

Title	Catalase活性におよぼすAlkylbenzenesulfonateの影響
Sub Title	Influence of alkylbenzenesulfonate on the activity of catalase
Author	宮本, 貞一(Miyamoto, Sadaichi) 三島, 和子(Mishima, Kazuko) 回陽, 栄子(Kaiyo, Eiko)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1966
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.11 (1966.) ,p.38- 41
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000011-0038

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Catalase 活性におよぼす Alkylbenzenesulfonate の影響*

宮本貞一, 三島和子, 回陽栄子

Influence of alkylbenzenesulfonate on the activity of catalase

Sadaichi MIYAMOTO, Kazuko MISHIMA and Eiko KAIYO

1) Alkylbenzenesulfonate (ABS) inhibits the activity of catalase in the liver, cabbage, lettuce, etc. The inhibition is noncompetitive inhibition and the inhibition constant is 4.32×10^{-4} mol/L.

2) ABS Penetrates into the tissue of vegetables such as cabbage or lettuce, and inhibits the activity of catalase in the tissue. The rate of inhibition varies according to the time of soaking and concentration of detergent, that is, the inhibition increases when the vegetable is soaked longer or when the concentration of detergent is higher. Therefore, it is more desirable to use detergent containing ABS with lower concentration for shorter time.

ここ数年来, 中性洗剤の使用が激増し, それに伴なって洗剤の主成分 **alkylbenzenesulfonate** (以下 **ABS** と略称する) の人体に対する有害説, あるいは無害説, さらには公害問題等, 様々な論議が起こってきた. 最近になって科学技術庁はようやくこの問題についての結論を出したようである. 私どもはかねて中性洗剤による皮膚炎と酵素活性との関係につき興味を持っていたが, まず **ABS** と **catalase** 活性の問題をとり上げることとした. 酵素蛋白質が **ABS** のような界面活性剤によって変性, 沈澱することはすでに Putnam¹⁻²⁾, Lundgren³⁾, Glassman⁴⁻⁵⁾, McMeekin⁶⁾, 根来⁷⁾ 等によって指摘され, 研究されているが, 私どもは日常使用される **ABS** の濃度の範囲内において **catalase** がどのような阻害を受けるか, またいかなる種類の阻害であるかなどにつき実験を行なったので, その結果を報告する.

実 験

I 試薬および材料

1) **Catalase** 液としてつぎのものを用いた.

① マウス肝 homogenate

マウスを断頭し, 直ちに肝 200 mg をとり少量の磷酸緩衝液 (pH 7) を加えて homogenize し, 同じく緩衝液で全量 100 ml とする.

② キャベツ液

キャベツ葉を乳鉢中で海砂を加えて磨砕し遠沈して得た上清液を酵素液とする.

* 本研究の一部は第 21 回日本薬学大会で発表した.

1) Putnam, F. W., Neurath, H. : J. Am. Chem. Soc., 66, 692 (1944).

2) Putnam, F. W. : Advances in protein Chem., 4, 79 (1948).

3) Lundgren, H. P. et al. : J. Biol. Chem., 149, 189 (1943).

4) Glassman, H. N. : Ann. New York Acad. Sci., 53, 91 (1950).

5) Glassman, H. N., Molnar, D. M. : Arch. Biochem. & Biophys., 32, 170 (1951).

6) McMeekin, T. L. et al. : J. Am. Chem. Soc., 71, 3606 (1949), 73, 2790 (1951).

7) 根来秀夫 : 生化学, 32, 306 (1960).

③ レタス液

キャベツと同様にして調製する。

上記 catalase 液はいずれも当日調製，氷冷使用する。またその 1 ml が基質の H_2O_2 液 10 ml を 1~2 分， $37^\circ C$ で約半量消費するよう酵素活性をほぼ等しくして用いた。

2) ABS として東京化成製 Sodium dodecylbenzenesulfonate および市販の液体中性洗剤を用いた。

3) 0.2 N H_2O_2 : オキンドールを磷酸緩衝液で 10 倍希釈する。

4) 4 N H_2SO_4

5) 0.2 N $KMnO_4$

6) 磷酸緩衝液 (pH 7) : 磷酸二水素カリウム液 (27.218 g/l) 250 ml, 0.2 N NaOH 14.15 ml を混じり全量を 1 l とし, B.T.B. 試験紙で pH 7 に調整する。

II. 実験方法

50 ml のコニカルビーカーに基質の 0.2 N H_2O_2 10 ml をとり， $37^\circ C$ の恒温槽中で常時振盪しつつ catalase 液 1 ml を加え一定時間反応させる。反応後 $4 NH_2SO_4$ 5 ml を一時に加えて反応を停止せしめ，残余の H_2O_2 を 0.2 N $KMnO_4$ で滴定する。

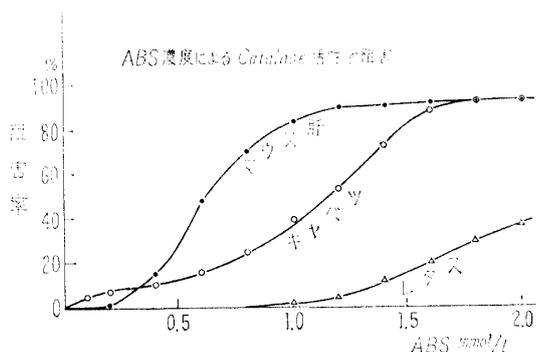
植物 catalase の至適温度は植物の種類によって異なるという報告⁸⁾もあるので私どもは本実験に用いる catalase の至適温度および至適 pH を検したが，いずれも $37^\circ C$, pH 7 前後であった。従って実験はすべて $37^\circ C$, pH 7 において行なった。

実験結果および考察

I. ABS 濃度と catalase 活性阻害との関係

0.2 N H_2O_2 10 ml に各種濃度の ABS 溶液 1 ml を添加したものに，catalase 液 1 ml を加えて 1 分間反応させた結果は Table 1 のごとくである。いずれの場合にも catalase は ABS

Table 1



濃度の増加とともに阻害も増してくる。しかしその阻害の増し方が相違し，マウス肝 catalase はキャベツ，レタスのそれに比べ低濃度の ABS でも阻害される。レタスの catalase は ABS の阻害作用に対して抵抗性があり，キャベツは両者の中間である。これは catalase の isozyme ではないかという考えも成り立ち得るので，私どもはマウス肝 homogenate に煮沸したキャベツ液を加えて同様に酵素活性を検したところ，ほとんどキャベツの曲線に一致する結果を得た。このことから，キャベツ汁の中に溶存する何ものかが，ABS の catalase 阻害作用を妨げるので

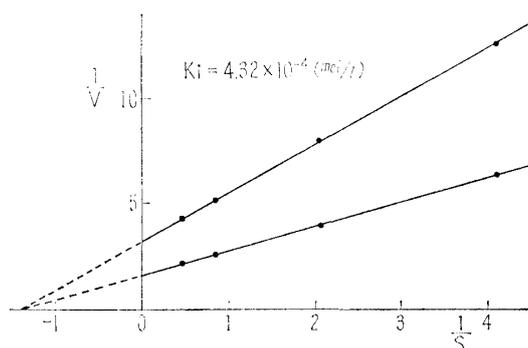
8) 満田久輝：Bull. Inst. Chem. Research, Kyoto Univ., 34, 165 (1956).

はないかと思われる。

II. 阻害の種類および阻害恒数

つぎに ABS による catalase 活性の阻害の種類および阻害恒数 K_i を求めた。すなわちマウス肝 catalase について実験した結果から Lineweaver-Burk の式により Table 2 に示す作図を得た。Table に示される通り阻害は非相競性阻害であり、阻害恒数 K_i を算出すると $4.32 \times 10^{-4} \text{ ml/l}$ となる。

Table 2



III. 中性洗剤濃度および浸漬時間によるキャベツ catalase 活性の阻害

野菜が日常使用される濃度の中性洗剤溶液中に浸漬された場合 ABS の浸透性と catalase 活性の変動を見るために、キャベツを用いて洗剤の濃度と浸漬時間による catalase 活性の変動を検した。植物葉肉の部分と葉柄の部分では catalase 活性が異なり、葉柄では catalase 活性が低い⁹⁾ことは私どもも確かめているので、キャベツの葉柄の部分をできるだけ除去したものを細かく刻み、よく混ぜ合わせる。この中から任意に一定量をとって調製した catalase 液はほとんどその活性度が等しい。このことを確認した上でつぎのごとく行なった。

市販の液体中性洗剤は添付のフタ 1 cup (約 5 ml) を 2 l の水に溶かして用いるよう表示されているので、その濃度に調整した中性洗剤溶液 (ABS 0.0625%, 1.81 mmol/l) 中に、前述のようにして準備したキャベツの細切を一定量浸す。別にブランクとして水道水 2 l 中に同じく一定量のキャベツを浸し、各々を一定時間後とり出してよく水洗し、さらに精製水で洗った後、表面の水分をガーゼで拭い去り、酵素液を調製してその catalase 活性を測定した。なお、酵素液調製から catalase 活性測定までの所要時間は常に一定 (30 分) とした。その結果を Table 3 に示す。

キャベツの catalase 活性は水浸 (ブランク) のみでも時間とともに低下する。しかし中性洗剤溶液中ではその低下ははるかに著しい。水浸による影響を除去した。つまり中性洗剤のみによる catalase 活性の阻害は両者の中間の線に示されるが、とにかく中性洗剤の日常使用される濃度の溶液に 15 分内外浸漬すると catalase 活性は約 50% も阻害されることが知られる。

つぎに中性洗剤の濃度によるキャベツ catalase 活性の変動をみた。2 l の水道水に 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 cup の中性洗剤を溶かした中に細切したキャベツを浸漬し (その都度水浸のキャベツをブランクとして同時に行なう), 3 分および 6 分後にとり出して清洗, 水分を拭いた後, 酵素液を調製し, 同様にして catalase 活性を測定した。その結果を Table 4 に示す。中性洗剤

9) Radu, I. F.: Acad. rep. populare Române Bul. științ., Secț. biol. științ. agr., 9, 205 (1957).

Table 3

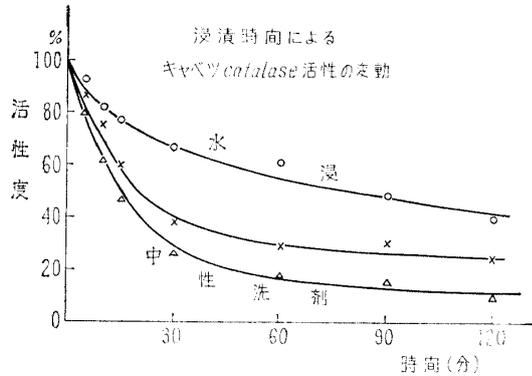
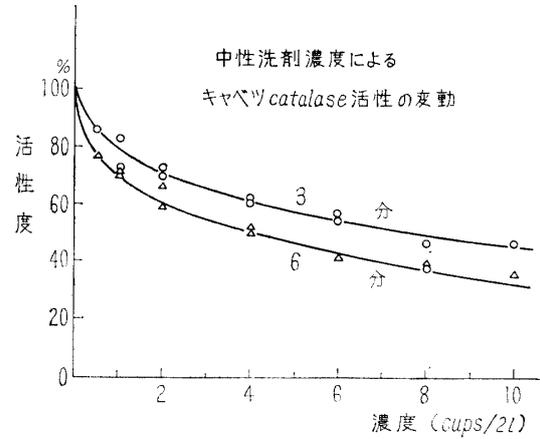


Table 4



の濃度が増すにつれて catalase 活性は低下する。常用量の 1 cup/2l, 3 分間浸漬においてさえ約 20% の活性度低下を来たす。

以上の実験結果からいえることは、中性洗剤溶液中に植物を浸漬すると、ABS は植物組織内に浸透し、組織中の catalase 活性を阻害する。そして浸漬時間の長い程、また洗剤濃度の大きい程 ABS による阻害が増大するので、私どもが実際に中性洗剤を使用する場合には、洗剤の洗浄効果を発揮できる範囲内においてできるだけ低濃度で、しかも短時間であることが望ましい。最近になってこの実験に使用した中性洗剤の使用量の表示が 1 cup から約 1/2 cup と半量になっているのを見たが、この変更は以上の見地から好ましいことといえよう。