植物由来ペルオキシダーゼによる色素退色反応の検討

我妻柚香

要旨

過酸化水素水は、酵素によって活性化されることで生成する活性酸素により、色素を退色させることが知られており、この反応は市販の漂白剤にも利用されている。本研究では、過酸化水素水を活性化する酵素としてペルオキシダーゼ（POD）に注目し、POD を含むことが知られている植物抽出液と過酸化水素水を混合することで、色素退色反応が生じるかを検証した。退色対象の色素として、日常的な汚れを想定し、オイスターソース、醤油、墨汁を用いた。また、反応温度を変化させることで、温度条件の違いが退色反応に与える影響についても調べた。結果として、POD には退色作用があることが示唆されたが、抽出液を得る植物、また退色させる色素、反応中の温度によって差があることがわかった。

キーワード：酵素ペルオキシダーゼ、色素退色作用、漂白剤、自然由来

Ⅰ. はじめに

漂白剤は、汚れの色素を化学反応で白く変化させる働きを持つ成分である。漂白剤には、酸化型と還元型の二種類に分けられ、酸化型にも酸素系と塩素系の二種類が含まれている。この三種類の漂白剤のうち、塩素系と還元型の漂白剤は、使用用途、使いやすさ、効果などから日常的な選択用途には適さないことが多く、家庭用洗濯用漂白剤としては酸化型の酸素系漂白剤が一般的に使われている。

以上の理由から、本研究では酸素系漂白剤の主成分である過酸化水素水を用いた研究を行う。衣類に付着する色素のうち、食べこぼしなどに由来するものは植物性色素であり、分子内に多数の共役二重結合を有している。酸化型漂白剤のメカニズムは、酸化剤が汚れの色素から電子を奪うことによって、色素の共役二重結合部分を単結合へと4変化させることによるものである。これにより、HOMO-LUMO ギャップが大きくなることで、可視光を吸収しなくなるため、色素が透明に見える、というものである。

本研究で酸化剤として用いる過酸化水素水は、それ自体に漂白作用は無く、過酸化水素水が活性化して分解していく過程で生じる活性酸素が、強い酸化剤としての働くことで漂白作用を発揮する。市販の漂白剤の成分を見てみると、漂白活性剤が含まれていることからもわかるように、過酸化水素水の活性化には触媒や酵素の働きが重要である。そこで、本研究では、この機能を持つものとして、酸化還元酵素であるペルオキシダーゼ(以下 POD)に着目した。森田(2007)は、西洋ワサビから精製抽出した POD 存在下においてオレンジⅡが酸化型漂白剤を用いた場合の 22 倍の速度で瞬間的に退色されたことを示した。また、POD はダイコンやジャガイモ、ニンジンなどに存在していることが知られている。さらに、佐山ら(2006)の研究によりバナナの皮から POD を抽出することが可能であることが報告されている。一方、藤本ほか(2019)は、大豆非可食部から POD を精製した際、収率が 0.02～0.04%と非常に低く、精製コストや漂白剤としての実用化において大きな課題であることから、未精製 SPO(大豆由来 POD)による色素退色反応を観察した。この研究では、退色させる色素としてオレンジⅠという色素を使用していた。本研究では実生活を想定し、オイスターソースや醤油を退色させることにする。また、衣類に付着した汚れの色素を落とすという目的として、布にこれらの調味料を付着させた状態で実験した。さらに、酵素反応には最適温度が存在することから、室温および約 40℃の環境で退色作用に違いがあるのかも検討した。

Ⅱ. 手法

① ペルオキシダーゼの存在確認

ダイコンやバナナの皮に POD が含めれてい

るのかをグアヤコール法によって調べた。まず、バナナの皮から内側部分を抉り取り、それと純粋を加えて撹拌した。得られた懸濁液を遠心分離によって、上澄みと沈殿物に分離した。次に、試験管を 4 本用意し、それぞれに純水、過酸化水素、グアヤコール溶液を加えたのち、表 1 に示す組み合わせの試料を加えて混合した。混合液の色の変化を観察し、混合液が赤色に変化したら溶液中に POD が含まれていると判断した。

表 1.試験管に追加した溶液

1 本目	2 本目	3 本目	4 本目
なし	バナナ懸濁液の上澄み	バナナ懸濁液の沈殿物	ダイコンおろしの汁

② 退色作用の確認

綿 100%の布を 12 枚用意し、そのうち 6 枚にはオイスターソース、残り 6 枚には醤油をそれぞれ 5 mL ずつ塗布した。これら計 12 枚の布に対し、表 2 に示した各試薬と過酸化水素を同時に添加した。

40 ℃に調整した試薬を調味料塗布布に添加するため、過酸化水素、ダイコンおろし汁、バナナ抽出液の上澄みをそれぞれ別々に加熱し、すべてが 40 ℃に達したことを確認した後、混合して使用した。

表 2.各布に塗布した試薬

条件	調味料	大根おろしの汁(1mL)	バナナの懸濁液［上澄み］(1mL)	温度(℃)
1	オイスターソース	-	-	20
2		●	-	
3		-	●	
4		-	-	40
5		●	-	
6		-	●	
7	醤油	-	-	20
8		●	-	
9		-	●	
10		-	-	40
11		●	-	
12		-	●	

試薬を加え、約 10 分後に観察し、色素退色反応の具合を見た。(実験日の室温は 20.1℃だった)

③ 墨汁の色素を退色

調味料以外の色素は退色可能なのかを調べるために、墨汁を用いて操作②と同様の実験を行った。墨汁は操作②では退色反応が全く認められなかった。そのため、室温条件下で過酸化水素と大根おろしの液の混合液に、墨汁を 5mL 塗布した布を浸して退色作用を観察した。

III. 結果

① ペルオキシダーゼの検出

結果は次の図 1 のようになった。

試験管左から「なし」、「バナナの懸濁液上澄み」、「バナナの懸濁液沈殿物」、「ダイコンおろしの汁」である。

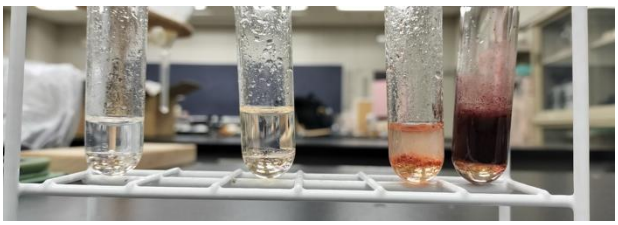


図 1.手法①の結果

これよりダイコンおろしの汁では POD による退色反応が強く見られ、POD 活性が高い可能性が示唆された。一方、バナナの上澄み、沈殿物ともに POD が少ないことが示唆された。

② 色素退色作用の効果の検討

色素の退色の具合は RGB 測定の数値を測定して評価した。色素の退色は布の元の色、つまり白色に近づいていく反応であるため、反応前後の色素の RGB 値を測定することで、色素がどれだけ退色したかを数値化できると考えた。ここでは RGB 値が 0 に近づくほど白色に近いため退色作用が強かったと考えられる。色素を塗布し、過酸化水素水などを加える前の布の RGB 値と、過酸化水素水などを加え 10 分経過した布の RGB 値を同じ場所で測定し比較し、

反応前後の RGB 値の差が大きいほど、退色が進行したとみなした。

結果､バナナは存在する POD が少ないため、上澄みも沈殿物のいずれの場合においても色素の体色は認められなかった。そのため RGB 値は測定しなかった。

一方、大根おろしの汁は退色作用が確認されたので、過酸化水素水などを加える前後の RGB 値の差の絶対値を算出し、表 3 に示す。

表 3 .各布の反応前後の RGB 値の絶対値

	1	2	4	5	7	8	10	11
R	52	55	36	51	-16	-4	-20	3
G	53	69	45	69	-7	3	-13	19
B	53	69	47	78	-6	6	-16	31

※1 行目の数字は表 2 の条件の数字と一致する

(値が負になるのは、布が過酸化水素などで濡れたためであり、色素が濃くなった訳ではない)

表 3 の値は､それぞれの布の色素に関する値より、同じ条件下で過酸化水素水のみを加えた布と過酸化水素水と大根おろしの汁を加えた布の値を比較することで、大根おろしの酵素による退色作用を数値化できる。結果を表 4 に示す。

表 4.RGB 値比較による退色作用の数値化

	2-1	5-4	8-7	11-10
R	3	15	12	23
G	0	24	10	32
B	8	31	12	47

※1 行目の数字は表 2 の条件の数字と一致する
(2-1 は表 3 における条件 2 の RGB 値から条件 1 の RGB 値を引いて算出したものである)

数値が大きいほど RGB 値が大きく変化したことになるため、それだけ退色したことを示す。

③ 墨汁の色素を退色の結果

変化は全く見られなかった。

IV. 考察

ダイコンの抽出液に含まれている POD は､過酸化水素水と反応することで色素退色作用を示すことがわかった。ただし､落とす色素によってその活性は変わり、その色素の分子間の結合の強さに関係すると考えられる。墨汁の色素退色反応の確認の実験において、墨汁が全く退色されなかったのは、墨汁を構成する炭素原子は非常に安定した結合をもっているため、この実験での反応だけでは、活性酸素が酸化剤として働き電子を奪っても、墨汁の色素の強固な結合を断つことができないため、墨汁の退色が起こらなかったと考えた。一方､オイスターソースと醤油に関しては、それを塗布した布の水吸収性の違いが関係していると考えた。実験の結果より､醤油を退色させる能力の方が､オイスターソースを退色させる能力より高いことがわかった。色素を退色させる反応は､酸化剤によって電子が奪われることによって発生するため、酸化剤溶液が布に浸透するほど退色作用が強く働き色が薄くなるはずである。オイスターソースは糖類やペプチドが繊維表面をコーティングし、水分が布の内部に入るのを妨げた可能性がある。一方で、醤油は水分が多いため布の親水基と直接相互作用をしやすいため､布が水を吸収しやすくなる。そのため、醤油を塗布した布の方がオイスターソースを塗布した布よりも酸化剤溶液の吸収量が多いため､電子がその分多く奪われ､色素の二重結合が単結合となる割合が高く部分も多くなり、色素がより退色したと考えた。

また、調味料を用いて酸化剤溶液の温度を変えた実験の結果から、約 40℃の酸化剤を用いた方が反応前後の RGB 値の絶対値の大きさが大きくなった。そのため、約 40℃の酸化剤の方が、室温の環境より色素を退色させる能力が高いことが示唆された。これは酵素が最適温度により活性化されたことや、高温により運動エネルギーが高くなった粒子によって、化学反応が促進されたことが原因として考えられた。

V. 結論

植物の抽出液にも POD が存在し、過酸化水素水と反応させることで、色素を退色させることができることが明らかになった。本研究ではダイコンとバナナの皮から抽出液を得たが、ダイコンの方がバナナの皮よりもはるかに POD を含んでおり、ダイコンの色素退色反応が確認できたことから、POD を多量に含む植物でないと、色素退色反応が起こらないことがわかった。また退色させる色素は、墨汁のような色素を構成する粒子の結合が強すぎるものは、全く退色されなかったが、オイスターソースや醤油といった一般的に付着する調味料は退色させることができた。しかし、その調味料の性質によっても多少退色作用に差があることも明らかになった。さらに、反応させる環境下の温度が約 40℃にすると、色素退色が促進されることもわかった。

今後の展望として、反応によって生成された活性酸素が空気中に放出されることで、色素退色能力が薄まってしまうのではと懸念されたため、反応中の布にラップをかけることで、活性酸素を布上に閉じ込めることで、ラップをしてない状況と比べ、退色能力に差があるのかを調べてみたい。

謝辞

本研究を進めるにあたり、貴重な助言を頂いた

島田先生に深く感謝申し上げます。

文　献

佐山三千雄・中川麻美・赤尾光昭・近藤隆・森正明(2006)：バナナの皮に含まれるペルオキシダーゼの精製と生化学的特性.(ジャーナル名不明)

藤本明弘・藤倉治菜・森田みゆき(2019)：大豆非可食部から抽出した未精製ペルオキシダーゼによる色素退色反応.日本家政学会誌,Vol.70,No.6,339-345

森田みゆき(2007)：酵素を用いた新規漂白剤―ペルオキシダーゼを触媒とする色素の退色―. SEN'I GAKKAISHI(繊維と工業)，vol.63，7-11.