

食品着色料の色変化と応用

1. はじめに

インジゴカルミン（以下 IC）は藍染めに用いられるインジゴをスルホン化した染料である。IC は食品添加物の「青色 2 号」として食品の着色、医療分野では分腎機能検査や色素内視鏡検査などに利用されており、人体へ無害とされている。IC は pH 11.4 以下で青色、pH 13.0 以上で黄色を示し、黄色の状態では酸化還元反応により緑、赤、黄を行き来する信号反応を示すことが知られている。（図 1）。本研究では、信号反応の緑から黄色への変化を 1 セットと呼び、1 セット後の黄色い信号反応溶液を振盪して緑色に戻し、また黄色に変化するまでを 2 セットなどと呼ぶことにしている。越智ら(2014)により、3 セット目で黄色から緑色に戻らなくなり、信号反応が停止してしまうこと、水溶液の色はセット数が進むにつれて退色することがわかっている。また、信号反応のどの状態でも 3 mol/L HCl aq を 2 mL 加えて酸性化させることで青色に変色させることができ、比色法を用いて信号反応溶液中の IC 残存量を定量し、経時分解を確認できる。越智ら（2014）によって、稀に IC の青色が時間の経過とともに濃くなる現象（以下、青色濃化現象）が起こる（図 2）ことが報告されている。青色濃化現象の発生条件や発生要因については不明である。そのため、青色濃化現象の発生条件や反応機構などが明らかにできれば、IC の人体への安全性を生かして、指示薬、医療分野、食品分野などへの応用が考えられる。

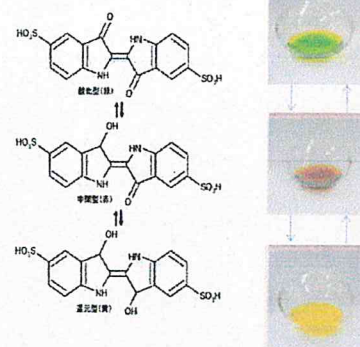


図 1 信号反応時の IC の構造式と色変化

以上のことから、本研究の目的は以下の 3 つとした。

1. 信号反応の経過時間と濃化する青色の濃さの関係明らかにすること。
2. 青色濃化現象を開始させる鍵物質の特定をすること。
3. 青色濃化現象の開始 pH を特定すること。



図 2 青色濃化現象

2. 方法

2-1. 信号反応の経過時間と濃化する青色の濃さの関係

試験管に 2 % NaOH aq 5mL、2 % グルコース aq 5mL、1 % IC aq 0.2 mL を加え、縦に 10 回振り静置した。これらを計 3 本用意して信号反応を行い、それぞれ 1、2 セット終了後、信号反応停止後とした。このような作業の途中で、1 セット後に試験管 3 本のうちの 1 本、2 セット後に別の 1 本、信号反応停止後の時点で残った最後の 1 本に溶液に 3mol/L の HCl aq を 2mL ずつ加え、同様に 10 回強く振って静置し、青色の溶液とした。各試験管において、青色に変化させた直後から 1 分ごとに青色の濃度を比色法で測定した。（図 3）



図 3 比色法での青色濃度測定の様子

2-2. 青色濃化現象を開始させる鍵物質の特定

試験管を5本用意し、それぞれ実験2-1と同様の方法で信号反応を行った。信号反応1セット終了後に3mol/Lの酸2mL加え、10回強く振って静置し青色の溶液とした。この酸をHCl aq、H₂SO₄ aq、HNO₃ aq、CH₃COOH aq、クエン酸 aq と変え、各試験管において、青色に変化させた直後から1分ごとに青色の濃度を比色法で測定した。これを各5回行った。

2-3. 青色濃化現象の開始条件の特定

本実験では実験1,2の3倍の量を用い、水温も25℃に固定した。コニカルチューブを用意し、それぞれ実験2-1と同様の方法で信号反応を行った。信号反応1セット終了後に2mol/L HCl aq を3.40~3.65mLまで、0.05mL刻みで加え、10回振って静置し青色の溶液とし、変化を観察し、10分後にpHを測定した。

3. 結果

2-1. 信号反応の経過時間と濃化する青色の濃さの関係

どの条件においても10分程度で青色濃化現象が停止した。1セット後の溶液では青色濃化現象が確認でき、青色濃度が0分では45%だったものが10分では90%まで濃化した。2セット後では20%から60%まで濃化した。信号反応停止後では、青色濃化現象が確認できなかった(図4)。

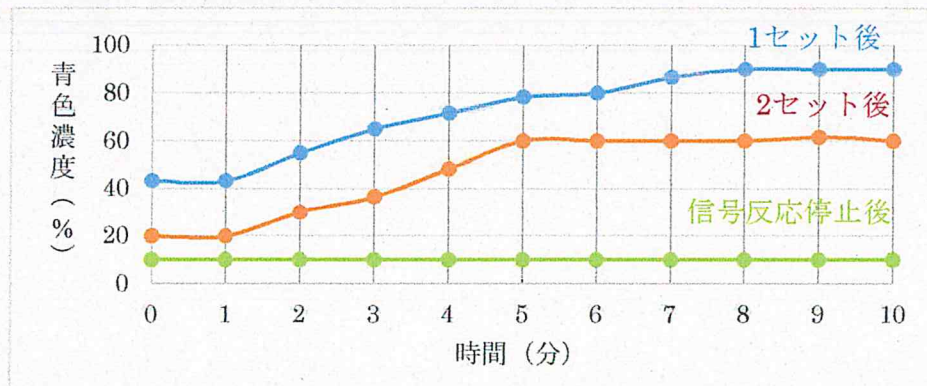


図4 信号反応経過時間別に見た濃化する青色濃度の時間変化

2-2. 青色濃化現象を開始させる鍵物質の特定

5種類全ての酸で青色濃化現象が確認でき、HCl aq 以外の4種類の酸でもHCl aq と同じように10分で90%まで濃化が進んだ。また、他の酸を用いても10分程度で濃化が停止した。(図5)

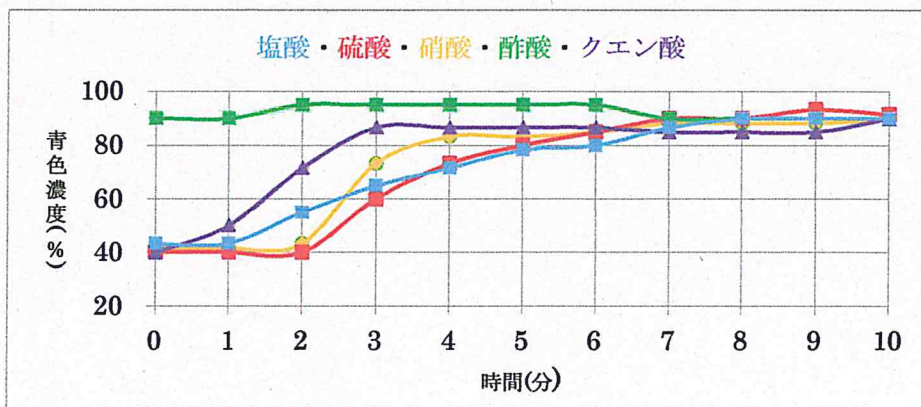


図5 酸の種類別に見た青色濃度の時間変化

2-3. 青色濃化現象の開始条件の特定

pH10.50 以下では、すべて青色濃化現象を起し、pH10.74 以上では全て信号反応を起した。しかし、薄い青のまま変化しないものも 1 回ずつ確認された。(図 6)

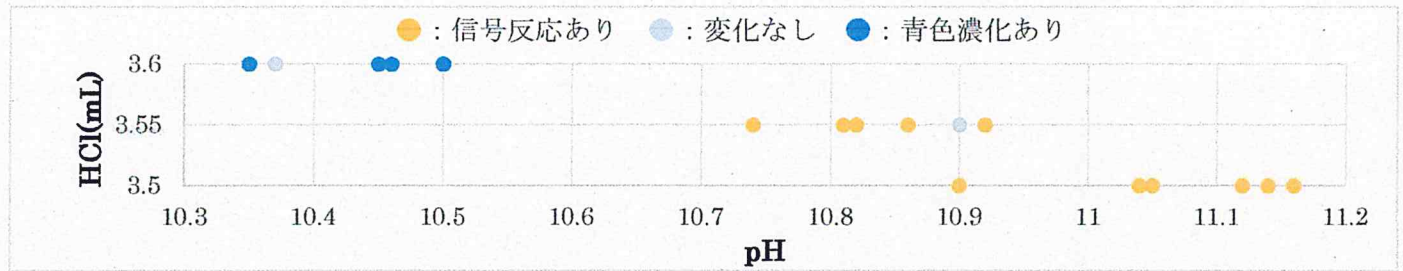


図 6 pH の変化と信号反応・青色濃化現象の有無

4. 考察

実験 2-1 の結果より、信号反応の経過時間が長くなるにつれて青色濃化現象完了時の青色濃度が減少することが明らかになった。1 セット後のグラフに着目すると 0 分では青色濃度は 45% であるため、信号反応開始時に含まれていた IC のうちの 55% が無色物質に変化したことになる。10 分後には 90% まで青色濃化したことから、無色物質のうちの 82% が IC に変化できたことになる。2 セット後、信号反応停止後でも同様に考えたのが下の表になる (表 2)。このことから、信号反応の経過とともにまず IC が「IC に変化できる」無色物質 A に変化し、さらに「IC に変化できない」無色物質 B に変化していると考えられた (表 1)。

表 1 無色物質 A, B の変化

	無色物質のうち 青色濃化した割合	青色に変化できる 無色物質 A の割合	青色変化できない 無色物質 B の割合 (100% - できる%)
1 セット後	82%	82%	18%
2 セット後	50%	50%	50%
信号反応停止後	0%	0%	100%

実験 2-2 の結果より、信号反応溶液に H^+ が増加することが青色濃化現象の開始条件であり、青色濃化現象開始の鍵物質は酸であることが明らかになった。また、酸の価数、酸の強弱、酸化力など、性質別による青色濃化現象への影響は少ないようである。

実験 2-3 より、pH10.74 以上から信号反応が起こり、pH10.50 以下では青色濃化現象が起こったので、pH10.50 付近に青色濃化現象の開始点があると考えられる。これまで信号反応は pH13 以上で起こり、緑色・赤色・黄色の行き来をする現象であるとされていた。しかし、pH10.74 付近で青色・赤色・黄色を行き来する新しい信号反応の存在が明らかになった。

pH10.74 以上では信号反応、pH10.50 以下では青色濃化現象が起こることから、「IC に変化できる」無色物質 A は少なくとも約 pH10.50 以上では無色、約 pH10.50 以下では青色を示す指示薬としての性質を持つことが明らかになった。IC は人体に対して無害な物質であるため、無色物質 A を用いることで、体内の特定の病巣だけを青く染色し、手術の手助けとなる薬品開発につながるかもしれない。また、久万高原町の特産品であるコンニャクは pH が 11~12 であることから無色物質 A を混ぜておくと、カビや細菌により酸が発生すると青く変色し、消費期限を視覚的に伝える食品の開発につながると考える。これが様々な食品に応用できれば、開封後や冷蔵し忘れた食品でも消費期限を色で判断できる画期的な商品開発ができる可能性がある。また、愛媛県は魚の養殖などが盛んなため、魚の鮮度測定への利用が考えられる。例えば、魚の細胞中の酵素を IC を用いて特異的に染色して色変化を見ることにより、酵素の活性の変化から魚の鮮度を視覚的に測定することができるかもしれない。これは、そのほかの生鮮食品にも利用できると考えられる。

5. 結論

信号反応が進むにつれて、青色濃化現象完了時の青色濃度が減少し、信号反応が停止すれば青色濃化現象も起こらなくなること、青色濃化現象を開始させる鍵物質は酸であること、青色濃化現象開始 pH は pH10.50 付近の間にあること、pH11.16～10.74 の範囲で青色・赤色・黄色を行き来する新しい色の信号反応が起こることが明らかになった。さらに、信号反応溶液中では時間の経過とともに、IC が「IC に変化できる」無色物質 A に変化し、さらに「IC に変化できない」無色物質 B に変化している可能性が高いという、信号反応を取り巻く新しい反応経路が考えられた。その「IC に変化できる」無色物質 A は少なくとも pH10.50 以上では無色、pH10.50 以下では青色を示す指示薬としての性質があり、医療・食品分野などで利用できる可能性があることが示唆された。

6. 参考文献

- 1) 越智沙也香、山形果穂、越智湧介、大西健一郎、佐伯駿、安田昂平、櫛延晃喜、柚山泰成、馬越佳和、郡司真志、高橋寛明 他 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、p536
- 2) 越智沙也香、山形果穂、大西健一郎、越智湧介、佐伯駿、櫛延晃喜、柚山泰成、安田昂平、郡司真志、高橋寛明 他、信号反応の停止要因～インジゴカルミンの減少に着目して～