

## インジカンの酸加水分解により生じる インジゴ・インジルビンの量比に影響を及ぼす因子

古濱 裕樹, 牛田 智, 谷光 香織  
(武庫川女子大学生活環境学部生活環境学科)

### Factors affecting yields of indigo and indirubin produced by acid hydrolysis of indican

Yuki Kohama, Satoshi Ushida and Kaori Tanimitsu

Department of Human Environmental Sciences  
School of Human Environmental Sciences  
Mukogawa Women's University, Nishinomiya 663-8558, Japan

Various fabrics can be dyed reddish purple shade by using the precipitate from indican which is contained in indigo-bearing plants when the precipitate contains a significant amount of indirubin in addition to indigo. Such precipitate can be obtained from the solution of indican in the presence of citric acid at elevated temperatures. The yield of indirubin changes depending on the hydrolysis conditions. Effective conditions to yield much indirubin were investigated by using indican of commercial origin. These conditions were the effect of additives (hydrochloric acid, sodium chloride, surfactants or ethanol), indican concentration ( $0.075\sim2.4g/l$ ) and the kind of acid to hydrolyze indican. The yield of indirubin increased when hydrochloric acid ( $0.02mol/l$ ) was added to the citric acid solution ( $1mol/l$ ) of indican and when the concentration of indican was about  $0.3\sim0.6g/l$  which corresponds to the amount of fresh leaves of *Polygonum tinctorium* being  $25\sim50g$  per liter. Citric acid was preferable as an acid to hydrolyze indican to other acids such as tartaric acid, malonic acid, maleic acid, monochloroacetic acid, etc.

#### 1. 緒 言

藍植物から藍染めに用いる染料(藍)を製造する過程で、生葉に含まれるインジゴ前駆物質のインジカンは、同時に存在する酵素( $\beta$ -グルコシダーゼ)によって加水分解され、インドキシリルになる。インジカンは酵素以外に酸によっても同様の加水分解が可能であり<sup>1)</sup>、熱をかけることで短時間で反応が進行する。こうして生じたインドキシリルは、速やかに酸化されて青色色素インジゴとなり、染色に用いられる。

インジカンに酸を加えて加熱すれば、インジゴ以外に赤色色素インジルビンが生成することがあ

る<sup>2)</sup>。我々は、インジカンの酸加水分解について詳しい研究を行った結果、クエン酸を用いることでインジルビンを多く含む沈殿藍が再現性よく得られることを見出した<sup>3)</sup>。また、このインジルビンを多く含む沈殿藍を用いた染色についても既に報告を行っている<sup>3)4)</sup>。インジルビンを多く含む沈殿藍を用いて染色すれば、季節を問わず、また薬品等を用いずに、絹や羊毛、ナイロン、アセテート、アクリルなどの様々な繊維を赤紫色に染めることができ、藍の生葉を用いた染色の一方法として有用である。このときに用いる沈殿藍中に、赤紫色染色に寄与する色素すなわちインジルビンが多く含まれれば、より濃色に、鮮やかに、かつ多量の被染物を染色すること

ができる。そこで、沈殿藍中に含まれるインジルビンの収量を増加させることを目的とし、酸を用いてインジカンを加水分解させることで生成するインジゴ・インジルビンの生成量に影響を及ぼしうるインジカン濃度や酸の種類、様々な添加物といった因子について検討を行った。

## 2. 実験

### (1) 試料

インジカンは SIGMA のインドキシリ $\beta$ -D-グルコシドを用いた。酢酸インドキシリ、その他の試薬および溶媒はナカライテスク(株)あるいは和光純薬工業(株)の特級試薬を用いた。

### (2) 機器

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は、フォトダイオードアレイ検出器(SPD-M10Avp)を接続した(株)島津製作所の LC-6A システムを用い、カラムは和光純薬工業(株)の Wakopak Handy-ODS(4.6×150mm)，移動相はメタノール 70%，流速は 1.0ml/min で行った。

### (3) インジカンをクエン酸で加水分解したときに生成するインジゴ・インジルビンの量比に及ぼす添加物の効果

30mL 三角フラスコに、インジカン 3mg とクエン酸水溶液を入れ、そこに塩酸やエタノール、塩化ナトリウム水溶液、界面活性剤水溶液を加えることで計 10mL(クエン酸濃度:0.5, 1mol/L)にした。この三角フラスコを 80℃のウォーターバスで 2 時間加熱して、インジカンの加水分解、および生成したインドキシリを酸化させた。加熱後、反応溶液は 0℃の氷水を用いて冷却し、30 分間放置した後、インジゴ・インジルビンの沈殿を回収した。沈殿は HPLC を用い、既報<sup>4)</sup>と同様の手法でインジゴ・インジルビンを定量した。このときの、塩酸やエタノール、塩化ナトリウム、界面活性剤の濃度を変えることで、インジゴ・インジルビンの生成に及ぼす影響を調べた。

### (4) インジカンをクエン酸で加水分解したときに生成するインジゴ・インジルビン量比のインジカン濃度依存性

まず、インジゴ・インジルビンの生成に及ぼすインドキシリ濃度の影響について調べた。インドキシリはインジカンの加水分解によって生成するが、酸化されやすい物質である。そのため、アルゴン雰囲

気下であらかじめインドキシリ溶液を調製してから酸化を開始させた。既報<sup>4)</sup>と同様の方法で、酢酸インドキシリをアルゴン雰囲気下、アルカリで加水分解してインドキシリ水溶液を得た後、アルゴン置換した蒸留水と pH 10 のリン酸緩衝液で希釈し、インドキシリの濃度をインジカンに換算して 1~5g/l になるように調整した。その後、アルゴン雰囲気下から開放し、常温でインドキシリを酸化させた。生成したインジゴ・インジルビンは HPLC を用いて定量した。

酢酸インドキシリを用いた実験より、インドキシリ濃度がインジゴ・インジルビンの生成量比に影響を及ぼすことが分かったので、次にインジカンを酸で加水分解してインドキシリを生成させつつ酸化させる実験で、インジカンの濃度がインジゴ・インジルビンの生成量比に及ぼす影響を調べた。(3)と同じ手法で、三角フラスコにインジカンとクエン酸水溶液(0.5, 1mol/L)を入れて加熱した。その際、インジカンの量を 0.75, 1.5, 6.0, 12, 24, 48mg(インジカン濃度:0.075~4.8g/L)に変え、インジカン濃度がインジゴ・インジルビンの生成量比に及ぼす影響を調べた。

### (5) クエン酸以外の酸を用いてインジカンを加水分解したときのインジゴ・インジルビンの生成

インジカンを加水分解する酸として望ましいものについては前報<sup>3)</sup>に記述したが、ここではクエン酸に加え、オルトリシン酸、マロン酸、モノクロロ酢酸、マレイン酸、乳酸、酒石酸、塩酸、リンゴ酸、酢酸を用いてインジカンの加水分解を行い、酸の種類がインジゴ・インジルビンの生成に及ぼす影響を検討した。それぞれの酸の濃度、および反応前の液の pH は Table 2. に示した。

インドキシリを酸性下で酸化させるときに、酸の種類がインジゴ・インジルビンの生成に及ぼす影響についても検討を行った。酢酸インドキシリをアルゴン雰囲気下、アルカリで加水分解させてインドキシリにし、そこにクエン酸水溶液をクエン酸濃度が 0.5mol/L、および 1.0mol/L(pH 1.4)となるように加え、5~85℃で酸化させた。さらに、リン酸 0.25mol/L(pH 1.4), DL-リンゴ酸 1.5mol/L(pH 1.4), マロン酸 0.75mol/L(pH 1.4), モノクロロ酢酸 0.75mol/L(pH 1.4), マレイン酸 0.15mol/L(pH 1.4), 塩酸 0.05mol/L(pH 1.4) 中では、5℃で酸化させた。なお、pH は反応終了後にろ過した溶液を 15mL に調整したもの、すなわち反応溶液を 1.5 倍

希釈したものを測定した。

### 3. 結果と考察

#### (1) インジカンをクエン酸で加水分解したときに生成するインジゴ・インジルビンの量比に及ぼす添加物の効果

インドキシリはインジカンを酸で加水分解して導くことができ、インドキシリ溶液のpHが2以下であれば、その酸化によって生成するインジルビンの収量が多くなる。そこで、インジカンを加水分解するための酸としてクエン酸を用いれば、pHも2以下にすることができる、インジルビンが多く含まれる沈殿藍を簡単に再現性よく得ることができる。これまでに、様々なクエン酸濃度、加熱時間、温度の条件が、得られるインジゴ・インジルビンの量比に及ぼす影響について検討を行った。そして、インジルビンを多く含む沈殿藍を得るのに好適な条件は、クエン酸濃度を0.5~1mol/l程度にし、80°Cで2時間程度加熱することであることを明らかにした<sup>3)</sup>。

インジカンをクエン酸で加水分解し、酸化させたときに生成するインジゴ・インジルビンの収率は概ね50%前後であり、高くはない。ここで、クエン酸溶液に塩酸を加えてpHをさらに下げることで、インジゴ・インジルビンの収率が上げられるのではないかと考え、検討を行った。クエン酸(0.5, 1mol/l)溶液に塩酸を加えて0.02~0.5mol/lの塩酸濃度にし、それを80°Cで2時間加熱したときに生成したインジゴ・インジルビンのHPLCによる定量結果をFig. 1., 2. に示した。

クエン酸濃度が0.5mol/lの場合は0.05mol/lの塩酸の濃度で、クエン酸濃度が1mol/lの場合は0.02mol/lの塩酸の濃度で、最も多くのインジルビンが生成した。すなわち、微量の塩酸の滴下によって、インジルビンの収量を増加させることができた。いずれのクエン酸濃度でも、インジルビンの収量の最大値はpH 1.1~1.2付近のときで、それよりも低いpHではインジルビンの収量が減少した。その一方で、インジゴの収量はpHが低くなるにつれて多くなった。インジルビンが多く含まれる沈殿藍を水に分散させてインジルビンを染色する方法では、同浴に存在するインジゴが染色に及ぼす影響は小さいので<sup>4)</sup>、沈殿藍としては単純にインジルビンの収量が多ければ好ましいということになる。

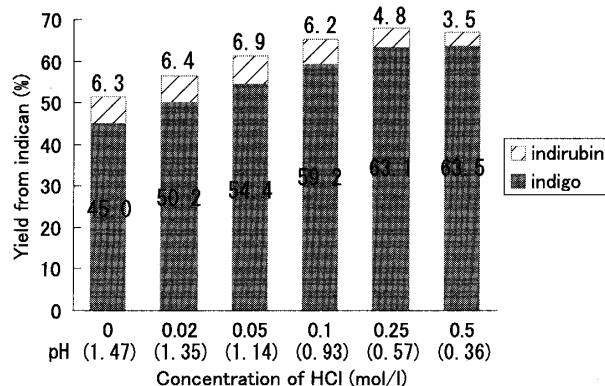


Fig. 1. Yields of indigo and indirubin produced by hydrolysis of indican with HCl (80°C, 2h) in addition to citric acid (0.5mol/l).

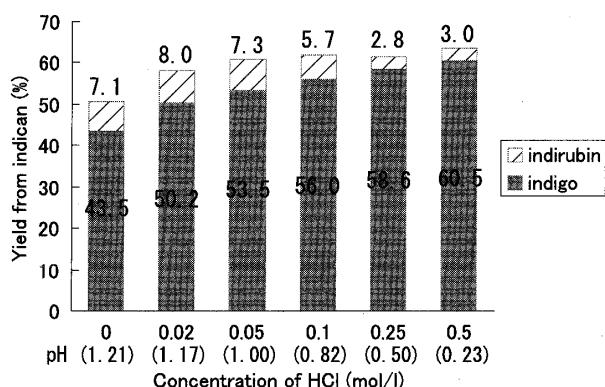


Fig. 2. Yields of indigo and indirubin produced by hydrolysis of indican with HCl (80°C, 2h) in addition to citric acid (1.0mol/l).

次に、インジカン溶液への界面活性剤や中性塩の添加がインジゴ・インジルビンの生成に及ぼす影響について検討を行った。また、アルカリ性で行う藍の生葉を用いた赤紫色染めの際には、染液中に20%程度のエタノールを存在させることでインジルビンが多く生成し、絹やナイロンなどの繊維が赤紫色に染色される<sup>5)6)</sup>。そこで、インジカン溶液にエタノールを添加し、エタノール濃度を5~25%にすることできのうかと考え、検討を行った。

クエン酸を加えたインジカン溶液に、様々な濃度の塩化ナトリウム(NaCl)、非イオン界面活性剤(ポリオキシエチレンラウリルエーテル、AE)、陰イオン界面活性剤(ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、DBS)、エタノール(EtOH)を添加し、加熱することで生成したインジゴ・インジルビンの定量結果をTable 1. に示した。なお、エタノール水溶

**Table 1.** Yields of indigo and indirubin produced by hydrolysis of indican with citric acid at elevated temperatures in the presence of other additives (sodium chloride, surfactants or ethanol).

Conditions of hydrolysis	Concentration of citric acid	Concentration of other additive	Yield of indigo from indican(%)	Yield of indirubin from indican(%)
80°C 2h	0.5(mol/l)	none	45.0	6.3
		NaCl 0.10mol/l	49.1	5.7
		NaCl 0.25mol/l	51.5	5.3
		NaCl 0.50mol/l	52.5	5.4
		NaCl 1.25mol/l	51.9	5.0
		AE 0.10mol/l	43.5	3.5
		AE 0.25mol/l	35.5	1.6
		AE 1.00mol/l	23.9	0.1
		AE 2.50mol/l	5.7	0.0
		DBS 0.10mol/l	48.5	6.2
70°C 4h	0.5(mol/l)	DBS 0.25mol/l	48.3	5.3
		DBS 1.00mol/l	24.6	0.4
		DBS 2.50mol/l	6.2	0.0
		none	46.8	4.5
		EtOH 5%	37.5	2.1
		EtOH 10%	31.5	2.3
		EtOH 25%	20.4	2.6
		none	43.5	7.1
		NaCl 0.25mol/l	55.5	7.5
		NaCl 0.50mol/l	59.2	6.7
		NaCl 1.25mol/l	60.8	4.8
80°C 2h	1.0(mol/l)	none	43.5	7.1
		NaCl 0.25mol/l	55.5	7.5
		NaCl 0.50mol/l	59.2	6.7
		NaCl 1.25mol/l	60.8	4.8

液は高温にできないため、70°Cで4時間の加熱とした。

インジカン溶液に塩化ナトリウムを添加したところ、その濃度が高くなるにしたがって、インジゴの収量は若干増加したが、インジルビンの収量は減少した。これとは別に、クエン酸ではなく、0.025, 0.05mol/lの塩酸でインジカンを加水分解させてインジゴ・インジルビンを生成させる際に、塩化ナトリウム(0.5~2mol/l)を添加して加熱したところ、塩化ナトリウムを添加しなかった場合と比較して、インジルビンの収量に大きな変化は見られなかったが、インジゴのインジカンからの収率は15~20%程度増加した。つまり、塩化ナトリウムの添加は、インジゴの収量を増加させるには効果的であるが、インジルビンを多く含む沈殿藍を得る際には、添加の必要がないということである。

インジカンのクエン酸溶液に、アニオン界面活性剤、あるいはノニオン界面活性剤を添加したところ、その濃度が高くなるにしたがって、インジゴ・

インジルビンの収量は著しく低下した。さらに、エタノールを添加した場合も、インジゴ・インジルビンの収量は低いものとなった。今回は、インジルビンの収量を増やすことを目的としているので、これらの物質の添加はよくないということが分かった。

## (2) インジカンをクエン酸で加水分解したときに生成するインジゴ・インジルビン量比のインジカン濃度依存性

インジカンが加水分解されて生成するインドキシルの濃度が、インジゴ・インジルビンの生成量比に及ぼす影響について調べた。インジカンを酸で加水分解する実験は開放系で行っており、生成したインドキシルの酸化も同時進行する。したがって、インジカンの濃度を高くしてもインドキシルの濃度が高くなるとは限らないが、まずは酸化の起きないアルゴン雰囲気下で得たインドキシル水溶液を用いてインドキシル濃度を変え、それがインジゴ・インジルビンの生成に及ぼす影響を調べた。酢酸インドキシルをアルゴン雰囲気下、アルカリで加水分解して、

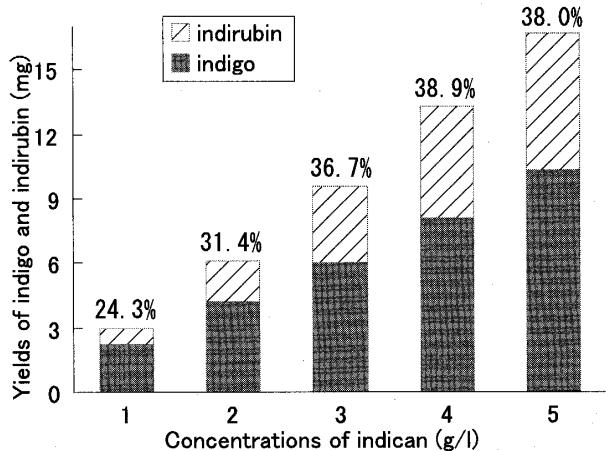
## インジカンの酸加水分解により生じるインジゴ・インジルビンの量比に影響を及ぼす因子

様々な濃度のインドキシル溶液を得て、それを pH 9.2 の弱アルカリ性下、常温で酸化させたときに生成したインジゴ・インジルビンの定量結果を Fig. 3. に示した。

Fig. 3. より、インドキシルの濃度はインジゴ・インジルビンの生成割合に影響を与えていたことが分かった。インジカンに換算して 3g/l 以上のインドキシル濃度になれば、インジゴ・インジルビンの総量に対して 4 割近くものインジルビンが生成した。つまり、インドキシル濃度が高い状態はインジルビンの生成に有利であった。

以上の結果より、酸性下でインドキシルを酸化させる場合でも、液中のインドキシル濃度を高くできればインジルビンの収率を上げることができると考えられる。そこで、インジカンの濃度を高くすることがインドキシル濃度を高くすることにつながり、インジルビンの収率を上げられるかどうかを調べた。試薬でインジカン濃度を変えて、クエン酸酸性下で加熱したときに得られたインジゴ・インジルビンの収率の変化を Fig. 4., 5. に示した。

なお、試薬のインジカンによるこれまでの実験



**Fig. 3.** Yields of indigo and indirubin by oxidizing indoxylo which was generated from indoxylo acetate of various concentrations. The values on the abscissa indicate the concentrations of indoxylo whose values are regarded as those of indican.

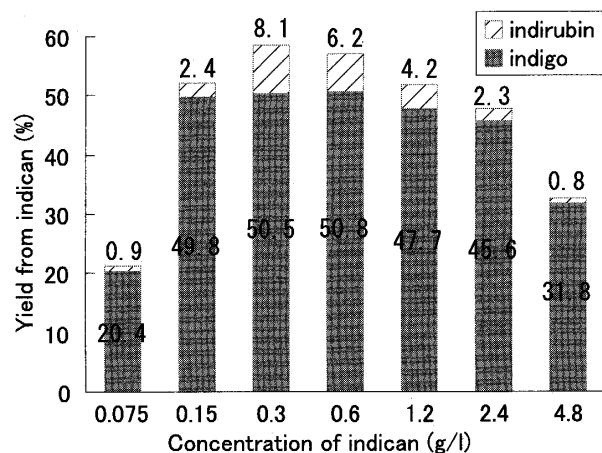
pH of indoxylo solutions: 9.2

The oxidizing temperature: 25°C

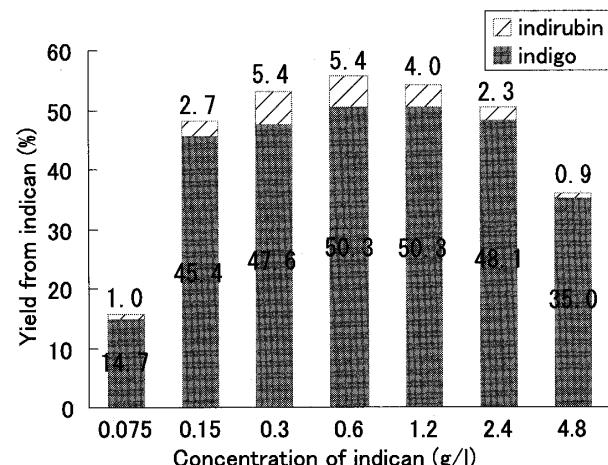
(The percentages in the figure indicate the content of indirubin in the mixture of indigo and indirubin.)

は、インジカン濃度を 0.3g/l として行ってきた。当研究室で使用しているタデアイの生葉中に含まれるインジカン量の平均値は生葉重量の 1.2% であるので<sup>7)</sup>、0.3g/l はタデアイの生葉 1g に含まれるインジカンを 40ml の水に溶かした濃度に相当する。インジルビンが多く含まれる沈殿藍を作るために、タデアイの生葉の熱湯抽出で得たインジカン溶液にクエン酸を加えて加熱した実験では<sup>3)</sup>、50g のタデアイの生葉中に含まれるインジカンを熱湯抽出し、液量を 1l に調整したが、そのときのインジカン濃度は 0.6g/l となり、試薬を用いた実験のおよそ倍の濃度に相当する。

Fig. 4., 5. より、インジカン濃度が高いと、インジゴ・インジルビンの収率が低くなることが分かつ



**Fig. 4.** Yields of indigo and indirubin produced by hydrolysis of indican (80°C, 3h) with citric acid (1mol/l) in various concentrations of indican.



**Fig. 5.** Yields of indigo and indirubin produced by hydrolysis of indican (80°C, 4h) with citric acid (1mol/l) in various concentrations of indican.

た。インジカン濃度が高いため、インジカンの加水分解に長い時間を要するのではないかとも考えられる。ただ、3時間加熱(Fig. 4.)と4時間加熱(Fig. 5.)を比較すると、高いインジカン濃度(1.2~4.8g/l)のもので4時間加熱の方が収率が若干高くなつたが、その違いは小さく、これ以上の長時間加熱してもインジゴ・インジルビンの収量の劇的な増加は見られないと推測できる。また、低いインジカン濃度(0.075~0.15g/l)でも、インジゴ・インジルビンの収率が低く、長い時間加熱したことでのインジゴの収率はさらに低くなつた。生成したインジゴの分解が起つていることも考えられる。

インジカン溶液に酸を加えて沈殿藍を作る際に、加水分解で生成したインドキシルは速やかに酸化されて、逐次インジゴ・インジルビンへと変わっていくので、インドキシル濃度が高い状態にはなりにくいと考えられる。そのため、Fig. 4., 5. に見られたように、インジカンの濃度を高くしてもインジルビンの生成割合が高くなるということはなかつた。加熱する際の容器を小さくして、液が空気と接

する面積を小さくすることなどで、溶存酸素量を制限すれば、高いインドキシル濃度の状態にすることも可能であると考えられ、それによってインジルビンの収率を増加させうる余地はあるだろう。

以上より、クエン酸濃度が1mol/lで、80°Cで加熱する際は、インジカン濃度が0.3~0.6g/lのときに最も多くのインジゴ・インジルビンが得られることが分かった。すなわち、25~50gのタデアイの生葉からインジカンを熱湯抽出し、そこに酸を加えて1lの液量にして沈殿藍を作ることが望ましいということである。

### (3) クエン酸以外の酸を用いてインジカンを加水分解したときのインジゴ・インジルビンの生成

インジカンを加水分解させるための酸として、クエン酸を主に使用したが、その理由は前報<sup>3)</sup>に記述した。しかしながら、クエン酸以外の酸でもインジカンの加水分解は可能であるので、クエン酸と同程度の強さの様々な酸を用いてインジカンを加水分解させ、インジゴ・インジルビンを生成させた。様々な酸を用いたときに生成したインジゴ・インジルビ

Table 2. Yields of indigo and indirubin from indican (80°C, 2h) by the hydrolysis with various acids.

Acid	Concentration of acid(mol/l)	pH value indicated by pH meter	Yield of indigo (%)	Yield of indirubin (%)
Citric acid	1.0	1.2	43.5	7.1
〃	0.50	1.5	45.0	6.3
Phosphoric acid	1.0	0.9	64.7	5.9
〃	0.50	1.1	63.0	5.8
Malonic acid	1.0	1.2	53.7	5.1
〃	0.75	1.3	45.6	4.7
Monochloroacetic acid	1.0	1.2	50.2	4.5
〃	0.75	1.3	46.2	4.7
Maleic acid	1.0	0.7	44.3	3.3
〃	0.15	1.4	43.4	4.8
Lactic acid	6	1.1	31.3	1.3
〃	3	1.4	60.7	4.8
Tartaric acid	1.0	1.3	50.1	3.8
〃	0.50	1.6	52.4	3.6
Hydrochloric acid	0.050	1.3	53.5	3.5
〃	0.025	1.5	37.8	2.4
Malic acid	1.5	1.3	47.8	1.8
〃	1.0	1.5	55.0	1.8
Acetic acid	4.0	1.9	26.5	0.4
〃	2.0	2.2	21.2	0.3

ンの定量結果を Table 2. に示した。

インジルビンの収量は、クエン酸の場合が最も多かった。酒石酸やリンゴ酸など、クエン酸に近いpHのものでもインジルビンの生成は少なかった。リン酸では、インジゴの収量も多くなり、酢酸ではインジゴ、インジルビンともに少ない収量となつた。インジカンを酸で加水分解してインジゴ・インジルビンを得るときに、その生成割合にpHが影響を及ぼすことは明らかであるが<sup>3)</sup>、pHがほとんど同じでも酸の種類によって生成割合が変わることが分かった。その要因は不明であるが、3mol/l乳酸や1.5mol/lリンゴ酸、1mol/lマレイン酸のように、高濃度の酸溶液を用いた際は、pHが低くてもインジゴ・インジルビンの生成が少なかつたことや、前報<sup>3)</sup>で示したように、2~3mol/lクエン酸でインジカンを加水分解させたときには、インジゴ・インジルビンの収量が少なかつたことから、pH以外に、酸の濃度とそれに伴う溶液の状態、すなわち溶存酸素量や液の粘度等がインジゴ・インジルビンの生成に影響を及ぼしているとも考えられる。

以上の結果より、インジカンの酸加水分解時に生成するインジゴ・インジルビンの量比には、pH以外に酸の種類という因子がかかわっていることが明らかになった。インジカンに酸を加えて加熱する方法では、インジカンからインドキシルへの加水分解と、それによって生成したインドキシルの酸化という二つの反応が共存するため、単純に考えることは難しい。そこで、酢酸インドキシルをアルゴン雰囲気下でアルカリ加水分解させることで生成したインドキシル溶液を用いて、インドキシルが酸性下で酸化されるときの酸の種類の影響について検討を行った。インドキシル水溶液に様々な酸を加えて酸性下で酸化させ、生成したインジゴ・インジルビンを定量した。その結果を Fig. 6. に示した。

酢酸インドキシルから導いたインドキシル溶液に様々な酸を加えてから酸化させると、多くのインジルビンが生成した。しかし、リンゴ酸やマレイン酸を用いたものはインジゴの収量が少なくなり、塩酸を用いたものはインジゴの収量は多くなったがインジルビンの収量が少なくなった。いずれの酸を用いたものでも反応後のpHはほぼ同じであったことから、酸の種類によってインジゴ・インジルビンの生成量比に若干の変化が生じたと言える。アルゴン雰囲気下でインドキシル水溶液に酸を加えた際、クエン酸やリン酸、塩酸等では溶液の色は薄い青緑色の

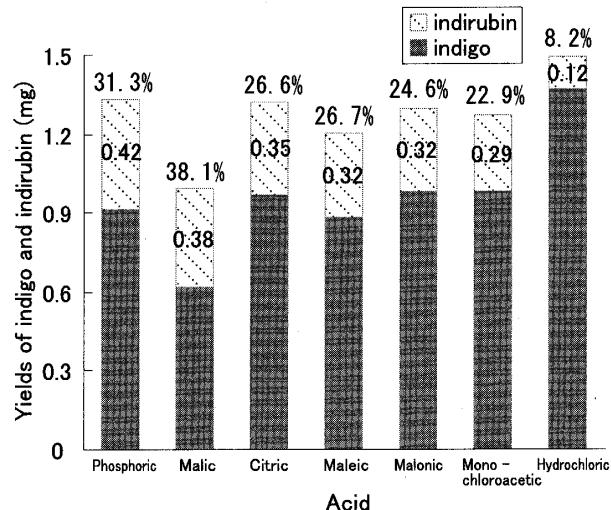


Fig. 6. Yields of indigo and indirubin obtained by oxidizing indoxyl in various acid solutions.

(The percentages in the figure indicate the content of indirubin in the mixture of indigo and indirubin.)

まま変化がなかったが、リンゴ酸やマレイン酸では溶液の色が青緑色から黄緑色への変化が観察された。その色の変化との関係は不明であるが、リンゴ酸やマレイン酸ではインジゴの収量が少なくなった。

インドキシルをpH 2以下の酸性下で酸化させれば、インジルビンが多く生成するが<sup>3)</sup>、そのときのpH調整にクエン酸を用いることがインジルビンの生成に特に有利であるということはなかった。インジカン溶液に様々な酸を加えて加熱したとき(Table 2.)は、クエン酸を用いることで最も多くのインジルビンが得られたが、インドキシルの酸化反応時においては、その傾向は見られなかった。酸が異なれば、インジカンの加水分解の反応速度にも違いが生じ、その要因とFig. 6. で見られたインドキシルが酸化されるときの酸の種類の要因が複合されて、インジカン溶液を酸性下で加熱したときに生成するインジゴ・インジルビン量に違いが生じたものと考えられる。

クエン酸を加えたものは、インドキシル溶液を5, 25, 45, 65, 85°Cで酸化させ、温度がインジゴ・インジルビンの生成に及ぼす影響についても検討した。(Fig. 7.)

その結果、0.15mol/lのリン酸緩衝液を用いたとき<sup>3)</sup>と同様に、特に低温で多くのインジルビンが生成した。インジカン水溶液にクエン酸を加えて加熱し、インジルビンを豊富に含む沈殿藍を得る際には、

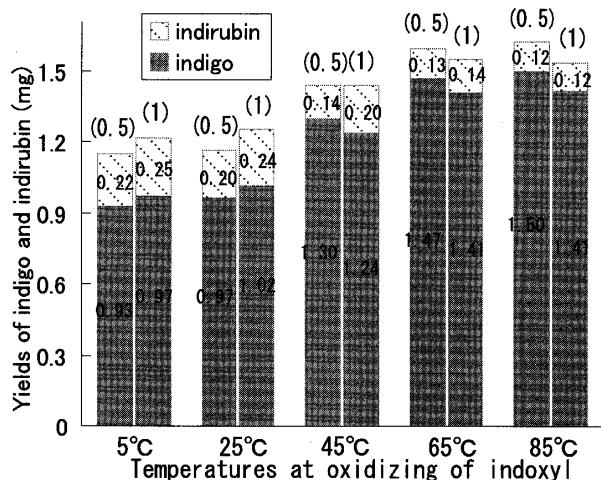


Fig. 7. Yields of indigo and indirubin obtained by oxidizing indoxyl in citric acid solutions of different temperatures.

The values in parentheses indicate the concentrations of citric acid (mol/l).

4時間以上の長時間にわたって加熱を続けるよりも、2時間程度の加熱にとどめる方がインジルビンの収量が多くなった<sup>3)</sup>。これは、2時間の加熱直後にはインドキシルが液中にまだ残っており、それが温度が下がっていく段階で酸化されたためであると考えられる。

クエン酸濃度で比較すると、0.5mol/lよりも1mol/lの方が、特に低温でインジルビンの生成が多くなった。インジカンにクエン酸を加えて加熱する際も、1mol/lのクエン酸濃度のものでインジルビンが多く生成する結果が得られており<sup>3)</sup>、この結果からも、インジルビンを多く含む沈殿藍を得るためにクエン酸濃度を1mol/lにすることがよいということがいえる。

#### 4. 結 語

藍の生葉から得られたインジカン溶液にクエン酸を加えて加熱することで、インジルビンを多く含む沈殿藍が得られる。このときにインジゴ・インジルビンの収量を変化させる因子について検討を行い、インジルビンが多く生成する条件の確立を目指した。その結果、多くのインジルビンを得るための条件として、1mol/lのクエン酸濃度にしたインジカン溶液に0.02mol/lとなるように塩酸を添加すること、インジカン濃度は0.3~0.6g/l程度がよいこと、用いる酸はクエン酸がよいことなどが明らかと

なった。しかし、塩酸を添加してもインジルビン収量は僅かにしか増加せず、また今回検討を行った他の条件はインジルビンの生成には逆効果であったため、さらに多くのインジルビンを生成させるためには、今後も検討を続けることが必要である。

#### 引用文献

- 三木與吉朗, 阿波藍譜 製藍事業篇, 三木産業, pp.269-410(1971); 黒野勘六, 天然藍に関する研究, p.286(1919頃)
- 鳥本 昇, 高岡 昭, 衣生活研究, 15, 24-27 (1988)
- 古濱裕樹, 牛田 智, 上野都志佳, 谷光香織, 日本家政学会誌, 56, 879-888(2005)
- 古濱裕樹, 牛田 智, 山越さとみ, 日本家政学会誌, 56, 389-397(2005)
- 牛田 智, 谷上由香, 太田真祈, 日本家政学会誌, 49, 389-395(1998)
- 牛田 智, 谷上由香, 日本家政学会誌, 49, 1033-1036(1998)
- 牛田 智, 川崎充代, 日本家政学会誌, 52, 75-79(2001)