

# 信号反応の還元機構に糖が与える影響

## Effects of sugar on the reduction system of traffic light reactions

東 拓優

Takuya Higashi

立教池袋高等学校

Rikkyo Ikebukuro Senior High School

Corresponding Author's e-mail: 1129takuya1129@gmail.com

(Received: 14 September 2023; Accepted: 18 October 2023; Released: 29 January 2023)

## [要約]

信号反応とは、インジゴカルミンが塩基性溶液下で酸化還元反応によって、緑、赤、黄色を呈色する反応である。インジゴカルミンが酸化された時には黄色のロイコインジゴカルミンから赤色の中間体を経て緑へと変わり、還元された時には緑から赤を経て黄色へと呈色を変化させる。本研究の目的は、インジゴカルミンに対する還元剤として用いる還元に関する条件を変化させることによって糖がインジゴカルミンの色が変わる時間へ与えている影響を明らかにすることである。色が変わる時間は反応の様子を録画した後、RGB 値を用いて決定した。グルコース、ガラクトース、フルクトースの順に色が変わる時間が短かったこと、同じモル濃度のマルトース、ラクトース、グルコースの色が変わる時間が近かったことからホルミル基やカルボニル基などの還元性を示す官能基の存在量が多いほど色が変わる時間が短いと分かった。また、グルコースとガラクトースの割合を変えて混合した際の色が変わる速度のグラフがほぼ一直線上に近い形で推移したことや各単糖の濃度と信号反応を行った際の色が変わる速度のグラフがそれぞれ比例的に推移したことから、1種類の糖を用いた場合や2種類の糖を混合した場合であれば信号反応を用いた糖の定量を行うことが可能になると考えられる。そして、実際に清涼飲料水を用いて信号反応を行い、糖の定量を行うことが可能か確認した。

[キーワード] 信号反応、単糖、二糖、直鎖状分子

Traffic light reaction, Monosaccharide, Disaccharide, Acyclic molecule

## 1. はじめに

信号反応を行うとき、インジゴカルミンに対する酸化剤として溶存酸素、還元剤としては主に還元糖やアスコルビン酸が用いられている。グルコースが還元剤として用いられるときグルコースは図 1 に示すように塩基性溶液下でグルコキシドイオンへと変化する。するとインジゴカルミンは  $\text{OH}^-$  とグルコキシドイオンによって還元されロイコインジゴカルミンへと変化する。そして、インジゴカルミンを還元したグルコキシドイオンは酸化し  $\text{H}_2\text{O}$  が生成される。ここで生成された  $\text{H}_2\text{O}$  と溶存酸素によってロイコインジゴカルミンが酸化され、再びインジゴカルミンへと戻ることで反応が繰り返される (木村 2018)。インジゴカルミンの構造は以下の図 2 のように変化する。

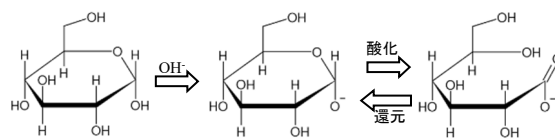


図 1. 信号反応におけるグルコースの構造変化

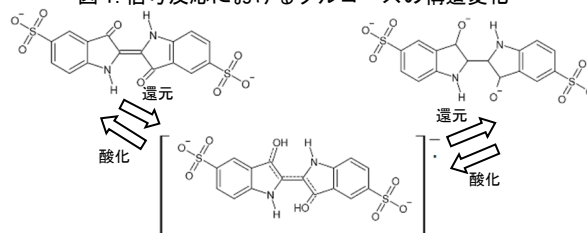


図 2. 信号反応におけるインジゴカルミンの構造変化

従来の信号反応に関する主な先行研究では、反応に用いる塩基性溶媒の pH、用いる酸化還元色素、還元剤の種類を変更したり (木村 2018, Cherprang 2017)、時間を空けつつ反応を繰り返すことで色素の分解時間を導いたりしたもの (大場 2016) などが大半を占めている。

本研究ではまず、単糖の濃度、種類を変更すること、

複数の単糖の割合を変えること、二糖と、それぞれの二糖を構成している糖と同じ組み合わせの単糖との色が変わる時間を比較すること、複数の単糖の割合を変えながら混合することをそれぞれの実験の中で行った。複数の単糖を混合したものを還元剤とし信号反応を行うという実験は従来の信号反応に対する研究では行われていない試みであると考えられる。今回混合する単糖としてグルコース、ガラクトース、フルクトースを用いた。グルコース・フルクトースの組み合わせとガラクトース・フルクトースの組み合わせではアルドースとケトースを同時に用いた際にどちらが優先して反応に用いられているかを予測することができると考えられる。また、グルコースとガラクトースの組み合わせからは直鎖上分子の割合の大きいものと小さいものどちらが先にインジゴカルミンを還元するために働くかを考察することができる。本研究では色が変わる時間の逆数を速度とみなした。色が変わる速度を求めることで還元糖の定量を行うことができるようになると考えられる。

これらの実験を行った後に、グルコース・フルクトースを 1:1 で混合したときの糖のモル濃度を変化させる実験や複数の清涼飲料水を用いて信号反応を行い上記の仮説が正しいか検証を行った。

## 2. 実験方法

具体的な実験手順を以下に示す。

- 1) 0.75mol/L の NaOH 溶液 20mL に還元糖を混合させた。
- 2) 溶液をサンプル瓶に 6mL 移し、0.021mol/L インジゴカルミン溶液を 0.12mL 滴下した。
- 3) 溶液が緑色になるまで振り混ぜ 0.5 秒刻みで RGB 値を測定し色が変わる時間を規定した。

### 2-1. 単糖の種類と濃度を变化させた場合

単糖の種類と濃度を変更することによる色が変わる時間への影響を明らかにするために実験を行った。還元剤としてグルコース、ガラクトース、フルクトースを用いた。また、それぞれの還元剤の濃度を 0.056mol/L、0.112mol/L、0.140mol/L、0.168mol/L、0.224mol/L、0.280mol/L と変化させ色が変わる時間を測定した。

### 2-2. 単糖と二糖の色が変わる時間の比較

単糖と二糖の違いによる還元機構に及ぼす影響を明らかにするために複数の二糖と対応する単糖の組み合わせをそれぞれ比較した。二糖にはラクトース、マルトース、スクロースを用いた。また、それぞれの二糖においてグリコシド結合している 2 つの単糖の合計の物質量が二糖の物質量と等しくなるようにし、二糖との比較を行った。

### 2-3. 複数の単糖を様々な濃度で混合した場合

グルコース、ガラクトース、フルクトースの 3 つの単糖の物質量を合計したとき溶媒に対して 0.280mol/L になるように 2 つずつ選び混合した。混合した時の割合がそれぞれ 20%, 40%, 60%, 80%, 100% となるようにした。

### 2-4. 還元糖の定量

#### 2-4-1. グルコース・フルクトース 1:1 混合

グルコース・フルクトースを 1:1 で混合したときの色が変わる時間とその速度を求めた。還元糖の溶液に対する割合は 0.056mol/L、0.112mol/L、0.168mol/L、0.224mol/L、0.280mol/L と変えた。

#### 2-4-2. 清涼飲料水中の糖の定量

清涼飲料水内の還元糖の定量を実際に行うことができるのかについて検証を行うためにこの実験を行った。清涼飲料水の多くは酸化防止剤としてアスコルビン酸を用いている。このアスコルビン酸が信号反応を行う際に還元に関与する可能性がある。これによる影響を排除するために、アスコルビン酸を破壊することを目的とし使用する清涼飲料水を実験を行う前に煮沸したのち 2 時間静置した。試料としてアクエリアス、アクエリアス 0、ポカリスエット、ポカリスエット・イオンウォーター（以下イオンウォーター）を用いた。

## 3. 仮説

### 3-1. 単糖の種類と濃度を变化させた場合

本実験の仮説として、還元性を示す官能基が同じホルミル基であるグルコースとガラクトースに関しては同じ濃度であれば色が変わる時間は近くなると考えられる。フルクトースではカルボニル基が還元性を示す。このカルボニル基は塩基性溶液下でホルミル基に変わることによって還元性を示す。このカルボニル基をホルミル基に変化させる段階の存在により、還元性を示す官能基の分子量が同じとき各単糖の色の変わる時間を比較した場合、フルク

トースの方が他の単糖に比べ色の変わる時間は長くなると考えられる。

### 3-2. 単糖と二糖の色が変わる時間の比較

二糖を用いて信号反応を行うと、二糖のグリコシド結合は二糖が酸化される際に開環されている可能性がある(石津 1973)。よって二糖を還元剤として用いた場合の色が変わる時間と同じ組み合わせの単糖を用いた時の色が変わる時間を比較すると二糖の色が変わる時間のほうが短いと考えられる。

### 3-3. 複数の単糖を様々な濃度で混合した場合

グルコース・フルクトースとガラクトース・フルクトースの2つの組み合わせでは実験1の結果より、フルクトースの割合の減少に従い色が変わる時間は増加していくと考えられる。また、グルコース・ガラクトースの組み合わせでは、グルコースとガラクトースは還元性を示す官能基は同じであることから色が変わる時間のグラフの傾きはグルコースの割合の増加に従い緩やかな上昇を示すのではないかと考えられる。

### 3-4. 還元糖の定量

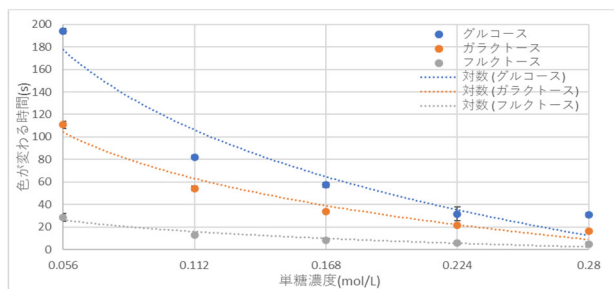
還元糖による定量を行う際に実際の飲料中の還元糖との比較を行うために、グルコース・フルクトースの組み合わせを1:1の物質量の割合で混合したものを検量線とした。市販されている清涼飲料水の殆ど全てにおいてブドウ糖果糖溶液が用いられているためである。

実験4-1において混合した糖の量と色が変わる速度が比例の関係にあったことから清涼飲料水中の炭水化物量を還元糖の量とみなし線形近似式に当てはめることで還元糖の量の定量を行うことができると考えられる。

## 4. 結果と考察

### 4-1. 単糖の種類と濃度を変えた場合

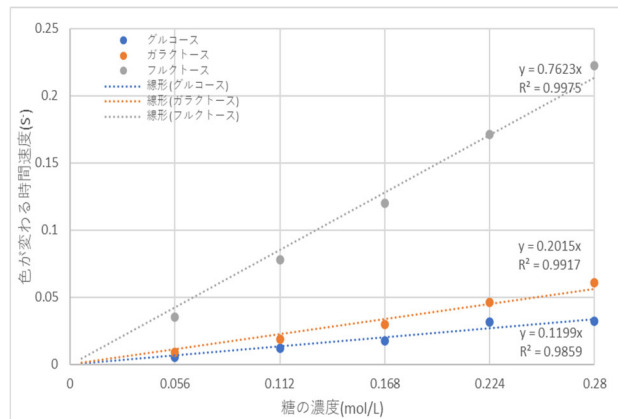
用いた3つの単糖の濃度を変えながら測定した時の色が変わる時間をグラフ1に示す。



グラフ 1. 単糖の濃度を変えた場合の色が変わる時間

全ての濃度においてグルコース>ガラクトース>フルクトースの順に長い時間でインジゴカルミンを還元した。

このグラフ1の色が変わる時間を逆数のグラフに変換することでどの単糖であっても糖の濃度が上昇するに従って一次関数的な増加を確認した。



グラフ 2. 単糖の濃度を変えた場合の色が変わる速度

それぞれの線形近似式と測定値との差を評価する  $R^2$  値は3つとも約 0.99 と一致率が高い。インジゴカルミンを還元する際に働く鎖状構造分子はそれぞれ図3に示すような構造である。

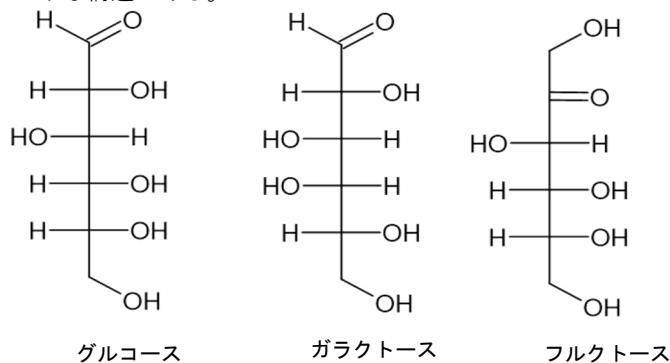
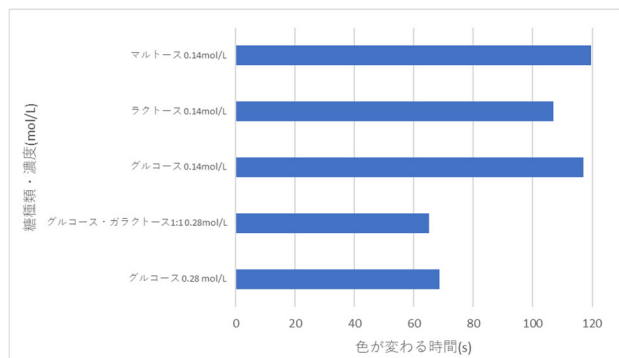


図 3. 単糖の鎖状構造分子

これらの鎖状構造分子の他に水溶液中では単糖は  $\alpha$  型構造分子と  $\beta$  型構造分子の2つが平衡状態で存在している。鎖状構造分子の各単糖での水溶液中の存在比はグルコース 0.01%、ガラクトース 0.05%、フルクトース 0.5% である(香川大学農学部-単糖物性データ)。このことから色が変わる時間の速度は還元剤として用いられる糖の水溶液中の直鎖状分子の存在比に依存していると考えられる。また、糖の中で還元のために働く官能基が同量存在している場合には、ホルミル基の方がケトース基よりも速くインジゴカルミンを還元することができると考えられる。

### 4-2. 単糖と二糖の色が変わる時間の比較

二糖と、それぞれの二糖を構成する単糖を同じ物質質量になるように混合させたものを用いた時の色が変わる時間をグラフ 3 に示す。



グラフ 3. 二糖・単糖比較時の色が変わる時間

同じモル濃度のグルコース、マルトース、ラクトースが、比較的近い値となった。この時、スクロースは還元性を示さなかった。また、還元剤として用いた単糖のモル濃度が二糖の倍のモル濃度の時には二糖の色が変わる時間の約 1/2 倍の色が変わる時間となった。

これらのことから、二糖を還元剤として用いて信号反応を行った時、用いる溶液が塩基性溶液であることによって二糖が開環している可能性は低い。また、インジゴカルミンの還元に作用している部分は図 4 に示すようにグルコース部分のホルミル基であると考えられる。

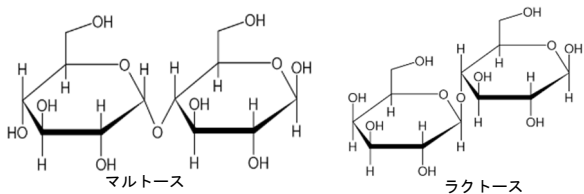
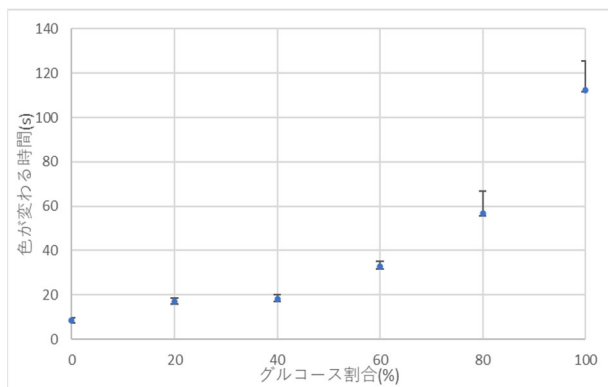


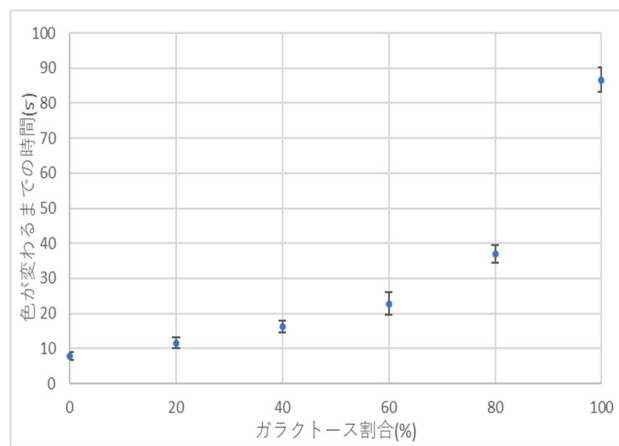
図 4. 二糖構造

### 4-3. 複数の単糖を様々な濃度で混合した場合

グルコース、ガラクトース、フルクトースの 3 つの単糖から 2 つずつ選び糖の割合を変化させたときの色が変わる時間をグルコース・フルクトースの場合についてグラフ 4、ガラクトース・フルクトースの場合についてグラフ 5、グルコース・フルクトースの場合についてグラフ 6 に示す。

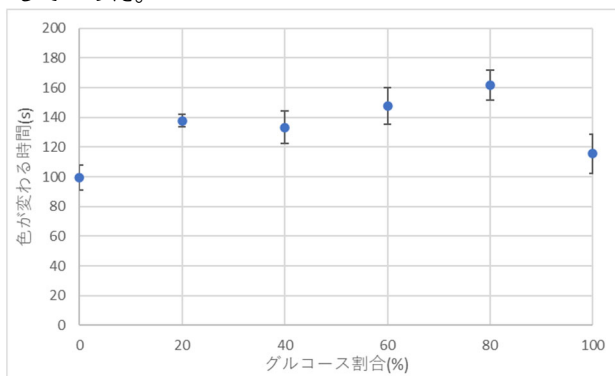


グラフ 4. グルコース・フルクトース混合時の色が変わる時間



グラフ 5. ガラクトース・フルクトース混合時の色が変わる時間

グルコース・フルクトースの組み合わせとガラクトース・フルクトースの組み合わせの時には両方の場合で色が変わる時間のグラフは各区間で傾きを変えながら増加していった。

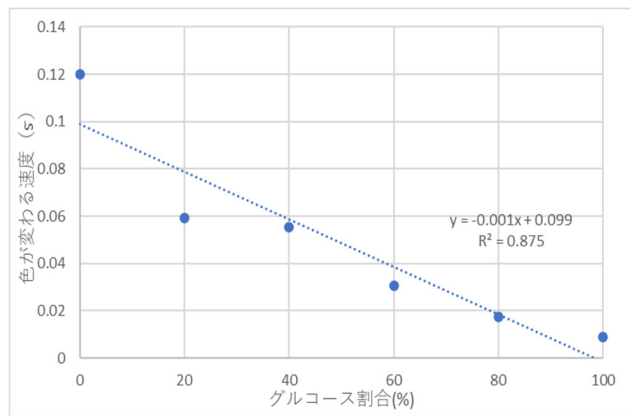


グラフ 6. グルコース・ガラクトース混合時の色が変わる時間

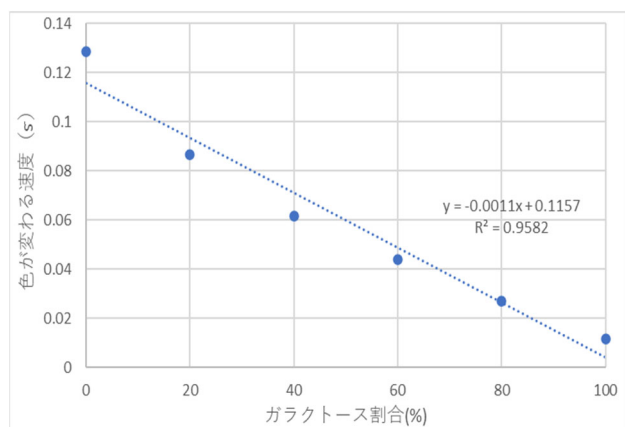
グルコース・ガラクトースの組み合わせで計測を行った際には、割合ごとのばらつきこそ大きいものの始点と終点を除いた二つの単糖が混ざり合っている状態での値は始点と終点の両方よりも長い 150 秒前後で安定していたといえる。

このことから、同じ反応経路を持つ単糖の組み合わせで反応を行った時にはインジゴカルミンを還元する際に互いに反応を阻害しているのではないかと考えられる。

グルコース・フルクトースの場合についての速度のグラフをグラフ 7、ガラクトース・フルクトースの場合についての速度をグラフ 8 に示す。

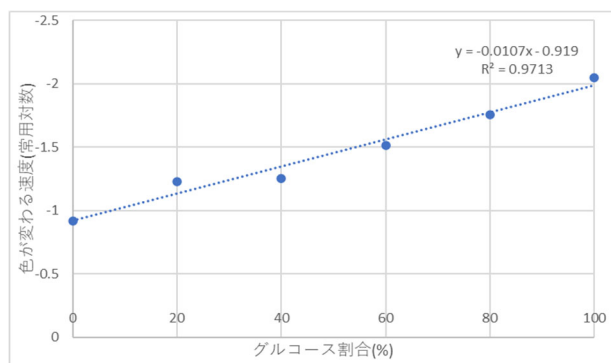


グラフ 7. グルコース・フルクトース混合時の色が変わる速度

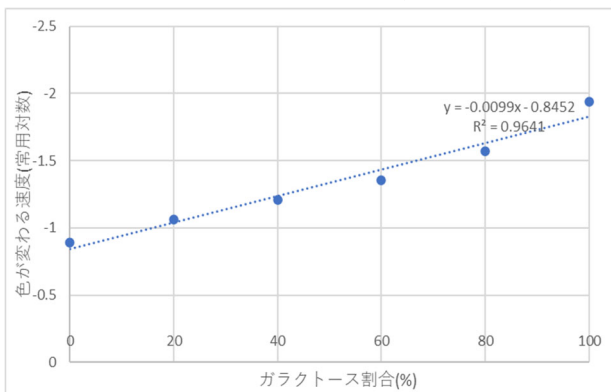


グラフ 8. ガラクトース・フルクトース混合時の色が変わる速度

グルコース・フルクトースでは逆数のグラフをとった際に 0 ~ 20% 間で線形近似式との差が大きくグルコースの割合に対して一次関数的に色が変わる速度が低下しているとは断定できない。グルコース・フルクトースとガラクトース・フルクトースの組み合わせについて常用対数をとった時の結果をグルコース・フルクトースの場合についてグラフ 9、ガラクトース・フルクトースの場合についてグラフ 10 に示す。

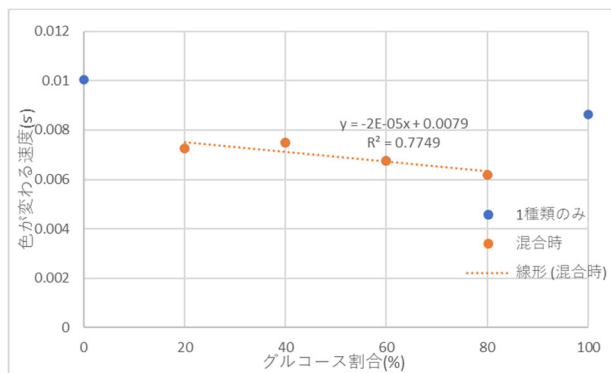


グラフ 9. グルコース・フルクトース色が変わる速度(対数)



グラフ 10. ガラクトース・フルクトース色が変わる速度(対数)

グルコース・フルクトースとガラクトース・フルクトースの 2 つの場合でそれぞれの逆数の値に対しての常用対数をとったところフルクトース以外の方の割合に対して一次関数的に減少していった。このことから還元性を示す官能基の異なる複数の単糖を割合を変えながら混合した場合には逆数の常用対数をとることによって混合比を求めることができるのではないかと考えられる。



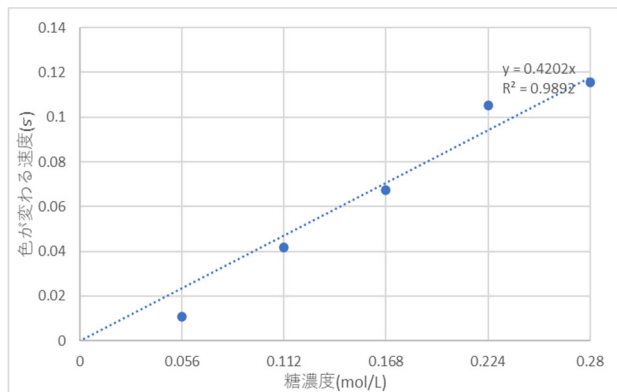
グラフ 11. グルコース・ガラクトース混合時の色が変わる速度

グルコース・ガラクトース混合時には他の 2 つの組み合わせと異なり混合時の速度よりも始点と終点の速度の両方が高いという結果になった。しかしこの組み合わせでは 20~80%間の R<sup>2</sup> 値が約 0.8 と高いため糖の定量に用いられると考えられる。



#### 4-4-1. グルコース・フルクトース 1:1 混合

グルコース・フルクトースを 1:1 で混合し、2 つの単糖のモルの合計の割合を 0.056mol/L, 0.112mol/L, 0.168mol/L, 0.224mol/L, 0.280mol/L と変えて信号反応を行ったときの色が変わる速度をグラフ 12 に示す。

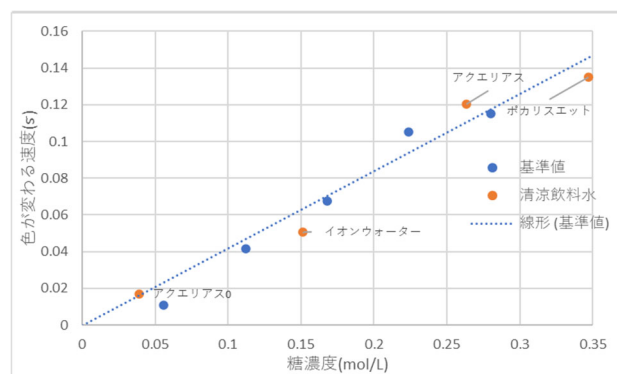


グラフ 12. グルコース・フルクトース 1:1 混合時の速度

色が変わる速度はグラフ 12 に示されているように単糖全体のモル濃度に対して比例的な関係にある。R<sup>2</sup> 値も約 0.99 であることから、塩基性条件下の清涼飲料水を溶媒として信号反応を行うことで信号反応による還元糖の定量が可能であるかどうかの判断を行うことができると考えられる。

#### 4-4-2. 清涼飲料水中の糖の定量

実験 4-1 で示された色が変わる時間の速度のグラフを検量線とみなした際の清涼飲料水を用いた糖の定量を行った際の色が変わる速度のグラフをグラフ 13 に示す。



グラフ 13. 飲料水を用いた時の色が変わる速度

清涼飲料水中の炭水化物量を還元糖の含有量と仮定し、信号反応を行った際の色が変わる速度と比較したとき、基準値としたグラフ 12 のデータと同じように一次関数的に色が変わる速度は増加していった。清涼飲料水の検量線に対するデータのばらつきは基準値のものと比較しても低い。よって他の酸化剤、還元剤を除去することで簡易的な糖の定量を行えると考えられる。

## 5. 結論

以上の実験より信号反応の色が変わる速度と単糖の濃度は比例の関係にあると言える。また、グルコースとフルクトースの色が変わる速度より同量のホルミル基とカルボニル基が存在するときの色が変わる時間を比較した場合、還元性を示すようになるまでの反応の違いによりホルミル基のほうが早くインジゴカルミンを還元することができると考えられる。そして、二糖を信号反応の還元剤に用いた時には還元作用できるのが片方の単糖の官能基のみであり、もう片方の単糖の官能基はグリコシド結合する際の結合部位となり、信号反応内で開環しない。その結果としてラクトースやマルトースと同じモル濃度のグルコースと色が変わる時間が近い値となっていると考えられる。

また、単糖同士を混合して信号反応を行った時には還元力の高いものがインジゴカルミンを還元する際に先に使用されることが考えられる。

これらのことから、信号反応を用いた糖の定量が可能であると考えられる。実際にいくつかの種類の商品の市販されている清涼飲料水を用いた場合について、複数の糖の混合比を指定し、糖のモル濃度の合計を変えた時の色が変わる速度について線形近似式を求めることによっておおまかな糖の定量を行うことができることが今回の研究で示された。

## 引用及び参考文献

木村朋絵、他 2 人 (2018) 「インジゴカルミンを用いる酸化還元反応と化学教材への応用」 横浜国立大学教育人間科学部紀要 IV 自然科学. p1-10.

大場茂、他 1 人 (2016) 「インジゴカルミン水溶液中の分解退色」 慶応義塾大学日吉起用自然科学. No59, p21-29.

石津敦 (1973) 「酸素・アルカリに対する炭水化物の挙動」 紙パ技協誌 27.8 p371-377.

単糖物性データ 香川大学農学部 2023/7/30 閲覧

<https://www.ag.kagawa-u.ac.jp/fukada/sub5.html>

磯崎輔、他 4 人 (2019) 「高校化学への化学振動反応の導入と工夫」 桜美林論考 自然科学・総合科学研究. p45-50.

鈴木俊彰、他 1 人 (2017) 「ブルーボトル反応の検討とカチオン性共役系複素芳香族化合物を触媒とする空気酸化

反応への応用」 横浜国立大学教育人間科学部紀要 IV 自然科学. 18-28.

Cherprang Areekul, *et al.* (2017) “A DFT investigation of the blue bottle experiment”: E° half-cell analysis of autoxidation catalysed by redox indicators *Royal Society Open Science*. 1-23