

公開講座に使えるテーマ (5)

— 「洗剤酵素の仕事を見る」 —

胸組 虎胤*1

Experimental Themes for Extension Lectures(5)

— “To Visualize the Works of Detergent Enzymes” —

Toratane MUNEGUMI

Enzymes utilizable for teaching devices may be divided into “Commercial enzymes”, “Extracted enzymes”, and “Added enzymes”. Activity of Added enzymes in detergents was determined to lead new themes of extension lectures. A dish detergent and automatic dish detergents mixed with starch gave a positive response (brown precipitate formation) for Benedict reagent, respectively. However, a laundry detergent gave a negative response for the same reagent. A synthesized specific substrate of α -amylase was also used for activity-determination to give yellow color and visible light absorption at 400 nm in case of a dish detergent and two automatic dish detergents. Improvement of the reaction conditions and substrate selection will make these reactions be useful to visualize the works of the added enzymes in extension lectures.

KEYWORDS: teaching device, detergent enzymes, starch, extension lectures

1. はじめに

酵素は物質生産、薬品、生体物質の研究用など様々な場面で使われており、利用される領域は主に化学と生物にわたる。その点、化学と生物を結ぶ科目複合的な教材として有用である。酵素は物

質を変化させるという化学的側面で見ることができるとともに、生体由来であるという生物学的側面で捉えることもできる。¹⁾

酵素はタンパク質で構成される生体触媒であり、近年多くの生活用品に使われている。たとえば、洗剤、スキンケア用品、歯磨き等に添加されていることが、それらの製品表示からわかる。歯磨

*1 物質工学科(Dept. of Materials Chemistry and Bioengineering), E-mail: munegumi@oyama-ct.ac.jp

きに含まれている酵素（デキストラナーゼ）については、歯垢の成分であるデキストランの α -(1→6)結合を切断することから、生成するイソマルトースの還元性をフェーリング試薬で調べられることはすでに報告した。²⁾ 本研究においては、特に洗濯用洗剤に注目し、添加されている酵素の働きを可視化する試みを行った。

2. 洗剤に添加されている酵素

ここで、洗剤を洗濯用、食器洗い用、食器洗い機専用に分類し、まず、洗濯用洗剤の酵素について見ていく。

2. 1 洗濯用洗剤と添加された酵素の歴史^{3, 4)}

初めて、洗濯用洗剤に酵素が用いられたのは「1913年ドイツであり、O. Röhm が動物の脚蔵の乾燥品を洗剤とする特許を出願し、Rohm & Haas社から発売したことが始めとされる。」⁴⁾ 20世紀後半では、1963年にオランダでプロテアーゼを含む合成洗剤が発売された。日本国内では1968年に、商品名「モノゲンオール」（第一工業製薬）、「バリ」（日本油脂）、「ニューアデカソフト」（旭電化）が発売された。1970年に花王が発売した「スーパーザブコース」には花王が独自開発したアルカラゼ（アルカリプロテアーゼ）が含まれていた。1973年花王はさらに、アミラーゼを配合した「ザブXK」を発売したが、1971年から続いていた酵素の安全性に対する消費者の「疑念を拭いきれず」³⁾、酵素入り洗剤から一時撤退した。

また、1970年代には洗剤の箱を大きくして、低廉化とする戦略がとられたが、それは実質的にメーカーの収益性を低下させた。これを脱するため、洗剤は小型濃縮型の方向へ進んだ。しかし、消費者には洗剤を計量する習慣がなく、濃縮洗剤を使いすぎるため、かえって割高感を抱かせてしまった。このため、各社とも小型濃縮洗剤から撤退せざるを得なかった。³⁾

さらに、洗剤に使われていたリンを含む界面活性剤が赤潮の原因とされたことで、各社ともリンを含まない洗剤の開発を行ったが、結果として洗浄力の低下を招くこととなり、再び洗浄力向上のため酵素が使用されることとなった。

2. 2 洗濯用洗剤に含まれる成分⁵⁾

日本石鹼洗剤工業会によれば、洗濯用洗剤を構成

する成分は、主剤、補助剤、その他の成分である。主剤は界面活性剤であり、LAS（直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩）等のイオン性のものとAE（ポリオキシエチレンアルキルエーテル）等の非イオン性のものがある。イオン性の界面活性剤は粉末状、液体状の洗剤に使われ、非イオン性の洗剤は特に液体状の洗剤に含まれる。

補助剤には水軟化剤やアルカリ剤が使用され、その他の成分として、漂白剤、蛍光増白剤、そして、酵素が使用されている。主要メーカー3社で販売されている洗剤の成分を表1に示す。

表1 主要なメーカー3社の洗剤に含まれる成分

メーカー	状態	商品名	液性	主要成分	酵素	添加物
花王	粉末	アタック高活性バイオEX	弱アルカリ性	界面活性剤	アルカリセルラーゼ	蛍光剤
	粉末	アタックALLin	弱アルカリ性	界面活性剤	アルカリセルラーゼ	漂白剤、蛍光剤、柔軟剤
	液体	アタック高活性バイオEXジェル	弱アルカリ性	界面活性剤	アルカリセルラーゼ	蛍光剤
	液体	アタックNEO	弱アルカリ性	74% (高濃アルコール系、直アルキルベンゼン系、脂肪族系)	アルカリセルラーゼ	—
	液体	アタックシュート泡スプレー	弱アルカリ性	界面活性剤	—	—
	液体	アタックポイント洗い	弱アルカリ性	界面活性剤	—	—
	粉末	ニュービーズ	弱アルカリ性	界面活性剤	アルカリセルラーゼ	漂白剤
	粉末	ふんわりニュービーズ	弱アルカリ性	界面活性剤	アルカリセルラーゼ	漂白剤、柔軟剤
	液体	ふんわりニュービーズジェル	弱アルカリ性	界面活性剤	アルカリセルラーゼ	漂白剤、柔軟剤
	液体	エマール	中性	18%ポリオキシエチレンアルキルエーテル	—	色あせ防止剤
ライオン	粉末	トップ	弱アルカリ性	アルファスルホ脂肪酸エステル塩	アミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ	蛍光増白剤
	粉末	部屋干しトップ	弱アルカリ性	アルファスルホ脂肪酸エステル塩	アミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ	漂白剤、蛍光増白剤
	粉末	無リントップ	弱アルカリ性	アルファスルホ脂肪酸エステル塩	アミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ	蛍光増白剤
	液体	液体部屋干しトップ	弱アルカリ性	アルファスルホ脂肪酸エステル塩	アミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ	抗菌剤
	液体	トップNAOX	中性	55%ポリオキシメチレン脂肪酸メチルエステル	アミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ	—
	液体	トップクリアキッド	弱アルカリ性	界面活性剤	アミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ	—
	粉末	ブルーダイヤ	弱アルカリ性	界面活性剤	アミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ	漂白剤、蛍光増白剤
	液体	香りつづトップ	中性	ポリオキシエチレンエーテル	—	柔軟剤
	液体	アクロン	中性	22%ポリオキシエチレンアルキルエーテル	—	柔軟剤
	液体	アクリル	弱アルカリ性	界面活性剤	酵素	緑茶成分
P&G	粉末	緑茶成分入りアリエール	弱アルカリ性	界面活性剤	酵素	緑茶成分
	液体	アリエール頑固汚れ用	弱アルカリ性	界面活性剤	酵素	漂白剤
	液体	アリエールオンパワードジェルプラス爽快なフレッシュグリーン香り	弱アルカリ性	32% (ポリオキシエチレンアルキルエーテル+直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩)	酵素	蛍光増白剤
	液体	さらさ	弱アルカリ性	界面活性剤	酵素	クエン酸
	粉末	ボールド	弱アルカリ性	界面活性剤	酵素	柔軟剤
	液体	香り長続きボールド	弱アルカリ性	界面活性剤	酵素	柔軟剤

2. 3 洗濯用洗剤に使われる酵素の種類

酵素の使用目的は、①汚れを洗い落とす助けをすることであるが、洗濯用洗剤については、②古くなって黄ばんできた繊維の黄ばみの原因を取り除くために使われることもある。

①については、汚れの原因である油分、タンパク質、糖質などに分類され、それぞれを分解する代表的な酵素には、アミラーゼ（デンプンを加水分解する）、プロテアーゼ（タンパク質を加水分解する）、リパーゼ（油脂エステルを加水分解する）等がある（表 1、2）

表 2 洗剤に含まれる酵素の種類

酵素名	酵素EC番号	反応基質 (切断される結合)	生成物
リパーゼ	3.1	脂肪酸エステル (脂肪酸エステル結合)	脂肪酸+アルコール
プロテアーゼ	3.4	タンパク質 (ペプチド結合)	ペプチド、アミノ酸
アミラーゼ	3.2	デンプン ($\alpha(1\rightarrow4)$, $\alpha(1\rightarrow6)$ 結合)	オリゴ糖
セルラーゼ	3.2	セルロース ($\beta(1\rightarrow4)$ 結合)	オリゴ糖 (セロビオース)

また、②については、たとえばセルラーゼ（表 2）が添加され、セルロース系繊維の黄ばみの原因である繊維の先端の広がりや乱れた箇所を加水分解して、そこに取り込まれた汚れ成分とともに繊維から取り除き、元の整った形態の繊維を復活させている。この働きは、「繊維分子の乱れた部分（非結晶）に作用して汚れを繊維から離脱しやすくするものであることが分かってきた」。³⁾ 「そのため、従来の洗剤やプロテアーゼなどの酵素では入り込めないような繊維内部の汚れにも作用することが明らかとなった。」³⁾

2. 4 食器用・食器洗い機専用洗剤の酵素

食器用洗剤や食器洗い機用洗剤に使用されている酵素は、食器に付着した食品成分を分解する酵素であり、デンプン質汚れにはアミラーゼ、タンパク質汚れにはプロテアーゼ、油汚れにはリパー

ゼが使用されている。この点では洗濯洗剤と共通している。しかし、繊維に直接作用して汚れを落とすようなセルラーゼは必要がない。

また、酵素以外についてであるが、食器洗い機用洗剤では、泡が立ちにくいように界面活性剤の含有比率が 2-3%に抑えられていることが特徴である。

3. 洗剤とアミラーゼ⁶⁾

3. 1 アミラーゼの化学反応

本研究では、洗剤に含まれるデンプン分解酵素に注目した。まず、洗剤（「トップ」）に含まれるステインザイム（Steinzyne: アミラーゼの一種との記述がある）⁷⁾の働きに注目した。洗剤の記述には「がんこな食べこぼし汚れを分解」と記述されている。アミラーゼ（表 3）の化学反応について述べ、その反応基質となるデンプンがどのような「食べこぼし」からきているか述べる。

表 3 アミラーゼの種類

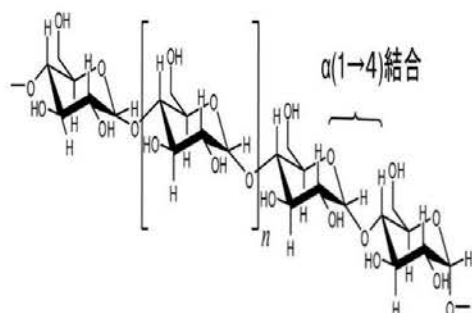
酵素名	酵素EC番号	反応基質 (切断される結合)	生成物
α アミラーゼ	3.2.1.1	($\alpha(1\rightarrow4)$ 結合)	α マルトース マルトオリゴ糖
β アミラーゼ	3.2.1.2	($\alpha(1\rightarrow4)$ 結合)	β マルトース
グルコアミラーゼ (1,4- α -グルコニダーゼ)	3.2.1.3	($\alpha(1\rightarrow4)$ 結合)	α グルコース
フルラーゼ	3.2.1.41	($\alpha(1\rightarrow6)$ 結合)	デキストリン
イソアミラーゼ	3.2.1.68	デキストラン デンプン、グリコーゲン、アミロース、デキストラン ($\alpha(1\rightarrow6)$ 結合)	イソマルトース

アミラーゼはデンプンを加水分解する酵素として知られているが、その基質特異性によって現在多数が知られている。まず、デンプンは $\alpha(1\rightarrow4)$ 結合により直鎖状となっているアミロースと $\alpha(1\rightarrow4)$ 結合と $\alpha(1\rightarrow6)$ 結合をともに含む分枝状のアミロペクチンという 2 種類の構造体の混合物

である(図1)。

デンプンのアミロペクチン部分は分枝構造を多く含み、高分子であるほど水に溶解しにくい性質をもつため、この分枝構造を作っている箇所を加水分解し、低分子化を行うことによって水溶性を増加させることができると考えられる。そのため、デンプンを工業的に利用するためには不溶性のデンプンをまず、可溶化する段階からその加工プロセスが開始される。

(a) アミロース



(b) アミロペクチン

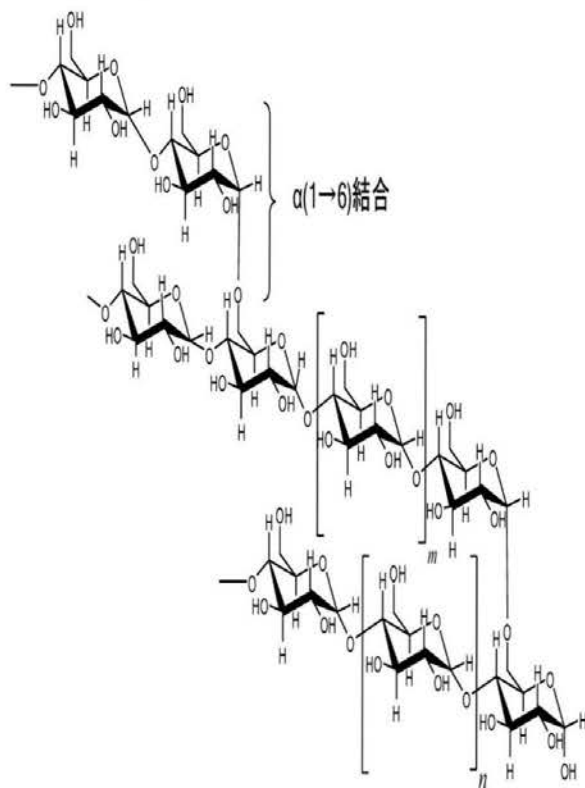
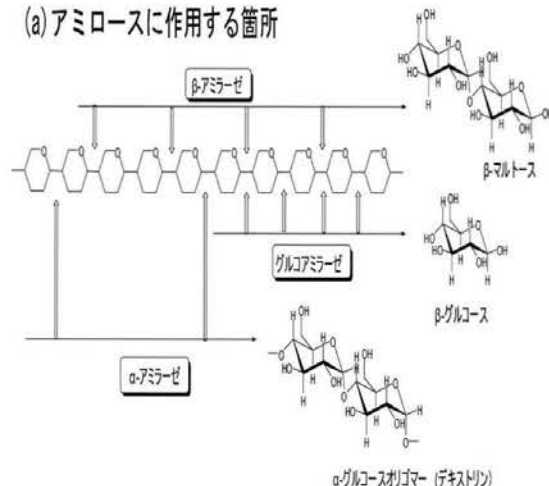


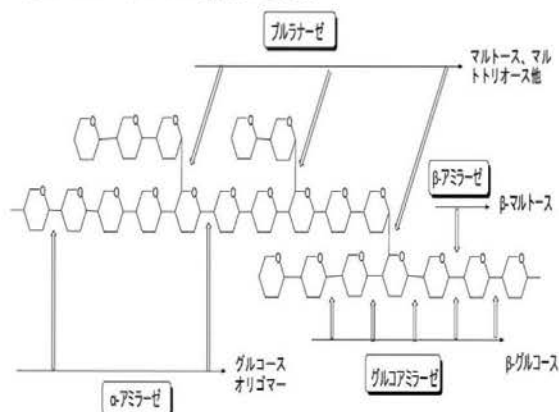
図1 デンプンの構造

アミラーゼは α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、プルラーゼ、イソアミラーゼ等に分類される(表3)。これは酵素がデンプンのどの箇所に作用するかによる(図2)。

(a) アミロースに作用する箇所



(b) アミロペクチンに作用する箇所



* 化学構造の省略

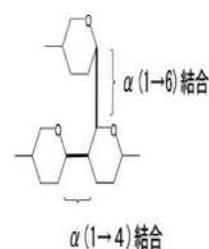


図2 各種アミラーゼの作用箇所

3. 2 デンプン製食品とアミラーゼ

市販されている主なデンプン製食品とその原料を表4に示す。とうもろこし、米、ジャガイモ、葛が主原料であり、片栗粉として市販されているデンプンは実は片栗粉が原料ではなく、ジャガイモデンプンが原料であることがわかる。

これらのうち、米のうるちはアミロースを

15-20%含み、もちはアミロースを含まない。ジャガイモ、トモロコシデンプンはそれぞれ25.50%のアミロース、甘藷（サツマイモ）デンプンは20%含む。^③

これらのデンプン食品に対しては、表3のアミラーゼはすべて作用可能であるが、プルランナーゼとイソアミラーゼはアミロペクチン成分に対してのみ作用する。おそらく、デンプン製食品の食べこぼしに一般的に作用させることを考えると、 α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼが適しているであろう。これらは、アミロースとアミロペクチンの両方に作用するからである。

表4 市販されているデンプン製食品と原材料

デンプン名	デンプン含量	タンパク質含量	脂質含量	その他の成分	原材料
上新粉	78.9	6.4	0.9	0.602	水稻うるち米
白玉粉	80.2	7	0.8	0.804	水稻もち米
道明寺	79.3	8.3	0.9	0.002	水稻もち米
コーンスターチ	86.6	0.3	0.7	0.207	とうもろこし
片栗粉	82.8	0	0	0.305	ジャガイモデンプン
わらび餅粉	82.2	0.1	0.2	0.0011	本葛5%、甘藷デンプン95%
本吉野葛	85.6	0.2	0.2	0.002	葛粉

*:数値は100gあたりのグラム数

4. 洗剤酵素のデンプン加水分解実験

4. 1 α -アミラーゼの活性試験法⁸⁻¹¹⁾

洗剤トップに含まれているのは、商品名「ステインザイム (Steinzyne)」⁷⁾であり、 α -アミラーゼに分類される酵素である。 α -アミラーゼが働いたことを確認できる方法は、①デンプンが低分子化されて、螺旋構造を持つ箇所が減少したことを確認する方法、②分解によってマルトースやそのオリゴマーが生成したことを確認する方法（還元性が生じたことを確認するなど）に大別できる。

(1) ヨウ素デンプン反応

この方法はヨウ素ヨウ化カリウム溶液をデンプン溶液に加えると青紫色を呈する反応である。これはヨウ素がデンプンの螺旋構造に取り込まれて発色すると考えられている。デンプンが加水分解されて、螺旋構造が失われるとこの反応が陰性となる。また、以下のとおり試薬を調整した。ヨウ素 0.3 g とヨウ化カリウム 1.0 g を水に溶解させ 250mL の溶液とした。

(2) フェーリング反応

この反応は還元糖やアルデヒド等の還元性を持つ物質が2価の銅を還元して一価の銅からなる酸化銅(I) (Cu_2O) の赤褐色沈殿を生じさせる反応である。フェーリング試薬の調整法を示す。

A 液：硫酸銅水溶液

硫酸銅五水和物 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 6.9 g を水に溶解させて 100mL とした水溶液。

B 液：酒石酸ナトリウムカリウム (ロッセル塩)

34.6g と水酸化ナトリウム 10g を水に溶解させて、100mL の水溶液としたもの。

A 液と B 液の等容積 (1mL ずつ) を使用直前に混合する。この溶液に試料を加えて 100℃で加熱する。

(3) ベネディクト試薬

フェーリング試薬と同様で、還元作用のある糖によって、2価の銅が還元されて1価となり、 Cu_2O の褐色沈殿を生成する反応である。

無水炭酸ナトリウム 10g とクエン酸ナトリウム 17.3g に 80mL の水を加え、超音波洗浄器で 1～2 分間超音波を照射し、ガラス棒で攪拌して溶解させる。溶解には温水を用いてもよい。

硫酸銅(II)五水和物 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 1.73g を水 10mL に溶解させる。

上記二つの溶液を混合しながらかき混ぜる。これに水を加えて 100mL とする。

この溶液 1mL に還元糖を含む溶液 1mL を加え、100℃で数分間加熱すると、褐色沈殿が生成する。

(4) 3,5-ジニトロサリチル酸法^{10,11)}

3,5-ジニトロサリチル酸が還元糖によって還元されて、3-アミノ-5-ニトロサリチル酸になることを利用し、540nm の可視光吸収の測定によって定量するものである (図3)。

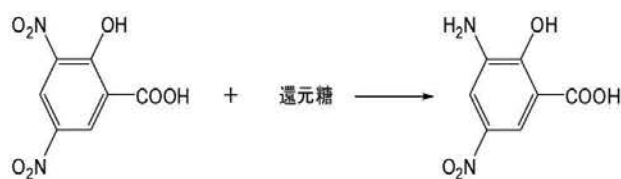


図3 3,5-ジニトロサリチル酸法の発色

(5) 尿検査試験紙を利用した方法

尿に含まれる成分の分析用試験紙が市販されている。分析する成分別に試験紙が調整されており、たとえば、タンパク質の分析用¹²⁾、グルコースの分析用、または、複数の成分を一枚の試験紙で分析できるものなどがある。グルコースの分析法では試験紙に塗られたグルコースオキシダーゼがグルコースを酸化して生成する過酸化水素がベンジジン誘導体と反応して、酸化型ベンジジンを生じて発色することを利用している (図4)。

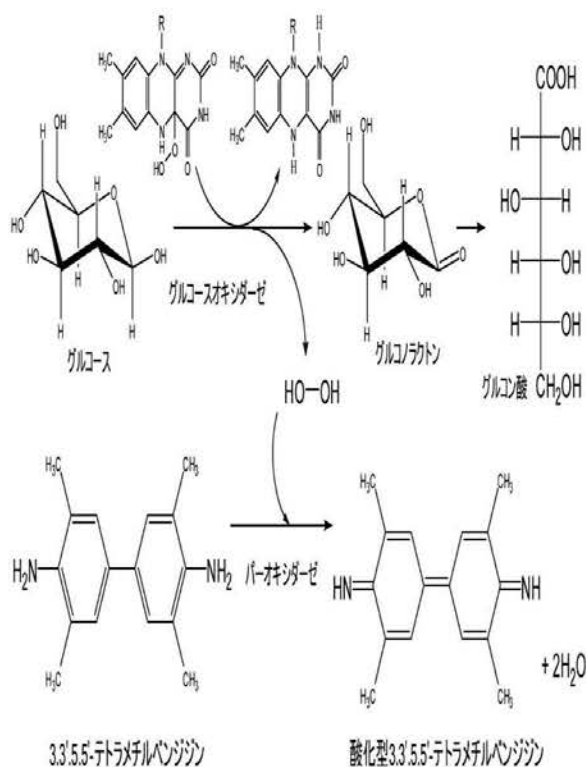
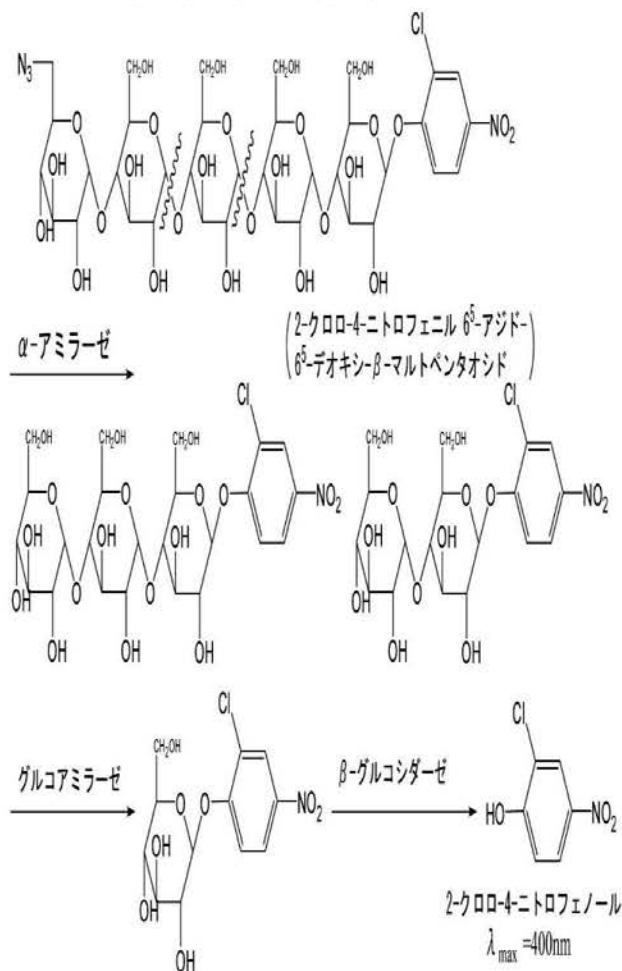


図4 ウロペーパー上でのグルコースの検出

(6) 合成反応基質の分解を見る方法

キッコーマン製の α -アミラーゼ活性測定試薬は図5に示すように、まず、グルコース5量体の

骨格をもつ合成酵素を α -アミラーゼが加水分解して2量体および3量体の中間生成物を生成させる。次に、これらの中間性生物を試薬中のグルコアミラーゼおよび β -グルコシダーゼが加水分解することによって生成した2-クロロ4-ニトロフェノール (CNP) の発色を測定する。

図5 α -アミラーゼ活性測定の原理

4. 2 洗剤によるデンプンの加水分解実験

以下に、今回試験した洗剤中の酵素のデンプン加水分解作用を見るために試行した実験について記述する。

(1) ヨウ素デンプン反応の利用の検討

上新粉 1.5g をビーカーに入れ、これに 40℃程度の温水 3mL を加えて、スプーンでよく混ぜる。これを容器ごと沸騰水上で3分間加熱する。粘性が減って流動性が増したら、小さいスプーンで半分程度ずつとって 3mL のパイアルビン3本に入れる。これらに温水 1mL ずつを加えてよく振

る。さらに、1本目に1mLの水、2本目にトップ水溶液（洗剤トップ0.075gを含む100mLの溶液）を1mL加え、3本目にエマル水溶液（洗剤0.067mLを含む50mL溶液）を1mL加えてよく振った。

3本とも最初は深青色を呈するが、洗剤水溶液を加えたものでは、脱色が見られた。特に、2本目では20分で完全に脱色した。3本目も1時間後には完全に脱色した。

これらの結果からは、脱色の原因がトップに含まれる酵素によってデンプンが加水分解されたことであるとは必ずしもいえない。なぜならば、酵素を含まないエマルを用いても脱色が観察されたからである。これらの脱色は界面活性剤によるものであるとも考えられる。

したがって、ヨウ素デンプン反応による洗剤酵素のデンプン分解を正しく可視化することはこのままでは困難であることがわかった。界面活性剤の影響を排除して、洗剤中の酵素のみによる反応を観察するにはさらに工夫が必要である。

（２）ウロペーパーによるグルコース検出

各デンプン製品0.5gに、水またはトップ水溶液2mLを加えて、ウロペーパー（栄研化学のウロペーパーⅢ‘栄研’のGを使用）で一定時間ごとにグルコースの検出試験を行ったところ、タンパク質成分を含む米デンプン製品（上新粉、白玉粉、道明寺粉）は、水、トップ溶液いずれを加えた場合でも、グルコース陽性となった。しかも、その検出量は時間とともに増加して、1日後には250mg/dL以上となった。この結果は、グルコースの溶解度は非常に高いので、製品にグルコースが溶解していたと見るよりも、徐々にグルコースが生成しているようであった。これは、タンパク質成分として、デンプンからグルコースを生成する酵素（グルコアミラーゼなど）が働いたためではないかと考えられる。タンパク質成分には胚芽成分が含まれており、このような酵素が存在したのであろう。しかし、他のデンプン製品ではウロペーパーによるグルコースの検出はされなかった。これらの結果はベネディクト試薬の結果とともに表5に示す。

表5 デンプンの種類別の反応結果

デンプン製品の種類	原材料	ウロペーパー (グルコースの存在確認)		ベネディクト試薬 (還元糖の存在確認)						
		水 ^{a)} (室温)	トップ水溶液 ^{b)} (室温)	水 ^{c)} (室温)	トップ粉末 ^{d)} (室温)	クリスタジェル ^{e)} (室温)	ジョイ ^{f)} (室温)	トップ粉末 ^{g)} (加熱)	クリスタジェル (加熱)	ジョイ (加熱)
上新粉	水稻うるち米	+	+	+	+					
白玉粉	水稻もち米	+	+	+	+					
道明寺粉	水稻もち米	+	+	+	+					
コーンスターチ	とうもろこし	—	—	—	—	—	—	—	+	+
片栗粉	ジャガイモデンプン	—	—	—	—	—	—	—	+	+
わらび餅粉	本葛5%、 甘蔗デンプン 95%	—	—	—	—	—	—	—	+	+
本吉野葛	葛粉	—	—	—	—	—	—	—	+	+

a) 水0.5mL、室温25℃で反応

c) 水1.1mL

e) クリスタジェル0.10mL＋水1.0mL

g) 100℃で2分間反応後、室温で5分間静置。

b) トップ水溶液：0.075mLトップ/100mL

d) トップ粉末0.05g＋水1.0mL

f) ジョイ0.10mL＋水1.0mL

(3) ベネディクト試薬の検討

上新粉 10mg を 3 本の試験管にとり、1 本目には水 1mL、2 本目にはトップ溶液（洗剤トップ 0.075 g を含む 100mL の溶液）1mL、3 本目にはエマル溶液（洗剤 0.067mL を含む 50mL 溶液）各 1mL ずつ加え、よく振り 20 分間静置した。

それぞれの溶液から、1mL ずつ 3 本のバイアルビンに取り、ベネディクト試薬 1mL ずつを加えて、100℃のヒートバスで 5～10 分程度加熱した。

2 本目、3 本目の試験管では赤褐色沈殿が生じた。しかし、前項に示すように、上新粉は洗剤を入れなくとも、水を加えてしばらくすると、ウロペーパーによるグルコースの検出が認められたため、ベネディクト試薬陽性の結果も、洗剤のデンプン加水分解による還元糖の生成を保障するものでないことが明らかとなった。

そのため、米のデンプン製品はこの反応には適さないと判断し、タンパク質を含まないデンプン製品を試料とする方向を検討した。表 5 にデンプンの種類別の結果を示す。

表 5 において、トップはライオンの粉末洗濯洗剤、クリスタジェルはライオンの食器洗い機専用洗剤、ジョイは P&G の食器洗い用洗剤である。上新粉、白玉粉、道明寺粉については、水を加えて振るだけでグルコースが検出されたので、洗剤による還元糖生成を見ることは無意味と判断した。

タンパク質をほとんど含まない(表 4)デンプンについては同様の実験を行ったが、室温での反応ではウロペーパーによるグルコースの生成は陰性(－)であり、ベネディクト試薬による反応でも陰性(－)であった。

しかし、これらのデンプンに洗剤を加え、加熱した後にベネディクト試薬を加えて加熱すると、トップ以外の 2 つの洗剤では陽性(+)を示した。

(4) 合成基質の分解の検討

前述のキッコーマン製の合成基質を用いて、洗剤に含まれる酵素に活性があるか、また、それを測定可能であるかを検討した。次に、その手順を示す。

基質溶液と酵素溶液それぞれ 0.5mL を混合し、37℃で 5 分間予熱後、 α -アミラーゼを含む測定試料 0.1mL を加えて 37℃でさらに 10 分間反応させ、反応停止液（炭酸ナトリウム水溶液 pH 約 10）を 2.0mL 加える。この溶液の 400 nm における吸光度を測定し、吸光度を AB_s とする。

基質溶液と酵素溶液それぞれ 0.5mL を混合し、37℃で 15 分間反応後、反応停止液（炭酸ナトリウム水溶液 pH 約 10）を 2.0mL 加え、 α -アミラーゼを含む測定試料 0.1mL を加える。この溶液の 400 nm における吸光度を測定し、吸光度を AB_b とする。

以下のいくつかの洗剤について、上記反応を試みた。

表 6 洗剤の α -アミラーゼ活性

試料名	AB_s	AB_b	$AB_s - AB_b$	酵素活性
クリスタジェル	1.803	0.26	1.543	0.276
ジョイ	0.212	0.098	0.114	0.020
キュキュット	1.827	1.34	0.487	0.087

AB_s : 400nm における試料の吸光度

AB_b : 400nm におけるブランクの吸光度

酵素活性 = $(AB_s - AB_b) \times 0.179 \times Df$ (U/mL); Df: 希釈率

U: 1 分間に 1 μ mol の CNP(2-クロロ-4-ニトロフェノール)を遊離する

クリスタジェルはライオンの、キュキュットは花王の食器洗い機専用洗剤であり、ともにご飯の汚れを落とすのに有効であると書かれている。また、ジョイは P&G の食器用洗剤である。これらはすべて α -アミラーゼ活性を持っているといえる。

この反応では上記のように吸光度によって定量が可能であるが、見られる黄色の着色が強ければ、酵素反応の可視化という点でも使える可能性がある。

5. 公開講座で利用する場合の一例

いくつかの反応の検討中から、ヨウ素反応は洗剤の存在下では酵素の反応を可視化することが困難であることが見出されていた。そのため、ウロペーパー、ベネディクト試薬、合成基質を用いる反応を利用できる可能性がある。ただし、ウロペーパーを用いた方法は、対象がグルコースに限定されており、洗剤に含まれると考えられる α -アミラーゼによる還元糖の生成を見ることには必ずしも適さない。 α -アミラーゼによって生成したオリゴ糖の生成を見ることができないからである。そこで、ベネディクト試薬を用いる方法に限定して、公開講座で実施可能な実験手順の例を示す。

たとえば、「洗剤酵素の仕事を見る」というタイトルの公開講座を行ったとしよう。

（１）使用する材料

タンパク質を含む米のデンプンは避け、コーンスターチ、片栗粉、わらび餅粉、葛粉などを用いる。α-アミラーゼ活性のあるクリスタジェル、キュキュット、ジョイを用いる。酵素を含まない洗剤を比較に用いる。

（２）使用する試薬

ベネディクト試薬（作製方法はすでに記述済み）、キッコーマン製のα-アミラーゼ活性測定用試薬（基質、酵素液、停止液）。

（３）使用する器具、機器

試験管またはガラスバイアルビン、駒込ピペット（目盛りがついたもの）、加熱装置（アルミ製ヒートバスが温度設定、ガスバーナーなど）。

（４）操作手順

- ① たとえばコーンスターチ 0.1 g ずつを 5 本の試験管（またはガラスバイアルビン）にとり、それぞれに水 1 mL ずつを加える。
- ② 1 本目に水、2 本目にクリスタジェル、3 本目にキュキュット、4 本目にジョイ、5 本目に酵素含まない洗剤（たとえばエマール）0.1 mL ずつを加える。
- ③ これらを 50℃ の一定温度で 10 分間加熱し、直ちに氷などで冷却する。
- ④ 上記の各試験管にベネディクト試薬を 1 mL ずつ加えてから、100℃ で数分間加熱し、色の変化を比較する。
- ⑤ ② と同じく 1 本目に水、2 本目にクリスタジェル、3 本目にキュキュット、4 本目にジョイ、5 本目に酵素含まない洗剤（たとえばエマール）0.1 mL ずつを加える。
- ⑥ これら各試験管を室温で 10 分間静置する。
- ⑦ 上記の各試験管にベネディクト試薬を 1 mL ずつ加えてから、100℃ で数分間加熱し、色の変化を比較する。

以上手順で行う実験は 60 分から 90 分程度で実施可能であると思われる。

以上の実験では、デンプンの加水分解反応の条件として、加熱した場合と、加熱しなかった場合の比較が可能である。また、ここではデンプンを

コーンスターチに限定したが、デンプンの種類による反応の違いを観察することもできる。ただし、コーンスターチ、片栗粉、わらび餅粉、葛粉では反応に大きな違いは見られないので、違いがないことを確認する実験となる。

尚、だ液を用いたデンプンの加水分解とこれらの実験を組み合わせ、洗剤がだ液と同じ反応をすることを見せると、酵素というものがさらに身近なものであることが実感できるであろう。

6. 洗剤酵素の実験の意義と有用性

酵素は化学と生物を結ぶ科目複合的な教材として有用である。酵素は物質を変化させるという化学的側面で見ることができるとともに、生体由来であるという生物学的側面で捉えることもできるとすでに述べた。酵素の教材としての有用性を下図に示す。

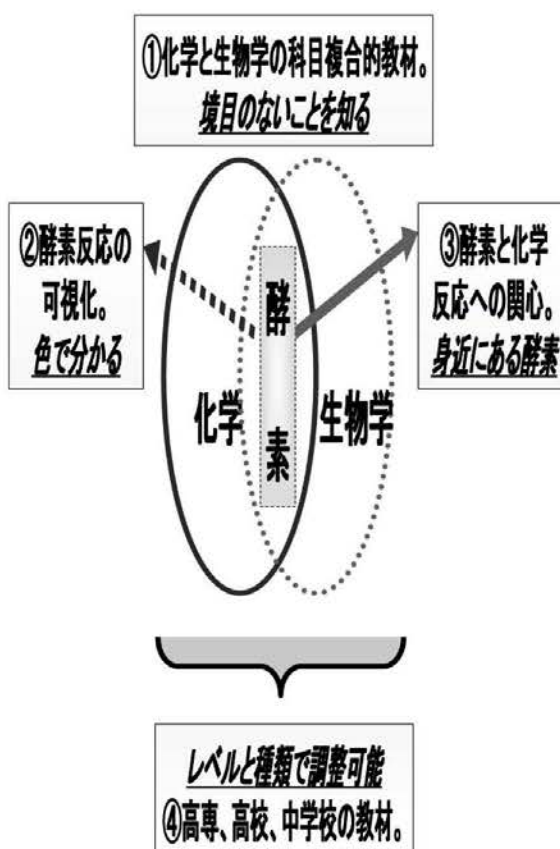


図6 酵素の教材としての有用性

この図にあるように、洗剤の酵素は身近にある酵素として捉えることができる。身近な酵素の働きを可視化していくことによって、酵素という生物由来の物質とそれによって引き起こされる化学反応への関心を高めることができる。

7. おわりに

以上、洗剤に含まれる酵素のうち主に α -アミラーゼの反応を可視化する試みと、それを公開講座で実施するときの方法について述べた。

しかし、すでに述べたように、最近では1つの洗剤で3種類の酵素を含んでいるものがあり、3種類の反応を試すことができるという便利さがある。今回示した α -アミラーゼによるデンプンの加水分解以外に、プロテアーゼによるタンパク質の加水分解、リパーゼによる脂肪酸エステルの加水分解を可視化することができれば、洗剤酵素の実験の可能性はさらに広がる。

酵素による反応をどのように可視化するかの図式を明らかにすることは重要であるが、次の段階として、教材を利用する側がどのような材料を選択し、どのような順序で、どのように見せるか、演じるかも重要である。このように公開講座の設計の仕方では効果は大きく変わってくるであろう。

ところで、今回、米を原料としたデンプン製品である上新粉、白玉粉、道明寺粉については、それらと水との混合物がウロペーパーでグルコースの存在が確認された。これは、タンパク質を含むデンプンに特有であるのかを小麦粉なども使った実験を試みることで、確認できるであろう。

参考文献

- 1) 胸組虎胤：歯磨きを使って歯垢の成分を分解する，化学と教育，第51巻，4号，pp. 238-239(2003)．；胸組虎胤，小山工業高等専門学校紀要，第40号，pp. 95-100(2008)．；胸組虎胤，公開講座に使えるテーマ(1)，小山工業高等専門学校紀要，第33号，pp. 117-122(2001)．
- 2) 野本正雄：『酵素工学』，p76，学会出版センター，1999．
- 3) 藤原雅俊，武石彰，『花王 酵素入りコンパクト洗剤「アタック」の開発』，一橋大学・文部科学省COEプログラム「知識・企業・イノベーションのダイナミクス」大河内賞ケース研究プロジェクト(2004)．
- 4) http://www.jpo.go.jp/shiryou/s_sonota/map/kouso/2/2-3-7.htm
- 5) 日本石鹼洗剤工業会ホームページ：<http://jsda.org/w/index.html>
- 6) 中村道徳監修，大西正健，坂野好幸，谷口肇，『アミラーゼ 生物学へのアプローチ』，学会出版センター(1987)．
- 7) <http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/MATERIALS/ENZYMES/stainzyme.html>
- 8) 揚田富子，三谷璋子，青木智子，加納三千子『新版化学基礎食品学実験』，三共出版(1991)．
- 9) 福井作蔵，還元糖の定量I，化学と生物，第3巻，8号，pp. 432-438(1965)．
- 10) 福井作蔵，還元糖の定量II，化学と生物，第3巻，9号，pp. 484-490(1965)．
- 11) 福井作蔵，『還元糖の定量法 第2版』，学会出版センター，1990．
- 12) 山根平太郎，酵素入り洗剤の中の酵素の働きを調べる，化学と教育，第46巻，6号，p. 380(1998)．

[受理年月日 2010年9月28日]