

学位論文題名

ペルオキシダーゼを触媒とするアゾ色素の
移染防止に関する研究

学位論文内容の要旨

洗浄関連産業において、洗浄およびすすぎの過程で染色布から溶出した色素がほかの繊維に移染するのを防止する目的で、多くの漂白剤が開発されてきた。現在、移染防止配合剤として酸化漂白剤である過炭酸ナトリウムが洗浄剤に混合されている。しかしながら、使用条件が高温、高アルカリであり、繊維の品質への影響およびエネルギーコストに問題があるといわれている。そこで、温和な条件で効率良く色素の移染を防止できる漂白剤の開発が望まれている。

近年、ペルオキシダーゼ(POD)を触媒とする過酸化水素による食用色素の分解が注目され、衣料用色素であるアゾ色素の漂白剤への応用が試みられている。PODは鉄を含むヘムを活性部位とする酵素であるが、第一基質として過酸化水素が作用し、ついで、第二基質としてアゾ色素がPODに作用することにより、アゾ色素の分解が進行すると考えられている。しかしながら、POD-過酸化水素漂白剤系をアゾ色素の移染防止に応用する場合、より効果的な漂白系を構築するために必要な速度論的研究ならびに退色反応機構の解明がなされていないのが現状である。また、アゾ色素の化学構造により退色速度が異なることが知られているが、その原因の解明と退色不活性なアゾ色素に対する漂白法は開発されていないのが現状である。さらに、本酵素漂白系を実用化する場合、過酸化水素を洗剤に配合することは困難であることから、過酸化水素の供給方法を開発する必要がある。

このような観点から本論文では、温和な条件で効率良くアゾ色素の移染を防止する酵素漂白系を構築するため、POD-過酸化水素漂白系によるアゾ色素の退色反応の速度論的研究および退色機構を検討している。その結果、アゾ色素がラジカル生成を経て退色することを見出し、この現象に着目して退色不活性なアゾ色素の退色にも対応できる活性化剤を開発している。また、グルコースオキシダーゼ(GOD)とグルコースとの酵素反応を利用する過酸化水素の供給方法を提案している。さらに、本酵素漂白系は中性かつ室温条件で種々の繊維の白布に対してオレンジIIの移染が防止でき、また、いずれの染色布に対しても変退色を起こさないことから実用的にも応用し得ることを明らかにしている。本論文はこれらの経緯をまとめたもので、全8章から構成されている。

第1章では、本研究の目的と意義を述べるとともに、従来の酸化漂白剤による色素の漂白法について、また、POD-過酸化水素系を用いる漂白剤に関するこれまでの研究について概説している。

第2章では、本研究で使用する分析法のうち、より簡便な分析操作が望まれる物質を対象にして分析法の開発を試みている。分析対象物質としてアゾ色素の退色機構の検討に用いるシステインおよび洗浄剤の主成分である陰イオン界面活性剤について新たな測定原理に基づく吸光度法を提案している。

第3章では、アゾ色素にオレンジII、また、PODには西洋ワサビ由来のPOD(HRP)を用いて、

オレンジIIの退色反応の速度論を検討し、退色反応が擬一次反応で進行することを明らかにしている。また、室温、弱アルカリ条件で、HRP-過酸化水素系のオレンジIIの退色速度が過炭酸ナトリウム漂白系より約20倍大きいことを確認している。また、由来の異なるPODを用いてオレンジIIの退色反応を検討し、退色活性および試薬コストを考慮すると、HRPが本酵素漂白系において最適なPODであることを述べている。さらに、HRPを用いた場合のオレンジIIの最適退色条件を提案している。

第4章では、HRP-過酸化水素漂白系による種々のアゾ色素の退色反応を検討し、退色速度がアゾ色素によって大きく異なることを見出している。つぎに、アゾ色素により退色速度が異なる原因を明らかにするため、アゾ色素の退色機構をオレンジIIを用いて検討している。その結果、オレンジIIはラジカル生成反応を経由して退色することを明らかにしている。また、オレンジIIの退色過程におけるHRPの吸収スペクトルの測定から、オレンジIIが退色したあともHRPサイクルが継続していることを見出し、オレンジIIの退色生成物もHRPの基質として作用する反応機構を提案している。さらに、アゾ色素の退色速度がアゾ色素の立体構造に依存することを明らかにしている。

第5章では、HRP-過酸化水素漂白系に対し退色不活性なアゾ色素を対象にして、退色速度を増大させる活性化剤を検討している。アゾ色素の退色がラジカル生成を経由して進行することに着目し、アゾ色素より早い速度でHRP酵素サイクルからラジカルを生成するp-ヨードフェノールをアゾ色素と共存させることにより、アゾ色素の退色速度が著しく増大することを見出している。

第6章では、グルコースとGODとの反応から生成する過酸化水素をPODの酸化剤として供給する方法を検討している。HRP-過酸化水素系とGOD-グルコース系のそれぞれの最適反応条件を検討し、2つの酵素反応系の最適pHが大きく異なることを見出している。そこで、2つの酵素系をカップリングしたときのオレンジIIの最適退色反応条件を検討し、最適条件において十分な速度でオレンジIIを退色できることを明らかにしている。

第7章では、本論文で新たに構築したHRP-過酸化水素漂白系を用いて、実際の洗浄過程におけるオレンジIIの移染防止を試みている。最初に、オレンジIIの退色速度に及ぼす洗剤成分の影響を検討し、その結果、界面活性剤およびビルダーが共存するとオレンジIIの退色速度は減少するが、洗剤成分が共存してもナイロン布へのオレンジIIの移染は十分に防止できることを明らかにしている。また、羊毛、絹、ナイロンなどを用いて本酵素漂白系の繊維への影響を検討している。その結果、本酵素系による漂白処理により、いずれの繊維の白布に対してもオレンジIIの移染は防止でき、また、いずれの染色布に対しても変退色が起こらないことを明らかにしている。さらに、本酵素漂白系で処理したナイロン糸の引っ張り特性試験および切断面の観察から、本酵素漂白系はナイロン糸の力学特性に影響を与えないことを指摘し、HRP-過酸化水素漂白系の有用性を論じている。

第8章では、以上の結果を総括している。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 渡 辺 寛 人
副 査 教 授 高 井 光 男
副 査 教 授 木 下 晋 一
副 査 助 教 授 上 館 民 夫

学位論文題名

ペルオキシダーゼを触媒とするアゾ色素の 移染防止に関する研究

衣料に付着して、洗剤では落ちにくい着色物質を分解・無色化して除去する目的や洗淨とすすぎの過程で、色柄衣料から溶出する色素が他の衣料に移染するのを防止する目的で、漂白剤が使用される。近年、衣料の漂白に対する要求は高度化し、特に、色素の移染防止が重要な課題となっている。このような目的に、従来、さらし粉などの塩素系漂白剤が使用されてきたが、色柄衣料も脱色されるといった使用上の制約や、酸性下で塩素ガスを発生するなどの安全性の問題のため、最近では、過酸化水素に代表される酸素系漂白剤が利用されるようになってきている。過酸化水素は塩素系漂白剤に比べて漂白力が穏やかなため、炭酸ナトリウムの過酸化水素化物（過炭酸ナトリウム、 $2\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}_2$ ）として洗剤に配合して、洗淨水を強いアルカリ性に保ち、また60℃前後の温水中での使用を推奨するなど、漂白力を高める工夫がなされている。しかし、このような条件では衣料繊維が損傷を受け易く、このため、通常の穏和な洗濯条件でも効率的に機能する新規漂白剤が待望されている。

本論文はこのような観点から、ペルオキシダーゼを触媒とすると、アゾ色素が室温並びに弱アルカリ性の穏和な条件で、過酸化水素により効率的に酸化分解されることに着目し、この酵素反応を利用して、家庭においても安全に使用し得る漂白剤の開発を目的としたもので、主な成果は次の点に要約される。

(1) アゾ色素の酸化反応機構の検討に必要なシステインの分析法と洗剤と漂白剤の併用効果の検討に必要な陰イオン界面活性剤の分析法について、新たな測定原理に基づく方法を提案し、それらの方法を確立した。

(2) アゾ色素としてオレンジII、酵素として西洋わさび由来のペルオキシダーゼ(HRP)を用いて、過酸化水素によるオレンジIIの酸化反応を検討し、退色反応が擬一次反応で進むことを明らかにするとともに、室温、弱アルカリ性の条件で、HRP～過酸化水素漂白系におけるオレンジIIの退色速度が過炭酸ナトリウム漂白系より、20倍大きいことを見いだした。また、同条件で由来の異なるペルオキシダーゼ間の活性を比較検討し、HRPが最も優れていることを見だし、またHRPの最適使用条件を確立した。

(3) システインのようなラジカル消去剤がオレンジIIの退色反応を抑制することを

見だし、オレンジIIがラジカルを経由して分解されることを明らかにした。さらに、反応過程におけるHRPの吸収スペクトルを測定して、オレンジIIの退色後も、HRPの酵素触媒サイクルが継続していることを見だし、オレンジIIのみならず、その分解生成物もHRPの基質として作用する反応機構を提案した。また、アゾ色素の退色速度がアゾ色素の立体構造により大きく異なることを見だした。

(4) 難分解性色素としてオレンジGを取り上げ、その退色速度を増大させる活性化剤を検討し、色素の退色がラジカルを経由して進行することに着目して、HRPの触媒サイクルにおいて、アゾ色素よりも早い速度でラジカルを生成するp-ヨードフェノールを共存させると、難分解性のオレンジGも分解できることを見だし、活性化剤の有効性を実証した。

(5) 家庭用漂白剤としての安全性の見地から過酸化水素の直接使用を避けるため、グルコースオキシダーゼ(GOD)でグルコースを酸化して過酸化水素を生成する酵素反応系とHRPの酵素反応系との組み合わせを着想し、そのカップリング条件を検討して、オレンジIIを十分な速度で酸化分解し得る最適条件を確立し、二つの酵素反応の組み合わせの有効性を検証した。

(6) 洗剤中の主成分である界面活性剤とビルダーが共存する条件で、HRP～過酸化水素漂白法の効果を検証し、ナイロン、羊毛、絹などの白布へのオレンジIIの移染が防止できること、染色布の変退色も生じないこと、繊維の力学的特性にも全く影響を与えないことを確かめて、新規移染防止用漂白剤の有効性を実証した。

これを要するに、著者は、アゾ色素の酵素酸化反応を基礎的に検討して、色素の移染防止に効果的な新規漂白剤を提案したものであり、洗浄技術と酵素利用技術の進歩に貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士(工学)の学位を授与される資格あるものと認める。