

Trautz-Schorigin 反応のルミノール発光を使った食品中のポリフェノールの簡易検出法の開発

大阪桐蔭高等学校 中島哲人

1. 研究目的と背景

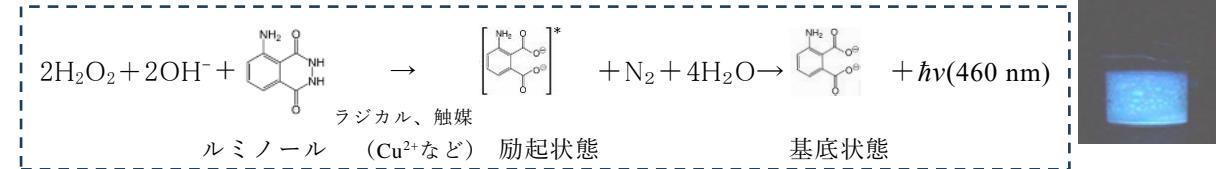
Trautz-Schorigin 反応の二色発光

Trautz-Schorigin 反応(過酸化水素とホルムアルデヒドとピロガロール)は二色発光として知られている(文献 1)。最初に一重項酸素 $^1\text{O}_2$ の赤色発光が起き、溶液の温度が約 50°C 以上になると、遅れてルミノールの青色発光が観察される。

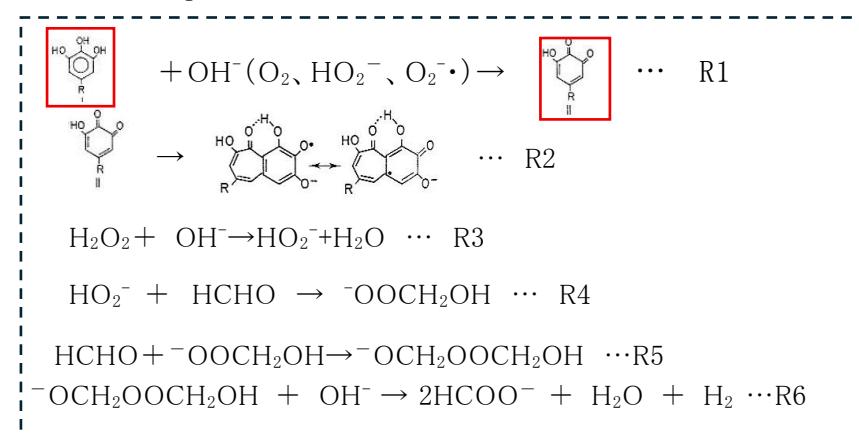
Trautz-Schorigin 反応によるルミノールの青色発光

青色発光はピロガロール、没食子酸などの OH 基を隣どうし 3 個もつポリフェノールを使うと起きる。

ルミノールの一般的な発光反応は、ラジカルや触媒などがあると酸化され、励起状態になり基底状態に戻る時に青色発光する。



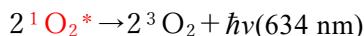
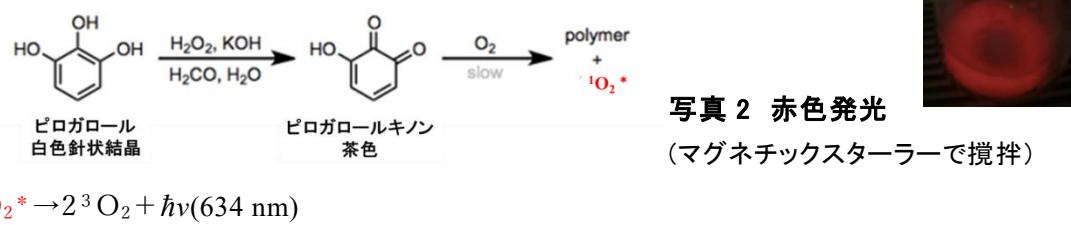
Trautz-Schorigin 反応のルミノールの青色発光の反応機構(文献 1, 2)



R6 の発熱反応で溶液の温度が約 50°C 以上になり、ラジカルがあると、引き金を引かれ遅れて青色発光が起こる。

Trautz-Schorigin 反応による $^1\text{O}_2$ の赤色発光

$^1\text{O}_2$ の赤色発光の反応機構(文献 1)と赤色発光の様子を以下に示す。この反応では、ピロガロールを溶かすために KOH が加えられる。



本校の理科研究部には Trautz-Schorigin 反応による $^1\text{O}_2$ の赤色発光の強度を測定して飲料水中のカテキン類の含有量を調べた研究例がある(文献 3)。その研究では、青色発光を観察する必要はないのでルミノールを入れずに、一重項酸素 $^1\text{O}_2$ の赤色発光の強度のみを測定した。その要旨は 1) ポリフェノールの中で、ピロガロール、没食子酸、タンニン酸では、反応で発生する一重項酸素か

らの総発光強度(発光強度×時間=記録用紙の面積)と含有量とがほぼ比例関係にあることがわかつた。

- 2) 没食子酸がピロガロールより発光が弱いのは、電子吸引性基—COOH によることが、2,3,4-トリヒドロキシ安息香酸と2,3,4-トリヒドロキシベンズアルデヒドの実験で確かめられた。
- 3) OH 基を隣どうし3個もつピロガロール系の化合物でないと発光しないことがわかつた。
- 4) ヘルシア(4、15倍濃縮液)の総発光強度と商品表示からカテキン類の含有量を図にプロットし、検量線が引ける。市販4種類の緑茶飲料の総発光強度からの検量線を使ってカテキン類の含有量を求めた。その結果、文献から求めた値とほぼ一致した。一重項酸素からの発光を測定することで、HPLC を使うことなく、食品に含まれている抗酸化作用が強いピロガロール系の化合物の量を簡易に比較できることがわかつた。

ただし、OH 基を隣どうし3個もつピロガロール系の化合物でないと赤く発光せず、カテキン類では発光したが、ブルーベリーやココアパウダーなどでは赤く発光しなかった。

この研究の発想

2022、2023年 の本校の理科研究部の研究(文献3)では、一重項酸素 $^1\text{O}_2$ の赤色発光の強度のみを測定したので、青色発光に必要なルミノールを加えていなかった。

Trautz-Schorigin 反応では、OH 基を隣どうし3個もつピロガロール系の化合物でないと赤色発光は起こらなかつたが、ルミノールが関わる青色発光については、以下のような根拠で、「ベンゼン環にOH 基を2個もつ化合物でも起こるのではないか」との仮説をたてた。

R1の反応では、キノン(C-H 基をC=O 基に置き換えたジカルボニル化合物)を基本骨格とする化合物が生成する。キノン(2つのケトン構造)骨格を有する化合物であれば青色発光が起こるので、出発物質は、OH 基を3個持つピロガロールではなく、OH 基が2個の化合物であっても良いのではないかと考えられる。食品中にはピロガロール系の化合物は限られるが、OH 基を2個もつ化合物であれば幅広く存在する。いろいろな食品中のポリフェノールを簡単に検出する方法(通常の微量分析のHPLC を使わない簡易法)を開発したいと思った。

研究目的

- (1) Trautz-Schorigin 反応のうちの青色発光が、OH 基を2つ持つカテコール、レゾルシノールでも起こるかどうかを確認するとともに、カテコールあるいはレゾルシノールの添加量と発光強度の定量的関係を調べる。
- (2) ベンゼン環にOH 基を2個持つ他のポリフェノール(オルト位のカフェイン酸、3,4-ジヒドロキシ安息香酸、メタ位の3,5-ジヒドロキシ安息香酸)で青色発光が見られるかどうか確認する。また、ベンゼン環にOH 基を1個持つフェノール、サリチル酸、2,4-ジクロロフェノールの場合でも青色発光が見られるかどうか確認する。
- (3) Trautz-Schorigin 反応の青色発光を応用して、食品中に含まれるポリフェノールの含有量を調べる。

2. 実験方法

<試薬類>

水酸化ナトリウム、ルミノール、カテコール、レゾルシノール、炭酸カリウム、40%ホルムアルデヒド、30%過酸化水素水、カフェイン酸、3,4-ジヒドロキシ安息香酸、3,5-ジヒドロキシ安息香酸、フェノール、サリチル酸、2,4-ジクロロフェノール、ブラックチョコレート、Cacao 86%チョコレート、Cacao 95%チ

ヨコレート、純ココアパウダー、バンホーテンピュアココアパウダー、ブルーベリー、ゲンノショウコ
<器具>

50 mL 100 mL トールビーカー、マグネチックスターラー、ウォーターバス、光電管 R645(浜松ホトニクス)、定電圧安定化電源、電流電圧変換回路、イージーセンス用電圧センサ A ($\pm 20V$ ナリカ E31-6990-08)、イージーセンス用電圧センサ C ($\pm 1V$ ナリカ E31-6990-10)、液温用温度センサ A(ナリカ E31-6990-01)、イージーセンス(ナリカ E31-6981)、パソコン、暗幕、アスピレーター(ULVAC MCV-20PS)、ブフナー漏斗、吸引ビン、ガスコンロ、ろ紙

<操作>

(1) 50 mL と 100 mL を重ねたトールビーカー、NaOH 水溶液をウォーターバスで、40°Cに温めておく。0.50 mol/L NaOH 2.5 mL、ルミノール 1.0 mg を入れ、マグネチックスターラーで攪拌しながら炭酸カリウム 1.6 g を加え溶かす。マグネチックスターラーで攪拌しながらカテコール、レゾルシノールなどの粉末を加え、ほぼ溶けたことを確認する。ウォーターバスで、40°Cに再び1分間温める(図 1-1)。二重にしたトールビーカーを発光測定装置にラベルが手前になるように入れる。さらに 40 %ホルムアルデヒドを 0.63 mL 加える。すばやく、使い捨て手袋を着用し 30%過酸化水素水 1.9 mL を加える。ホルムアルデヒドを加えてから過酸化水素水までを、一定時間(15 秒)に迅速に行う。素早く温度センサ付きの蓋をして、暗幕をかぶせ、光電管のシャッターを開く。記録(電圧センサ A ($\pm 20V$)で V、電圧センサ C ($\pm 1V$)で mV、温度センサ)を開始する(図 1-2)。

(2) 粉末食品の場合は、お湯を加え 3~15 分間煮沸し、吸引濾過後に、濾液を濃縮したものを抽出液とした(図 1-3)。

① ブラックチョコレート 5.0 g(カカオポリフェノール含有量 83 mg):お湯 30 mL 加え 3 分間煮沸し、吸引濾過し濃縮し 15 mL を得た。

② Cacao86%チョコレート 5.0 g(カカオポリフェノール含有量 147 mg)、Cacao95%チョコレート 5.0 g(カカオポリフェノール含有量 174 mg):お湯 40 mL 加え 3 分間煮沸し、吸引濾過し濃縮し 7.0 mL を得た。

③ 純ココアパウダー 5.0 g(ポリフェノール含有量 180 mg)、バンホーテンピュアココア 5.0 g(ポリフェノール含有量 220 mg):お湯 50 mL 加え 5 分間煮詰め、吸引濾過し濃縮し 7.0 mL を得た。

④ ブルーベリー 100 g:ミキサーで粉碎し 80 mL 果汁を得た。
ガーゼで濾過し、濃縮して 20 mL を得た。

⑤ ゲンノショウコ 10 g:お湯 300 ml で 15 分間煮だした。ろ紙で吸引濾過し、濃縮して 30 mL を得た。

(3) 図 1-1 で 5.0 mol/L NaOH 0.25 mL、ルミノール 1.0 mg、炭酸カリウム 1.6 g、食品からの抽出液

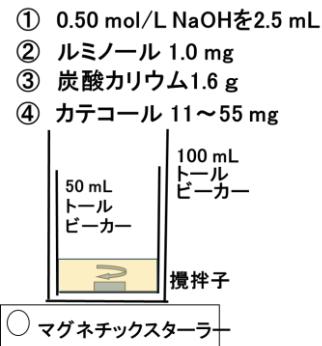


図 1-1 溶液の調整

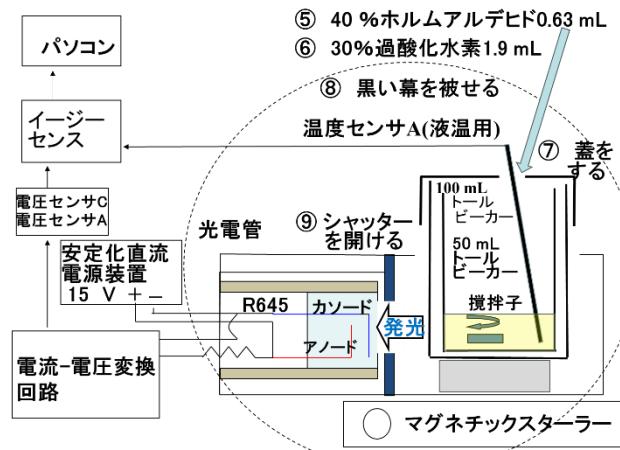


図 1-2 発光強度の測定

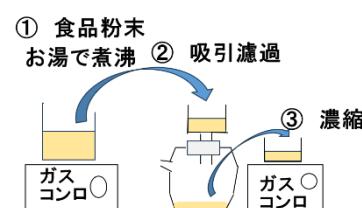


図 1-3 食品からの抽出

2.25 mL を使い溶液を調整した。図 1-2 と同様の手法で、青色発光の有無や食品中の関連物質の含有量と発光強度との定量的関係を調べた。

3 実験結果と考察

研究 I. ベンゼン環に OH 基2つ持つカテコール、レゾルシノールで Trautz-Schorigin 反応の青色発光を確認する。添加量と発光強度の定量的関係を調べる

(1) カテコール

<実験条件> カテコールの添加量を 11、22、39、55 mg とし、添加量と発光強度との関係を調べる。
 <実験結果>

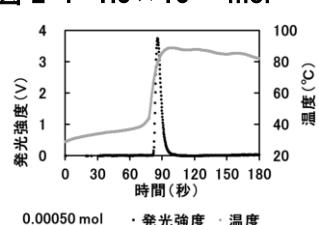
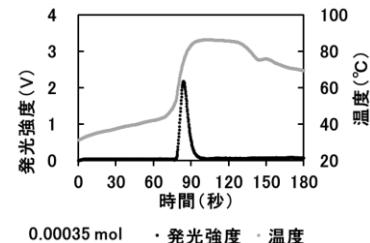
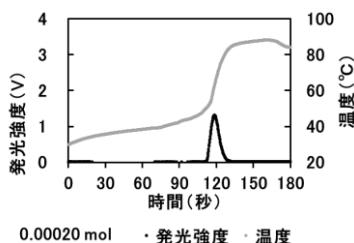
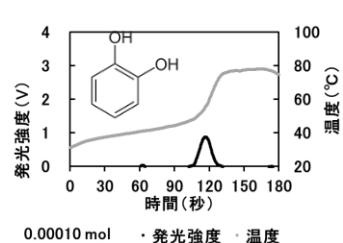
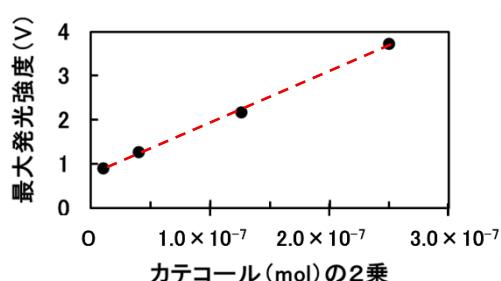
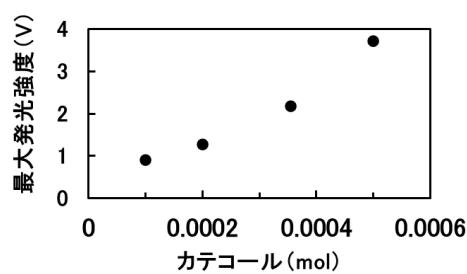


表 1 カテコールの量と最大発光強度

カテコール	最大発光強度	
mg	mol	V
11	0.00010	0.91
22	0.00020	1.28
39	0.00035	2.18
55	0.00050	3.73



<考察>

発光強度の単位はカンデラ(cd)や mW/cm²などが使われるが、光電管の出力を電流-電圧変換回路から電圧センサで測定したので、単位は V にした。

反応により液の温度が上昇し 50°C 付近から発光した(図 2-1~2-4)。最大発光強度とカテコールの量とは直線関係にならぬ(図 3 左)、カテコールの量の2乗とは、少なくとも 0.00010 mol から 0.00050 mol の範囲でほぼ直線関係にあった(図 3 右)。図 3 右が後述の食品中のポリフェノールの分析の検量線として使えると判断した。

(2) レゾルシノール

<実験条件> レゾルシノールの添加量を 11、22、39、55 mg とし、添加量と発光強度との関係を調べる。

べる。

<実験結果>

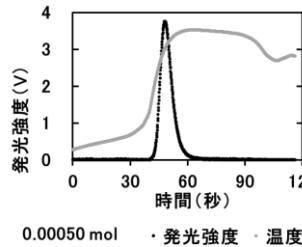
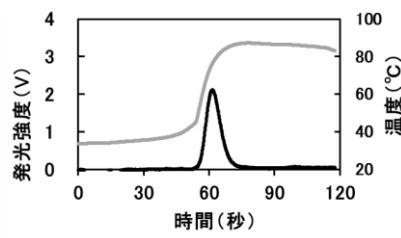
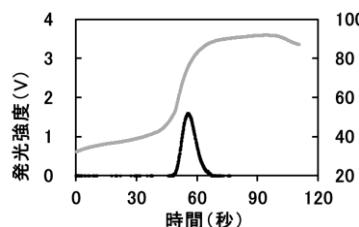
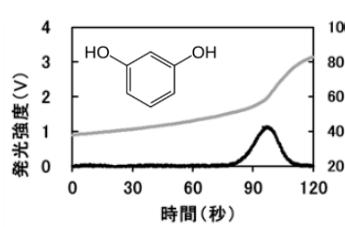
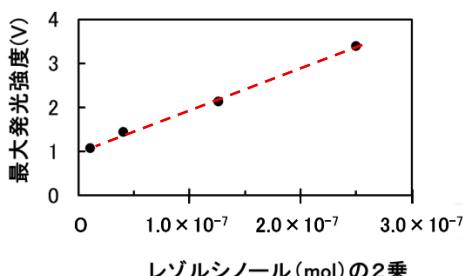
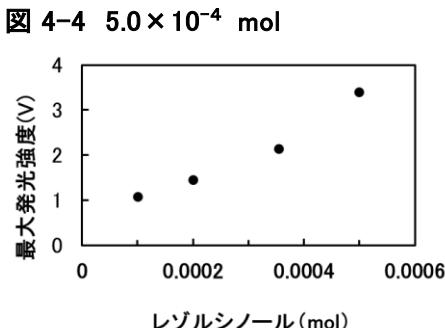


表 2 レゾルシノールの量と最大発光強度

レゾルシノール	最大発光強度	
mg	mol	V
11	0.00010	1.09
22	0.00020	157
39	0.00035	2.15
55	0.00050	3.41



<考察>

液温が 50°C 付近になると発光した(図 4-1~4-4)。最大発光強度とレゾルシノールの量とは直線関係ではなく(図 5 左)、レゾルシノールの量の2乗とは、少なくとも、0.00010 mol から 0.00050 mol の範囲で、ほぼ直線関係にあった(図 5 右)。

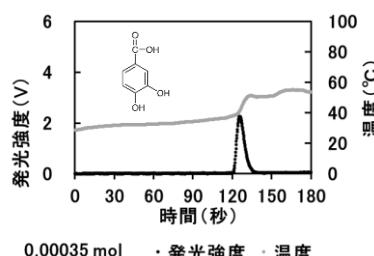
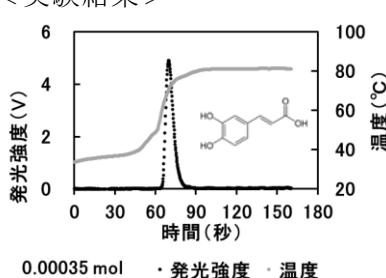
〈研究 2〉 その他のベンゼン環に OH 基を持つ化合物で青色発光が見られるかどうか確認する

(1) ベンゼン環に OH 基を 2 個持つ化合物

<実験条件>

OH 基を 2 個持つ化合物(オルト位のカフェイン酸、3,4-ジヒドロキシ安息香酸、メタ位の 3,5-ジヒドロキシ安息香酸)を 0.00035 mol 加え、発光するか確認する。

<実験結果>



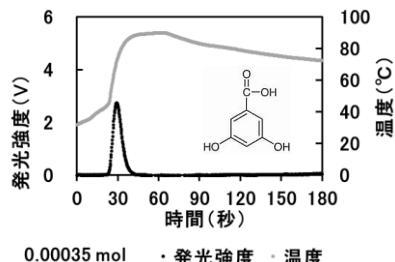


図 6-3 3,5-ジヒドロキシ安息香酸

<考察>

ベンゼン環に OH 基を 2 個持つ化合物で、ルミノールによる青色発光が確認された(図 6-1~6-3)。

(2) ベンゼン環に OH 基を 1 個持つ化合物

<実験条件>

OH 基を 1 個持つフェノール、サリチル酸、2,4-ジクロロフェノールを 0.00035 mol 加え、発光するか確認する。

<実験結果>

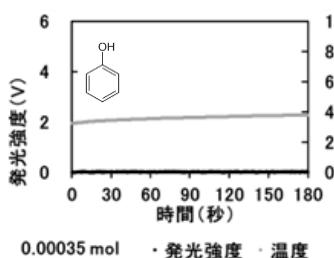


図 7-1 フェノール

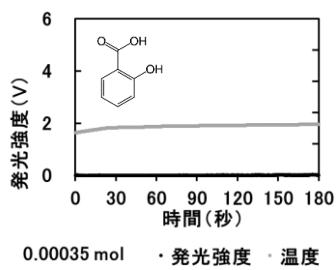


図 7-2 サリチル酸

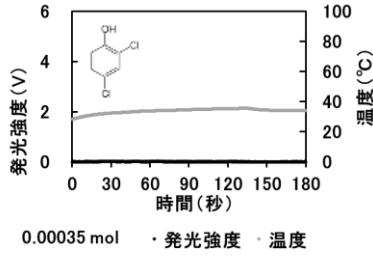


図 7-3 2,4-ジクロロフェノール

<考察>

OH 基を 1 個持つフェノール類では溶液の温度が上昇せず、ルミノールは発光しないことがわかつた(図 7-1~7-3)。R1 の反応でキノン骨格の生成物が得られず、ラジカルが生成しなかつたため、温度が上昇しなかつたと考えられる。

〈研究 3〉 Trautz-Schorigin 反応を利用して、食品など(ココアパウダー、ブラックチョコレート、ブルーベリー、薬草のゲンノショウコ)のポリフェノールの含有量を調べる

食品中にはピロガロール系の化合物は限られるが、OH 基を 2 個もつ化合物であれば幅広く存在する。カカオポリフェノールには、エピカテキンなどが含まれている(文献 4)。

カテコールとレゾルシノールの含有量と発光強度との関係が明らかになり、カテコールを基準とする検量線を作成することができたので、各種食品中のポリフェノールの簡便な定量分析法を開発する。

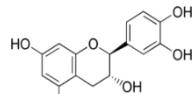


図 8 エピカテキン

(1) ココアポリフェノール

ココアやチョコレートにはカカオポリフェノールが含まれている。

<実験結果と考察>

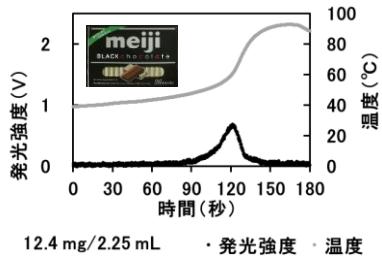


図 9-1 ブラックチョコレート

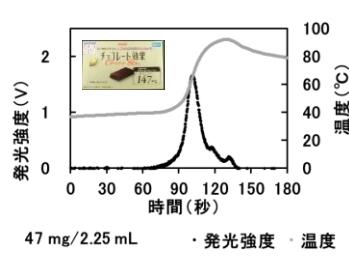


図 9-2 Cacao86%チョコ

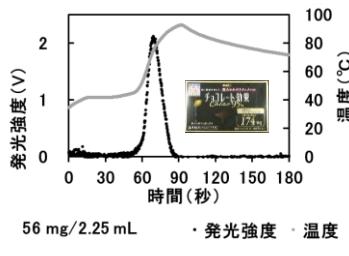


図 9-3 Cacao95%チョコ

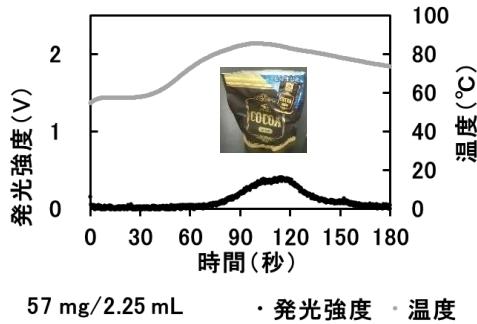


図 9-4 純ココアパウダー

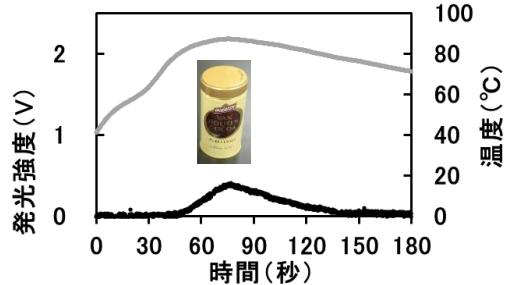


図 9-5 バンホーテンピュアココア

カカオポリフェノールには、エピカテキン以外もいろいろな化合物が含まれている。分子量を一律にエピカテキン相当量の 290 としてモル濃度を以下のように計算した。

- ① ブラックチョコレートの場合 $12.4 \times 10^{-3} \text{ g}/290 \text{ g/mol} / 0.00225 \text{ L} = 0.019 \text{ mol/L}$
- ② Cacao86%チョコレートの場合 $47 \times 10^{-3} \text{ g}/290 \text{ g/mol} / 0.00225 \text{ L} = 0.072 \text{ mol/L}$
- ③ Cacao95%チョコレートの場合 $56 \times 10^{-3} \text{ g}/290 \text{ g/mol} / 0.00225 \text{ L} = 0.086 \text{ mol/L}$

表 3 チョコレートとココアパウダーの発光強度とモル濃度

	2.25 mL中のポリフェノール mg	最大発光強度 V	モル濃度 mol/L	モル濃度の2乗 (mol/L) ²
ブラックチョコレート	12.4	0.68	0.019	0.00036
86%チョコレート	47	1.67	0.072	0.0052
95%チョコレート	56	2.10	0.086	0.0074
純ココアパウダー	57	0.36	0.087	0.0076
バンホーテンピュアココア	70.7	0.40	0.108	0.0117

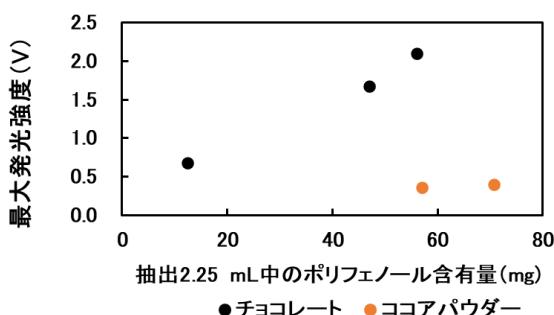


図 10 ココアポリフェノールと最大発光強度

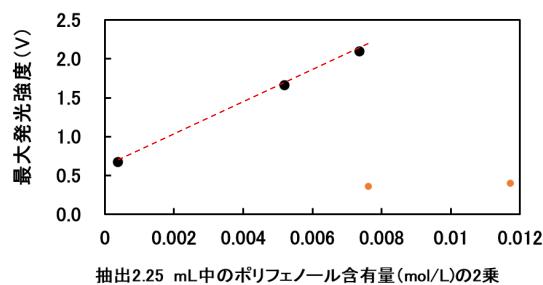


図 11 ポリフェノールの含有量の2乗と最大発光強度

チョコレートでは、含まれるココアポリフェノールと最大発光強度とに相関があり(図 9-1～9-3)、最大発光強度とココアポリフェノールの含有量の濃度の 2 乗とは直線関係にあった(図 11)。

ココアパウダー(純ココアパウダーとバンホーテンピュアココア)の発光強度は、含まれるココアポリフ

エノールの含有量(理論値)から予想される値の約6分の1であった(図9-4～9-5および図10)。その原因是、ココアパウダーを吸引濾過した際の、残渣がかなり多かった(すなわち、ポリフェノールの抽出率が低かった)ことであると考えられる。

(2) その他の食品や薬草

ブルーベリーにはアントシアニンの中のシアニジン(図12)などが含まれている(文献5)。薬草のゲンノショウコにはタンニン関連のポリフェノールが含まれている。

<実験結果と考察>

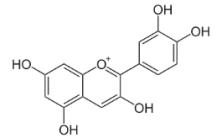


図12 シアニジン

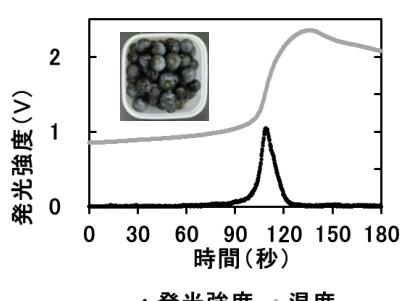


図13-1 ブルーベリー

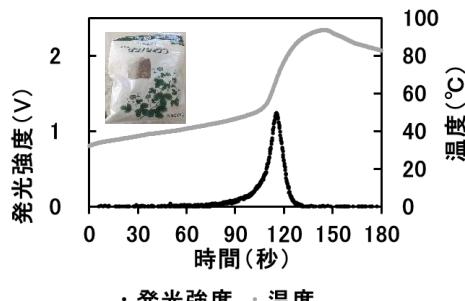


図13-2 ゲンノショウコ

ブルーベリー(図13-1)や薬草(図13-2)に含まれているポリフェノールをルミノールの発光で確認できた。

チョコレートで得られた検量線にブルーベリーとゲンノショウコの最大発光強度をプロットすると、

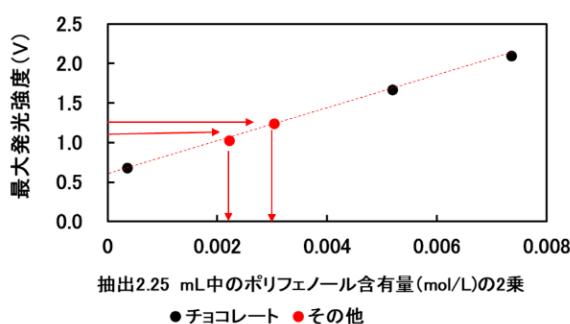


図14 検量線を使って含有量を求める

表4 検量線から求めた2.25 mLの含有量

	最大発光強度 V	モル濃度の2乗 (mol/L) ²	モル濃度 mol/L	2.25 mL中のポリフェノール mg
ブルーベリー	1.03	0.0022	0.047	30
ゲンノショウコ	1.24	0.0030	0.055	39

モル濃度から質量の計算には分子量が必要である。ブルーベリーにはシアニジン以外の多数の化合物が含まれている。アントシアニンの基本骨格から考えて、一律に分子量をシアニジン相当量287として質量を計算した(表4)。 $\sqrt{0.0022} \text{ (mol/L)}^2 = 0.047 \text{ mol/L}$ 、

$$0.047 \text{ mol/L} \times 287 \text{ g/mol} \times 0.00225 \text{ L} = 0.030 \text{ g}$$

ゲンノショウコにはタンニンが含まれていて、主成分のガラニインの分子量は952で、発光に関して3倍の能力があり、3分の1の317を基本に計算した。 $\sqrt{0.0030} \text{ (mol/L)}^2 = 0.055 \text{ mol/L}$ 、

$0.055 \text{ mol/L} \times 317 \text{ g/mol} \times 0.00225 \text{ L} = 0.039 \text{ g}$ (図 14、表 4)。

ブルーベリー 100 g 中のポリフェノール含有量は、抽出液 20 mL 中の 2.25 mL に含まれるポリフェノールの質量が 30 mg であったことから、 $30 \text{ mg} \times (20 \text{ mL} / 2.25 \text{ mL}) = 2.7 \times 10^2 \text{ mg}$ であると計算される。この値は、文献 5 で紹介されているブルーベリー 100 gあたり 300 mg に近い。

ゲンノショウコの 10 g 中のポリフェノール含有量は、抽出液 30 mL 中の 2.25 mL に含まれるポリフェノールの質量が 39 mg であったことから、 $39 \text{ mg} \times (\text{抽出液 } 30 \text{ mL} / \text{測定液 } 2.25 \text{ mL}) = 5.2 \times 10^2 \text{ mg}$ であると計算される。この値は、文献 6 で紹介されている全草の 5.0%、ゲンノショウコ 10 g あたり 500 mg に近い(表 5)。

表 5 ポリフェノールの含有量

ポリフェノールの含有量	検量線から mg	文献から mg
ブルーベリー	$100 \text{ g} \text{当たり}$	2.7×10^2
ゲンノショウコ	$10 \text{ g} \text{当たり}$	5.2×10^2

4. 結論

- OH 基を2つ持つカテコール、レゾルシノールを使うと Trautz-Schorigin 反応で予想通り、ルミノールによる青色発光が確認された。最大発光強度と含まれる量の2乗とは(少なくとも 0.00010 mol から 0.00050 mol の範囲で)直線関係にあった。
- ベンゼン環に OH 基を 2 個持つポリフェノールでルミノールが発光し、OH 基を 1 個しか持たない化合物では溶液の温度が上昇せず、発光しないことがわかった。
- 食品の中で、チョコレートに含まれるカカオポリフェノールの含有量の 2 乗と最大発光強度とは直線関係にあった。カカオパウダーでは、最大発光強度がチョコレートの場合の約 6 分の1であった。その原因は、カカオパウダーからのポリフェノールの抽出率が低いためだと考えられる。
- ポリフェノールが含まれるブルーベリー、ゲンノショウコなどの食品や薬草でルミノール発光を確認できた。チョコレートで作った検量線を使って、ルミノール発光からポリフェノールの含有量を測定できることがわかった。

5. 今後の展望

ベンゼン環に OH 基を 2 個持つポリフェノールを含む食品は非常に多い(図 15)。コーヒーにはコロロゲン酸が、トマトにはナリンゲニンが含まれている。血液をサラサラにする働きがある玉ねぎの皮にはフラボノイドのケルセチンが含まれている。薬草のローズマリーにはロスマリン酸が含まれている。今後、ルミノールを加えた Trautz-Schorigin 反応でいろいろなポリフェノールの含有量を測定してみたい。

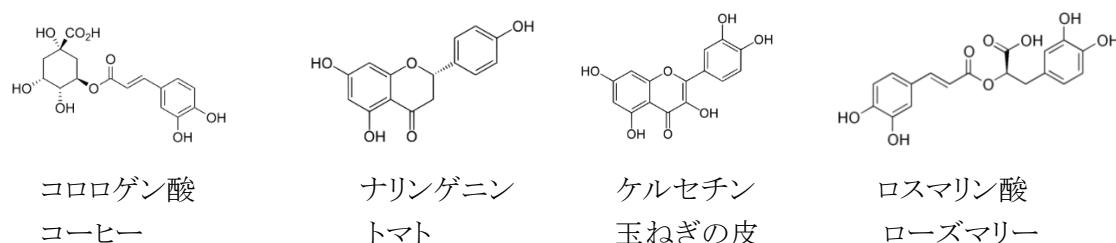


図 15 食品などに含まれている各種のポリフェノール

6. 謝辞

この研究は本校の理科研究部の宇賀田雅生君、黒田透雅君、柄本直太君らが 2025 年に取り組んだ課題研究による。文献 3 に記載した本校の理科研究部の川崎綾真さん、尾崎可和さん、増田優さんらが 2022・2023 年に取り組んだ課題研究を基礎としている。部員らの熱心な研究活動に感謝したい。

7. 参考文献

- 1) Bassam Z. Shakhshiri, "ケミカルデモンストレーション2", 丸善(1997) pp.55
- 2) D. Slawinska and J. Slawinski, *Anal. Chem.*, 1975, 47 (13), 2101-2109.
- 3) 川崎綾真・尾崎可和・増田優、2023 高校グランドコンテスト「一重項酸素の発光を利用した食品中のポリフェノールの簡易測定法の開発」https://s-gracon.jp/xmK3zUY4_wp/wp-content/uploads/2023/10/Program_gracon2023_v2.pdf(2025 年 9 月 2 日閲覧)
- 4) 夏目みどり、化学と生物、2018,56,490-495「カカオポリフェノールの包括的研究」
- 5) ブルーベリーに含まれているポリフェノールの含有量はどれくらい
<https://fruit01.xyz/archives/3780> (2025 年 9 月 2 日閲覧)
- 6) 薬用植物・生薬・薬草・健康茶 げんのしょうこ ゲンノショウコについて
<http://www.yanagidou.co.jp/syouyaku-yakusou-gennosyouko.html> (2025 年 9 月 2 日閲覧)



〈略歴・研究歴〉

2009 年度まで千葉県立の高等学校

2010 年度より市川学園市川高等学校

2018 年度より大阪桐蔭高等学校

光触媒、マイクロプラスチック・マイクロファイバーに関する研究

2022 年度より Trautz-Schorigin 反応の研究

〈勤務校〉 学校名 大阪桐蔭高等学校

住所 大阪府大東市中垣内3-1-1