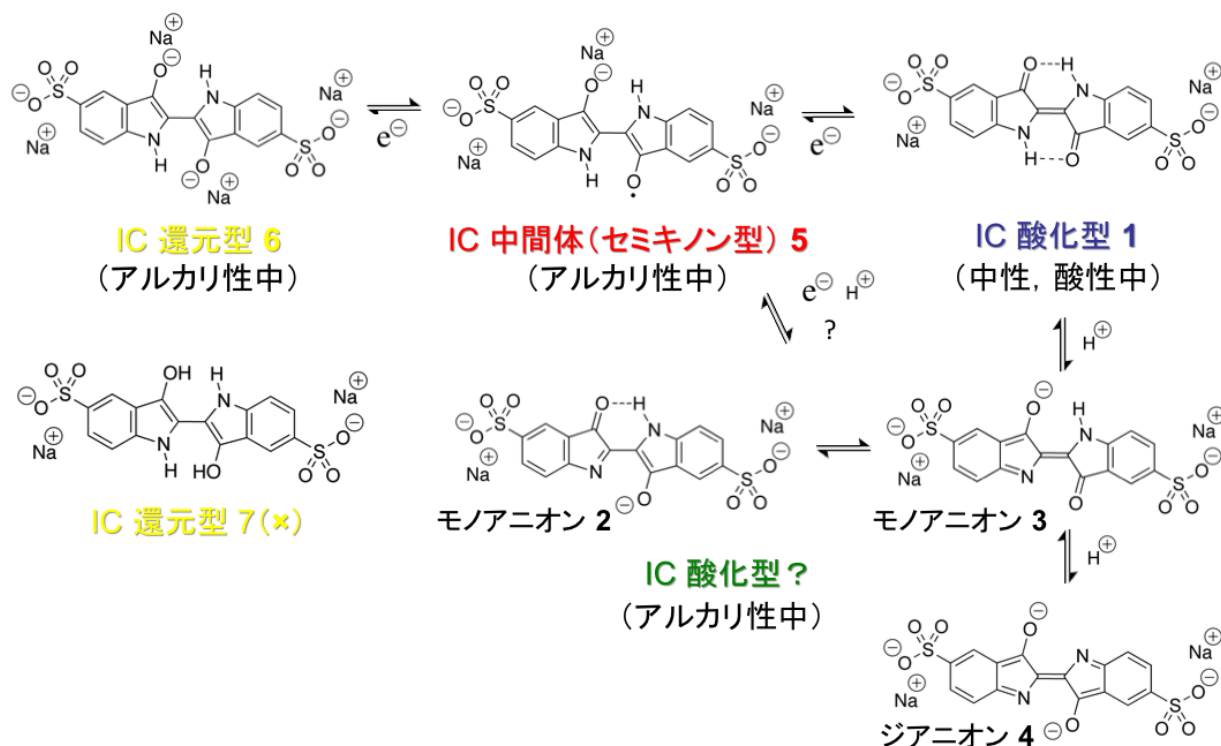


図1 酸性, アルカリ性, およびアルカリ性下の酸化還元反応におけるICの推定構造

3. 実験と結果

3.1 各条件下におけるICの推定構造

酸性, 中性, アルカリ性条件, およびアルカリ性下の酸化還元反応におけるICの推定構造を図1に示した。

ICのX線結晶構造解析の論文¹⁷⁾から, ICは固体, または中性, 酸性下では, 酸化型1の構造で存在していると考えられる。インドール環の間の二重結合については文献^{5, 6)} および, それらを鵜呑みにしてしまった拙著の化学教材実験集³⁾ に示されたシス型ではなく, トランス型の構造である。これはX線結晶構造解析でトランスと判明しているインジゴ [ICの2つのスルホナート基 (-SO₃) が, 両方とも水素原子 (-H) になった構造] と同じである。アルカリ性条件下では, 酸化型のモノアニオン2, モノアニオン3, またはジアニオン4の構造で存在し, これが緑色を示すと予想される。pHによる変色域を考慮すると, ジアニオン4の構造で存在する可能性は少ないと思われる。

アルカリ性下の酸化還元反応におけるICの構造と色については酸化型のモノアニオン2, またはモノアニオン3 (またはジアニオン4) が緑色, これが1電子還元されたセミキノン中間体5が赤色, これが更に1電子還元された還元型ジアニオン6が黄色であると推測した。なお, インドール環の間が単結合になった構造については, 全て*s*-トランスであると推測した。インターネットのサイト¹⁸⁾ でも同様に推測されている

(ただし酸化型1の構造で緑色としている)。

文献^{5, 6, 19)} を含め, 多くの文献やインターネットのサイトに, 酸化型1は緑色または青色, 還元型ジアニオン6が中間体で赤色, さらに還元型ジアニオン6のプロトン化物7が黄色であるという, 誤りであると思われる情報がある。特に文献⁵⁾ に, 還元型ジアニオン6がセミキノン中間体であるという, 明らかに誤りである記述がある。これらの情報の影響は大きいと言わざるを得ない。

3.2 酸化型ICの安定性の調査 (中性, 酸性)

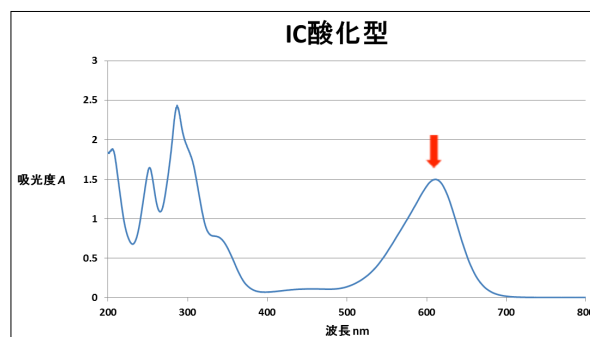


図2 酸化型ICのUVスペクトル (中性, 酸性)

ICの水 (aq), glucose aq, およびHCl aqの溶液は, いずれも濃い青色を示し, UVスペクトルは, 図2に示したような, ほぼ同じ形となった。これら酸化型ICのスペクトルで, 赤い矢印で示した λ_{max} =611 nm付近のA

の増減率の経時変化をグラフにしたものを図3に示した。これら酸化型ICでは以下の結果が得られた。

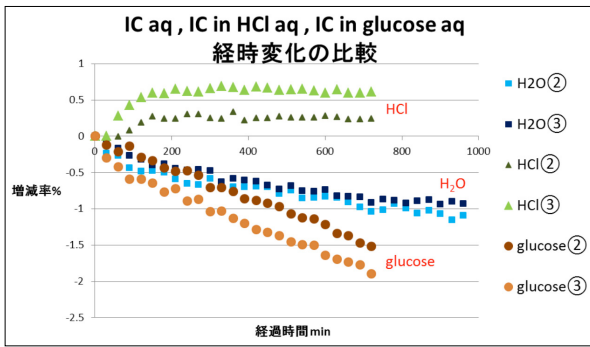


図3 ICの各溶液中におけるAの増減率の経時変化
①, ②, ③は1回目, 2回目, 3回目の測定であることを示す。

濃い青と青で示したaqでは, Aの減少から, 16hで約1%分解し, 茶色とオレンジで示したglucose aqでは, 12hで約2%分解した. ICは水溶液やグルコース水溶液として保存中に分解することが明らかになった。

緑と黄緑で示したHCl aqでは, Aが, 測定開始後, 約150 min後までに約0.5%増加し, この原因は不明である。しかし, これ以降は12hまで一定の値になった。Aが一定になることから, おそらくICはHCl aq中で安定であると考えられた。したがって, 1.00% (w/v) IC aqを室温で保存する場合, 溶液をHClで酸性にすると, 長期保存できる可能性があると考えられた。

3.3 酸化型ICの安定性の調査 (アルカリ性)

酸化型ICのNaOH aqの溶液は緑色を示し, 速やかに退色した。そのUVスペクトルの経時変化を図4に示した。更に, 酸素の影響を除くため, Ar置換した場合のUVスペクトルの経時変化を図5に示した。

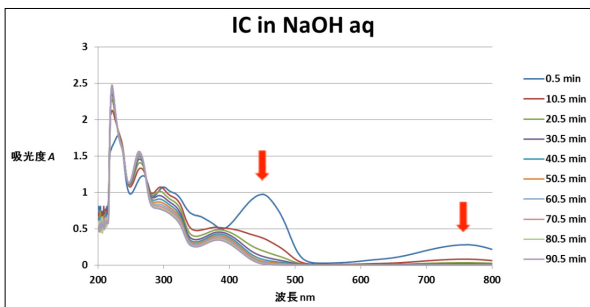


図4 酸化型ICのUVスペクトル② (アルカリ性)

赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=450$ nm, または $\lambda_{\max}=761$ nm付近のAは, 最初の10 minで61%, または70%減少したことから, ICはアルカリ性では急速に分解することが分かった。

Ar置換下では, 赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=450$ nmまたは, $\lambda_{\max}=756$ nm付近のAの減少から, ICは10 minで15%, または28%, 2hで45%, または60%分解することが分かり, 分解速度は相当遅くなることが明らかと

なった。したがって, アルカリ性での急速な分解には空気中の酸素が関与していることが明らかとなった。

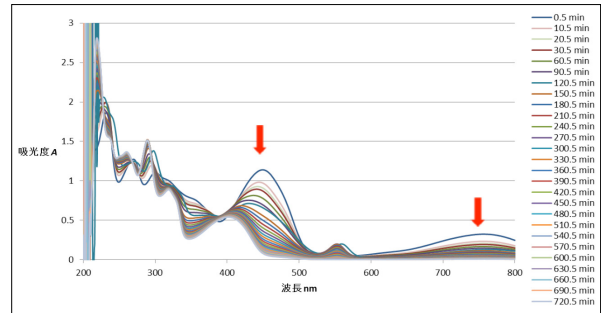


図5 酸化型ICのUVスペクトル③(アルカリ性, Ar置換下)

赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=756$ nm付近のAの増減率の経時変化をグラフにしてAr置換の有無で比較したものを図6に示した。

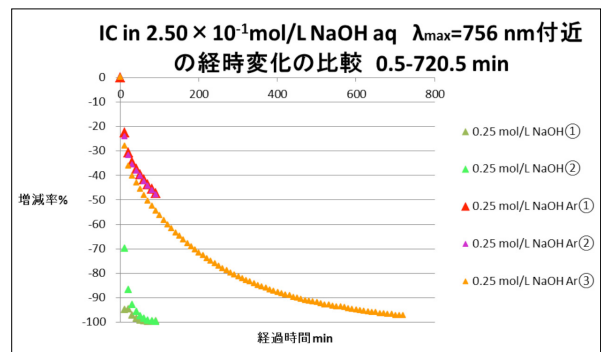


図6 ICの各溶液中におけるAの増減率の経時変化
①, ②, ③は1回目, 2回目, 3回目の測定であることを示す。

3.4 中和, 酸性下にする酸化型ICの安定性の調査 (アルカリ性)

アルカリ性での急速な分解を, UVスペクトルの繰り返し測定より速く追跡するため, 2014年の愛媛大学附属高校の学会発表⁹⁾を参考に, 以下の実験を行った。

NaOH aq 50.0 mLに1.00% (w/v) IC aq 167 μ Lを混合後, この溶液各4.00 mLを18 s (3 min, 図8①), または120 s (20 min, 図8②, ③)ごとに, 経時的にconcd HCl aq各200 μ Lに加えて中和, 酸性(3.16×10^{-1} mol/L HCl aq)とし, その後, 各溶液のUVスペクトルを測定した。そのUVスペクトル③を図7に, 赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=611$ nmのAの増減率の経時変化をグラフに

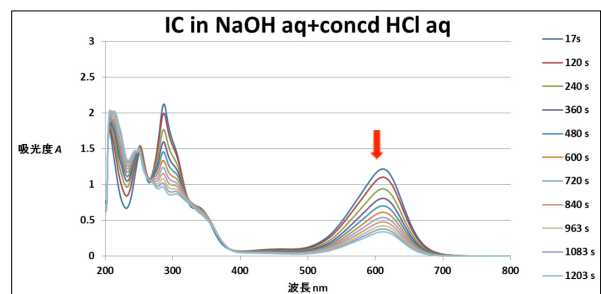


図7 酸化型ICのUVスペクトル③ (アルカリ性を経時的に中和, 酸性)

したものを図8に示した。

赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=611\text{ nm}$ のAが10 minで約55%, 20 minで約76%減少し、酸化型ICはNaOH aq中では、急速に分解することが確認できた。後述するように、還元型ICはNaOH aq中で安定であるので、この酸化型ICのNaOH aq中での分解が退色の主要原因と考えられた。

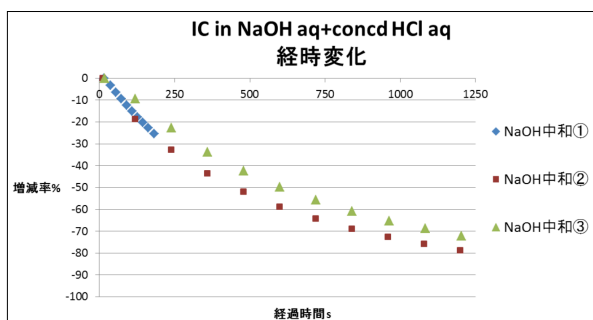


図8 経時後、中和酸性にした各溶液中におけるAの増減率の経時変化 ①, ②, ③は1回目, 2回目, 3回目の測定であることを示す。

3.5 還元型ICの安定性の調査

NaOH aq+glucose aq混合液中の還元型のICの溶液は黄色を示した。その空气中、静置でのUVスペクトル②を図9に、赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=426\text{ nm}$ 付近のAの増減率の経時変化をグラフにしたものを図10に示した。

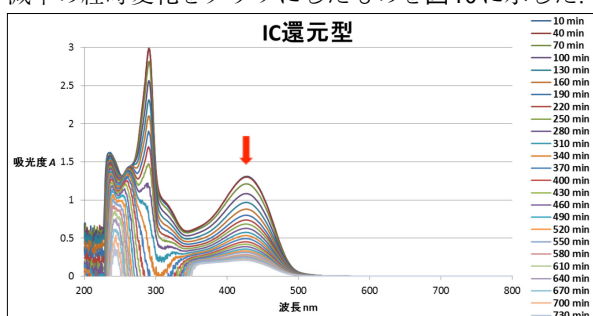


図9 還元型ICのUVスペクトル②(空气中, 静置)

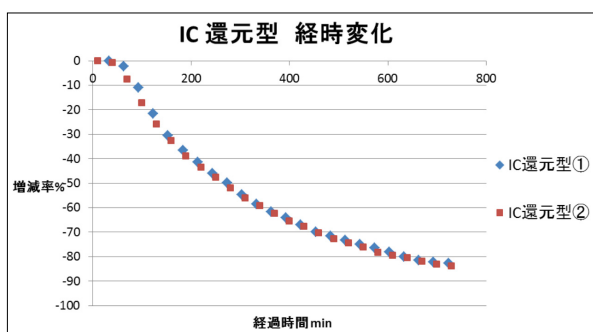


図10 還元型ICのAの増減率の経時変化 ①, ②は1回目, 2回目の測定であることを示す。

赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=426\text{ nm}$ のAが, 1 hで約2.2%, その後12 hの約84%まで、ゆっくりと減少していった。NaOH aq中、還元型ICは、酸化型ICに比べ、かなり安定であると考えられ、空気存在下で、ゆっくりと分解した。

化学マジックで振盪した場合の影響を調査するため、静置ではなく、セルの振盪を繰り返してUVスペクトルを経時的に測定した。1.00% (w/v) IC aqを加えてから10 min後(混合液調製から15 min後)に、1回目の測定を行った後、3回の振盪×9回①または19回②で、5分に1度の測定(ICを加えてから10-55 min①, 10-105 min②)を行った。その空气中、振盪でのUVスペクトルの経時変化②を図11に、赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=423\text{ nm}$ 付近のAの増減率の経時変化をグラフにし、図10の静置のグラフと合わせたものを図12に示した。

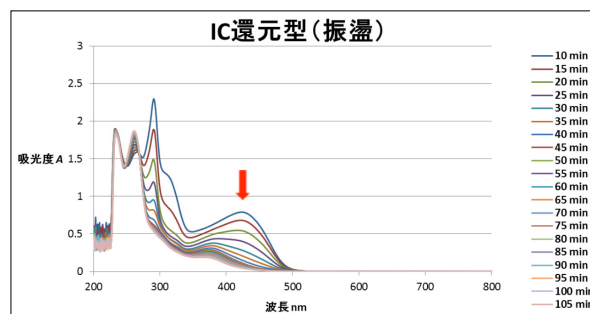


図11 還元型ICのUVスペクトル②(空气中, 振盪)

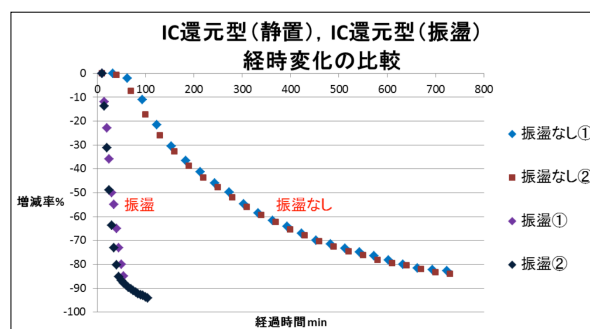


図12 還元型ICのAの振盪の有無での増減率の経時変化の比較 ①, ②は1回目, 2回目の測定であることを示す。

振盪した場合、赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=423\text{ nm}$ 付近のAが、振盪するたびに急激に減少していき、3回×19回の振盪(105 min)で94%まで減少した。静置と比較した結果、振盪することで、ICが急速に分解することが明らかになり、これは振盪により溶液内に入った酸素で酸化型になったICが、酸素が存在するアルカリ性下で分解していると予想された。

還元型ICの安定性への酸素による影響を調べるため、セル内のNaOH aq+glucose aq混合液を5 min Ar曝気置換して測定を行った。なお、NaOH aqとglucose aqを混合すると、Ar置換の有無にかかわらず、溶液の色が褐色に経時変化するため、図11のように時間が短い場合は425 nm付近のAに影響が少ないが、図9のように長時間の場合、影響があると考えられた。そこで水をブランクとし、Ar置換したNaOH aq+glucose aq混合液(ブランク)のUVスペクトルを測定した。その結果を図13に示した。

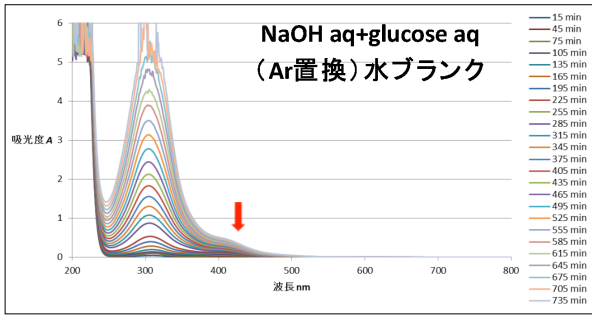


図13 Ar置換したNaOH aq+glucose aq(ブランク)のUVスペクトル

この結果を受け、水をブランクとして測定したUVスペクトルを図14に、赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=429\text{ nm}$ のAから図13のブランクの $\lambda_{\max}=429\text{ nm}$ のAを差し引いた値から求めた増減率の経時変化をグラフにし、図10の静置のグラフと合わせたものを図15に示した。

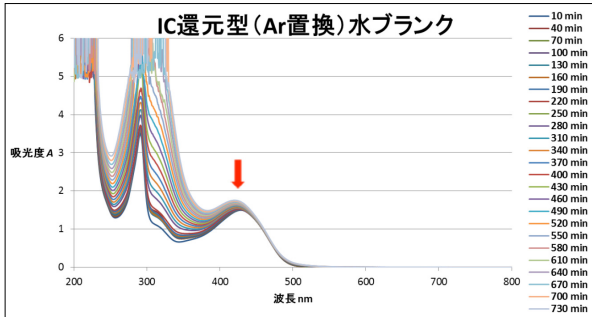


図14 還元型ICのUVスペクトル②(Ar置換, 水ブランク)

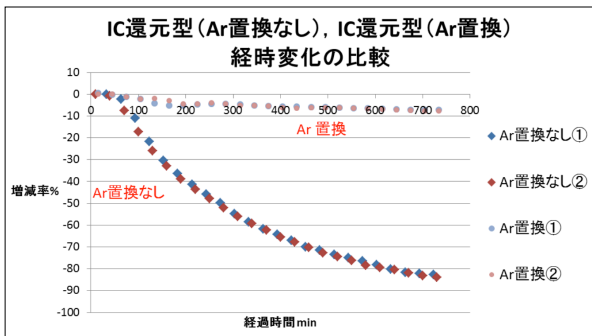


図15 還元型ICのAのAr置換の有無での増減率の経時変化の比較 ①, ②は1回目, 2回目の測定であることを示す。

赤い矢印で示した $\lambda_{\max}=429\text{ nm}$ のAは、わずかずし減少せず、12h後で7.3%または7.8%減少した。したがって、Ar置換して酸素のない状態にした場合、NaOH aq+glucose aq混合液中の還元型ICは極めて安定であることが判明した。

Ar置換で8h測定後、セルの溶液の上部に空気を導入して更に4h測定する実験を行った。この場合、 $\lambda_{\max}=429\text{ nm}$ 付近のAは、8hで11%、または1.8%まで減少、空気を導入した後の8-12hでは、1.8%から24%、または11%から38%へ減少した(図16)。

セルの溶液の上部のガスをArから空気に戻した

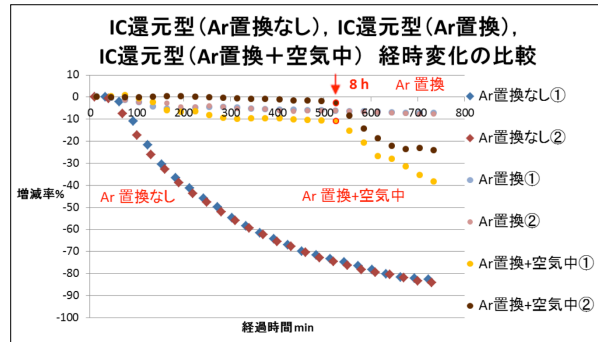


図16 還元型ICのAのAr置換の有無, 8h後空気導入での増減率の経時変化の比較 ①, ②は1回目, 2回目の測定であることを示す。

けで分解が加速されることが分かり、還元型ICの安定性に空気中の酸素が大きく影響していることが確認できた。

4. 結果の考察

以上の実験結果から「振盪色変化の中瓶四姉妹」³⁾の化学マジックの条件下でのICの分解要因について以下のことが明らかになった。

- 1) 酸化型ICはNaOH aq中、空気(酸素)が存在すると、極めて不安定で、10 minで約半分まで急速に分解した。Ar置換して酸素を除いても2hで約半分が分解することが分かった。
- 2) 還元型ICは、酸化型ICに比べ、安定であると考えられ、空気存在下で、5hで約半分まで、ゆっくりと分解した。Ar置換して酸素のない状態にした場合、NaOH aq+glucose aq混合液中の還元型ICは極めて安定であり、12hr後でも約8%しか分解しないことが判明した。
- 3) 25°Cの水中、またはglucose aq中、ICは12hrで1-2%分解することが確認できた。学会発表¹⁶⁾のデータを支持する結果が得られた。0.25 mol/L HCl aq中では分解が確認できなかった。

したがって、演示において、良好な結果を得るために、以下のような対策が考えられる。

- 1) 各色素溶液は冷凍で保存する。特にIC aqは、室温保温では確実に分解していくので、HCl aqとして室温保存することを検討する。
- 2) MB, PS, BVでは通常、色素溶液を添加してから最後にNaOH aqを、なるべく演示の直前に混合するようにしているが、ICでは、glucose aqにNaOH aqを加えて混合した5分後に、1% IC aqを添加する。現在のIC aqの添加量は若干多く、色が濃過ぎると思われるので、添加量を再検討する(6 mLから3 mLに変更済)。
- 3) 演示の前の振盪による確認は、必要以上、行わない。特にICは、1度だけにし、振盪しない。

現在の「振盪色変化の中瓶四姉妹」³⁾の演示時の信号反応系の物質と物質量をまとめると、次のようになる。H₂O 300 mL, glucose 18.0 g (0.10 mol), NaOH (0.15 mol), IC·2Na (0.060 g, 1.3 × 10⁻⁴ mol), 空気約 250 mL (酸素 50 mL, 2.1 × 10⁻³ mol), 更に 20 °C, 1 気圧で蒸留水 H₂O 1L の飽和溶存酸素量は 8.84 mg²⁰⁾ である (ただし, 溶解物によって大きく変わる) ので, H₂O 300 mL では 2.65 mg (8.3 × 10⁻⁵ mol)。酸素 1 mol で glucose 2 mol がグルコン酸 gluconic acid に酸化されるが, glucose が大過剰 (25 倍) になっている。酸素 1 mol で還元型 IC 2 mol が酸化型 IC に酸化されるが, 液の上部にある, びんの酸素は過剰 (8 倍) で, 液中の溶存酸素に対しては, IC が若干過剰になっている。

UV スペクトルの測定では glucose と NaOH は演示の 2 分の 1 の濃度, IC は演示の 6 分の 1 という薄い濃度になっている。

IC の O₂ による分解機構について文献調査と考察を行った。完全に同じ条件の文献は見つからなかったが, 過酸化水素水 (H₂O₂ aq) を加えた条件^{21, 22)} や太陽光線²²⁾ にさらして分解させた, 以下の文献があった。

文献²¹⁾ では, ESI(-)-MS で pH 8 に調整した IC aq [濃度がおかしい。水への溶解度 1 g/100 mL (21 mmol/L) を考慮すると, 153 mmol/L は濃過ぎ。153 μmol/L か?] に, 700 μmol/L になるように H₂O₂ aq を加え, 反応液を分析した。IC (*m/z*=210) から, hydroperoxide 中間体 (*m/z*=234) が生成する。これから isatin-5-sulfonic acid (*m/z*=226) が生成し, これに水が付加して ketoacid

(*m/z*=244) となり, 続く脱 CO 反応で 5-sulfoanthranilic acid (*m/z*=216) になる推定分解経路 (図 17 の黒色の部分) が示された。他にも H₂O₂/KI (ヒドロキシルラジカル・OH が生成することが知られている), および O₃ による分解が調べられているが, いずれの場合でも 5-sulfoanthranilic acid が検出された。

文献²²⁾ では, IC の水溶液を太陽光線に 25 日間, または 55 日間さらした場合, および H₂O₂ aq を加えて 4 時間, または 9 時間加熱して得られた場合の退色分解産物を UV スペクトルと定性反応で確認し, UV スペクトルまたは化学反応で定量した。いずれも時間が短い場合, isatin-5-sulfonic acid が, 長い時間の場合には, 他の文献で報告された 5-sulfoanthranilic acid ではなく, anthranilic acid と硫酸 (反応で定量) が生成するという結果が示された (図 17 の赤色の部分)。古い文献で各生成有機物が精製, 単離されていないのが残念である。

以上の結果を総合し, 更に各反応の機構や O₂ による二重結合が開裂する酸化反応機構を仮定 (図 17 の緑色の部分) して図 17 のような推定経路を示した。IC の TiO₂ を触媒とした光分解反応において anthranilic acid が検出 (HPLC-UV, GCMS) されたという論文²³⁾ や, マイクロプラズマ処理やスーパーオキシドで IC から isatin-5-sulfonic acid が生成することが記述されている論文²⁴⁾ も, IC の O₂ による分解で, isatin-5-sulfonic acid が生成し, これが更に分解されて 5-sulfoanthranilic acid や anthranilic acid が生成するという図 17 の経路を支持する。

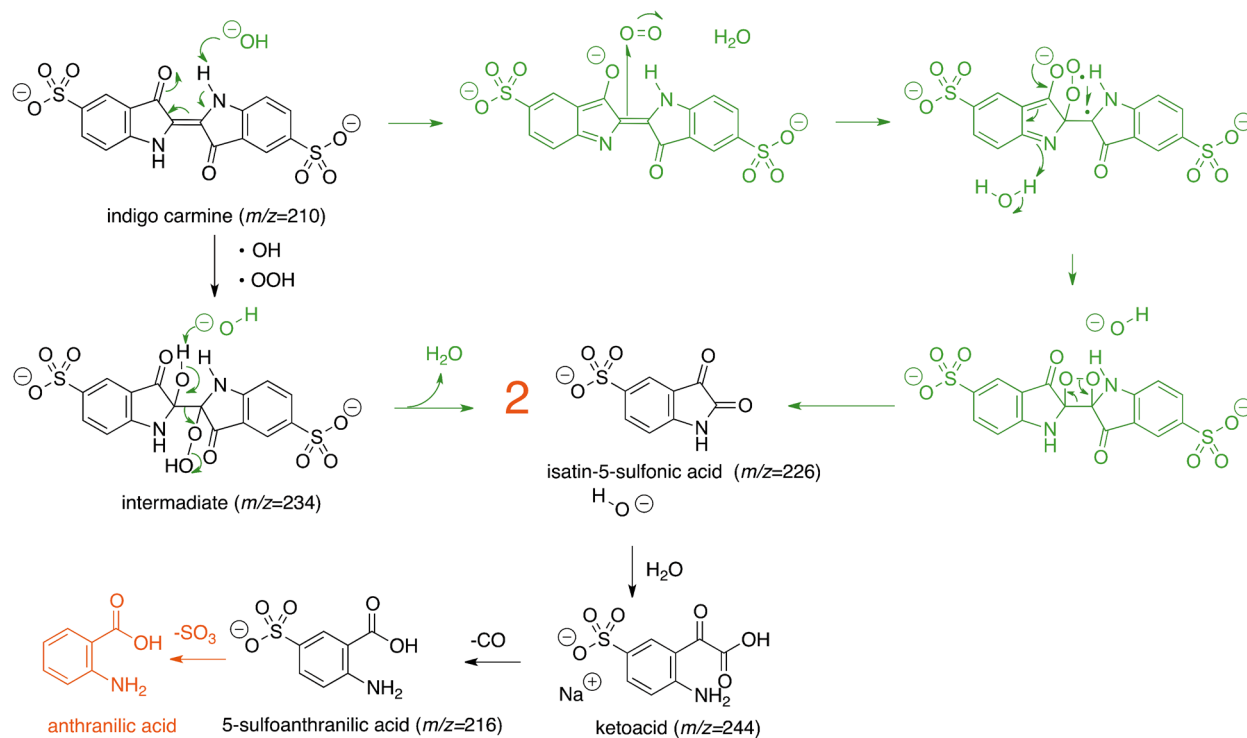


図 17 酸化型 IC の酸化退色における推定分解経路

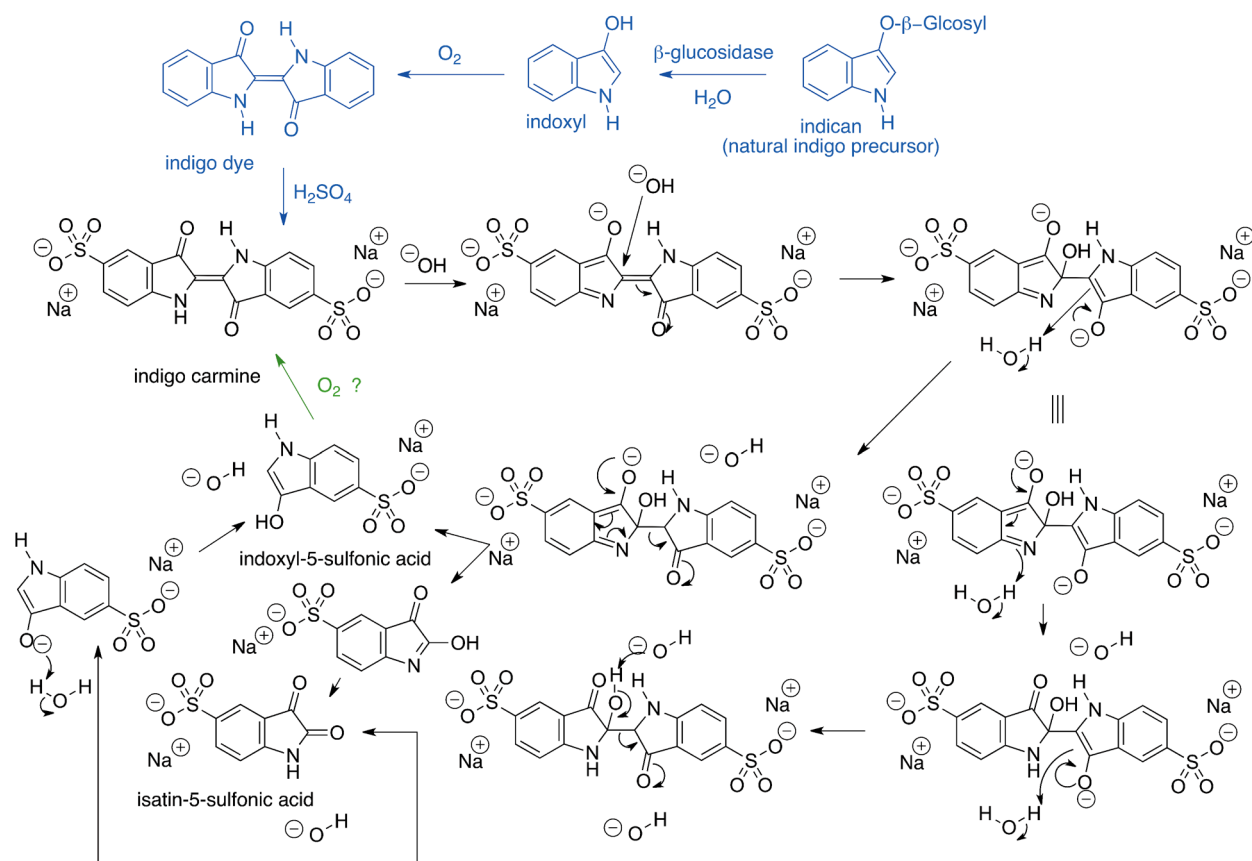


図18 酸化型ICのNaOH aq中 (Ar置換) における推定分解経路

酸化型ICのNaOH aq中, Ar置換して酸素を除いた場合の分解経路についても, 現時点の実験結果から, 図18のような経路(図18の黒色の部分)を推定した. 参考として, 天然のインジゴ前駆体indicanが加水分解され, glucoseとindoxylになり, indoxylが O_2 により酸化されて色素indigoになる. Indigoをスルホン化してindigo carmineが合成されるまでの経路を青色で示した. 黒い経路の中央, および下中央付近で, インドール環をつなぐ結合が開裂してisatin-5-sulfonic acidとindoxyl-5-sulfonic acidが生成している. O_2 が導入されれば, indoxylが O_2 により酸化されて色素indigoが生成するのと同様に, indoxyl-5-sulfonic acidが O_2 で酸化されてindigo carmineが生成する経路(図17の緑色の部分)も想定される.

5. おわりに

今回のUVスペクトルの測定は, glucoseとNaOHは演示の2分の1の濃度, ICは演示の6分の1の濃度で行った. したがって, 実際の演示の条件より色素の濃度が薄いことから, 溶存酸素の影響を受けやすいと予想される. 曝気によるAr置換が完全であったことを再確認するため, 酸化型ICのAr置換のアルカリ性下の分解の再測定を行う予定である. また, 学会発表¹⁶⁾と同様に, 水中, および0.25 mol/L HCl aq中で長時間

放置してUVスペクトルの測定を行い, 安定性を調査する予定である²⁵⁾.

可能であればESI(-)-MSやHPLCで, ICのNaOH aq中, O_2 による分解, およびNaOH aq中, Ar置換して酸素を除いた場合の分解を追跡し, 生成物の確認や定量を行い, 推定分解経路を証明したい.

化学マジックの演示を重ねていくと, これまでの原理の説明に疑問が生じたり, 今回のように, その原因を化学的に探究したくなったりするような面白い現象に, しばしば遭遇する. 学生諸君には, ただ化学マジックを演示するだけではなく, 自分が演示した化学マジックの原理に疑問を抱いたり, 面白い現象に気付いたりして化学の奥深さを感じてもらうことを強く願いたい.

謝辞

本研究は2012-2014年度科学研究費補助金基盤C一般(課題番号24501096), および2015年度科学研究費補助金基盤C一般(課題番号15K00973)により財政的に御支援いただきました. インジゴカルミンの分解に関する文献の情報を頂戴した慶應義塾大学の 大場 茂教授に, お礼申し上げます.

参考文献

- 1) 戸谷 義明, 學士會報**2013**, 898, 74–79.
- 2) 戸谷 義明, 愛教大研報**2010**, 59 (自然科学), 33–42.
<http://hdl.handle.net/10424/2955>
- 3) 戸谷 義明, 山名 賢治, 鈴木 喜隆, “理科が役に立つことが実感できる化学教材実験集”, 愛知教育大学, 刈谷, 2012.
- 4) L. A. Ford 著, 金沢 養 訳, “化学マジック 化学を使う奇術百科”, 白揚社, 東京, 1960, pp 55–56.
- 5) 池本 勲 訳, “教師のためのケミカルデモンストレーション 3”, 丸善, 東京, 1997, pp 138–143.
- 6) 日本化学会 編, “新版 化学を楽しくする5分間一手軽にできる演示実験一”, 化学同人, 京都, 1986, pp 132–137.
- 7) 日本化学会 訳編, “実験による化学への招待”, 丸善, 東京, 1987, pp 134–135.
- 8) 日本化学会 編, “実験で学ぶ化学の世界2 物質の変化”, 丸善, 東京, 1996, pp 105–106.
- 9) 越智 沙也香 他, 中高-07 インジゴカルミンの破壊要因と視覚的定量化, “日本理科教育学会第64回全国大会論文集”, 2014, p 536.
- 10) 以下の Web サイト
Indigo carmine: favored but fading - Kennis voor collecties pdf ファイル
<http://www.kennisvoorcollecties.nl/dmsdocument/102>
Techniques and Innovations Saxon Blue and Saxon Green
http://www.gutenberg-e.org/lowengard/C_Chap34.html
Wikipedia インジゴカルミン <https://ja.wikipedia.org/wiki/インジゴカルミン>
Indigo carmine: Understanding a problematic blue dye
<https://www.iiconservation.org/node/3406>
- 11) “化学大辞典1”, 共立, 東京, 1960.
- 12) “第十六改正日本薬局方”, 29, 158, 424, 2011. ; 第十二改正日本薬局方解説書”, B-260, B-510, C-206, C-209, 廣川, 東京, 1991.
- 13) 以下の Web サイト
<http://www.jpec.gr.jp/detail=normal&date=safetydata/a/dai12.html>
- 14) “The Merck Index 15th ed.”, RSC Publishing, Cambridge, UK, 2013.
- 15) 日本果汁協会 監修, “最新 果汁・果実飲料事典”, 朝倉, 東京, 1997.
- 16) 頼岡 克弘 他, 1D02内視鏡用色素溶液の変色に関する検討, “第43回日本農村医学会学術総会講演集”, 1994, p 378–379.
- 17) M. Yao et al., Scientific Reports 2014, 4, Article number 3650; DOI:10.1038/srep03650.
- 18) 以下の Web サイト
インジゴカルミン インジゴカルミンを用いた信号反応
<http://www.suzutosh.ynu.ac.jp/indigocarmine.html>
- 19) ドクターオギノ & くられ, 化学**2013**, 68 (11), 40–43.
- 20) 工場排水試験方法 JIS K 0102:2013, p 95.
- 21) I. Dalmázio et al., *J. Mass Spectrom.* **2007**, 42, 1273–1278.
- 22) 石橋 武二, 生活衛生**1967**, 11, 228–231.
- 23) M. Vautier et al., *J. Catalysis* **2001**, 201, 46–59.
- 24) K Shimizu et al., *J. Physics* **2013**, Conference Series 441, 012005. および, その引用文献 [28, 29, 30, 31 (上記23), 32].
- 25) 最近, 25 °Cで酸化型ICの, 水溶液, および0.25 mol/L HCl溶液を長時間放置してUVスペクトルの測定を行った. その結果, 水中明(暗)所保存では1週間で4.8% (2.8%), 2週間で

で14% (7.9%), 4週間で33% (20%), 8週間で75% (50%) 分解することが判明した. HCl 溶液中明(暗)所保存では1週間で0.6% (0.4%), 2週間で2.1% (1.6%), 4週間で4.4% (3.1%), 8週間で11% (7.4%)の分解で, 水中より相当安定なことが分かった. いずれも暗所の方が分解しにくいことも分かった.

(2015年9月24日受理)