

## 漆における過酸化水素の生成とその影響

高分子系チーム 池永 誠, 橋 洋一  
 京都工芸繊維大学 北島佐紀人

## 要 旨

漆は、ウルシより採取される樹液であり、酵素による酸化重合によって硬化する環境に優しい材料である。我々は、漆の改質・適用範囲の拡大、および漆を利用した新しい材料の開発を目指した研究を行っている。これらの目的達成のために、漆に対する理解を深めることが必要不可欠である。これまでフェノール類の水溶液から、酸素との反応による過酸化水素の生成が報告されている。活性酸素の一種である過酸化水素は、漆への悪影響をおよぼすことが懸念される。そこで、漆と過酸化水素の関係について調査を行った。その結果、漆の主成分であるウルシオールから生成する過酸化水素の量が、pHの増加に伴って増加すること、ならびに、過酸化水素が漆ラッカーゼの活性低下および漆の硬化時間の遅延を引き起こすことを見出した。

## 1. 緒言

漆は、古くから塗料や接着剤として用いられており、少なくとも数千年以上の歴史を持った材料である<sup>1)</sup>。漆は、日本や中国、韓国の東アジアでは、ウルシ(学名:*Toxicodendron vernicifluum*)より採取される乳白色の樹液より精製されたものである<sup>2)</sup>。その塗膜は、優れた耐久性だけでなく、高い光沢と優美な質感を持っており、現在でも、寺社仏閣や日用品などに広く用いられている<sup>2,3)</sup>。

漆の成分には、ウルシオール、水分、多糖類、含窒素物、そして少量のラッカーゼなどが含まれる。その構成は、主成分のウルシオールを油分とした油中水滴型のエマルジョンであり、分散された水分の中にラッカーゼが含まれている<sup>2,4)</sup>。硬化の初期反応は、ウルシオールとラッカーゼが担う。ウルシオールは、カテコールの誘導体であり、長鎖の飽和もしくは不飽和のアルキル鎖を持つ<sup>5)</sup>。酵素であるラッカーゼは、フェノールオキシダーゼに分類され、ウルシオールのカテコール環の酸化を行う<sup>6)</sup>。酸化されたウルシオールが反応することで重合し、硬化が進行する<sup>2)</sup>。一方、ウルシオールを酸化したラッカーゼは、空気中の酸素を水に還元することで、元の活性のある状態に戻る<sup>6)</sup>。こうして、ラッカーゼの触媒サイクルが進行する(図1)。樹木より、採取され、熱や有機溶剤を用いずに内在の酵素により硬化する漆は、化石燃料に頼らない循環型の環境に優しい材料であり、漆の用途拡大や漆を利用した新しい材料の開発が望まれる。これらの目的の達成のためには、漆に対する理解を

深めることが必要不可欠である。

これまでに、多数のフェノール類の水溶液から、空気中の酸素との反応による過酸化水素の生成が報告されている<sup>7-9)</sup>。例として、ジもしくはトリヒドロキシベンゼン、カテキン類、フラボノイド類などである。ウルシオールもフェノール類の化合物であることから、報告のあったフェノール類と同様に過酸化水素が生成することが予想される。過酸化水素は、生体等への損傷を起こす活性酸素の一種であり、菌類のラッカーゼにおいて過酸化水素による活性の阻害が報告されている<sup>10)</sup>。

以上のことから、過酸化水素は、漆からの生成および漆の硬化への影響が予想されるが、これまでその関係は調査されていない。そこで、本研究において、pHを変化させたウルシオール水溶液における過酸化水素の生成について検討した。さらに、過酸化水素が漆に与える影響について、ラッカーゼの活性および漆の硬化時間に着目して調査を行った。

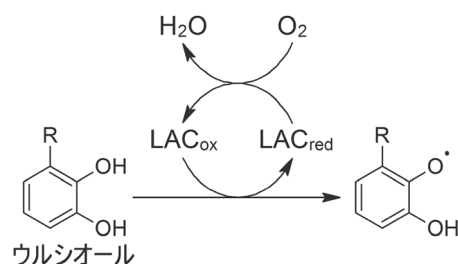


図1. ウルシオールとラッカーゼ(LAC)による反応Rは飽和もしくは不飽和の長鎖炭化水素。下付き文字のoxは酸化体、redは還元体を表す。

## 2. 実験方法

### 2.1 材料

実験に用いた試薬は、富士フィルム和光純薬社製および東京化成工業社製のものを使用した。生漆は、ウルシより採取した樹液を濾過のみ行ったものであり、佐藤喜代松商店より購入した中国産のものを使用した。ウルシオールは、生漆からジエチルエーテルにより抽出したものをを使用した。ウルシオールの分子量は、316.6 として実験を行った<sup>11)</sup>。

### 2.2 ウルシオールから生成する過酸化水素の測定

ウルシオールは4種類の緩衝液（くえん酸-りん酸：pH 4-8, p-フェノールスルホン酸-水酸化ナトリウム：pH 7.6-10, 炭酸ナトリウム-水酸化ナトリウム：pH 9.6-11, りん酸-水酸化ナトリウム：pH 11-11.6）を用いてそれぞれ 100 mmol/L に調整した。調整した各混合物を室温で 24 時間攪拌した後、上澄み液を試料とした。試料に、過酸化水素を酸素に分解するカタラーゼを加えて生成した酸素量を酸素電極（YSI 社製 5300A）を用いて測定した。測定した酸素量よりウルシオールから生成した過酸化水素量を求めた。

### 2.3 過酸化水素を加えた漆ラッカーゼの活性の測定

生漆に 30 倍重量のアセトンを加え、濾過、乾燥してアセトン不溶物を得た。アセトン不溶物に、5 倍重量の水を加え、沈殿物を遠心分離によって除去し、得られた溶液を漆ラッカーゼ溶液とした。漆ラッカーゼ溶液に所定濃度の過酸化水素を加え、2 時間放置した後に、酸素電極を用いて、漆ラッカーゼの活性を測定した。基質は pH 8.8 の緩衝液で希釈した 50 mmol/L のグアヤコール水溶液を用いた。過酸化水素による希釈後の漆ラッカーゼの濃度は、4.2 g/L であった。1 unit の活性値を、1 分間に消費する 1  $\mu\text{mol}$  の  $\text{O}_2$  として定義したところ、過酸化水素を加えていない漆ラッカーゼ溶液の活性は 1200 unit/L であった。

### 2.4 過酸化水素を加えた漆の硬化時間の測定

生漆 1.8 g に所定量の過酸化水素を加え、硬化時間の測定を行った。硬化時間は、塗料乾燥時間測定器（太雄機材社製 Dry Time Tester）により測定した。試料は 37.5  $\mu\text{m}$  のフィルムアプリーケーターを用いて調製し、硬化は恒温恒湿槽（20°C/80%rh）にて行った。塗膜の硬化時間は、塗料乾燥時間測定器にて測定した指触乾燥の

時間とした。また、240 時間経過後に硬化しなかった試料を硬化不良とした。

## 3. 実験結果と考察

### 3.1 ウルシオールから生成する過酸化水素の量

図 2 に水溶液の pH に対するウルシオールから生成した過酸化水素の量を示す。過酸化水素の生成量は、酸性（pH 4）、中性（pH 7.2）および塩基性（pH 11.6）では、それぞれ 0.0089 mmol/L、0.11 mmol/L および 6.1 mmol/L であり、pH の増加に従って、生成量も増加していた。

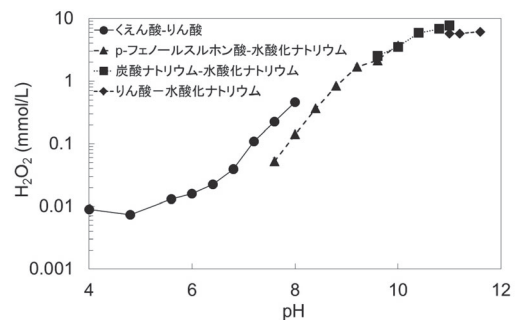


図 2. 各種 pH におけるウルシオールからの過酸化水素の生成量

### 3.2 漆における過酸化水素の影響

生漆から抽出した漆ラッカーゼに対して、過酸化水素を加え、その活性の測定を行った（図 3）。0.01 mol/L の過酸化水素を含有する漆ラッカーゼ溶液の相対活性は、約半分まで低下した。さらに過酸化水素の濃度を増加させると 0.2 mol/L で完全に活性が見られなくなった。

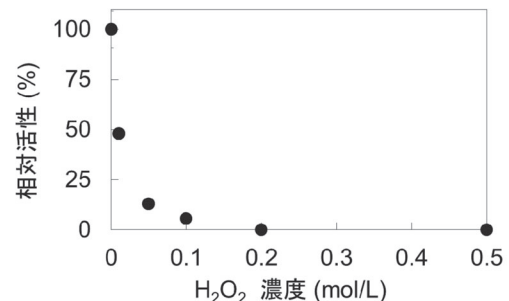


図 3. 過酸化水素を添加した漆ラッカーゼの相対活性横軸は調整した漆ラッカーゼ溶液における過酸化水素の濃度。

次いで、生漆に過酸化水素を加えて、硬化時間の測定を行った(図4)。生漆1.8gに対して0.1mmolの過酸化水素を添加したところ、その硬化時間が約50時間遅くなった。さらに過酸化水素の添加量を増加させることで、硬化時間は遅くなり、0.5mmolの添加で硬化不良となった。硬化時間の遅延も過酸化水素によるラッカーゼの活性低下が原因であると考えられる。

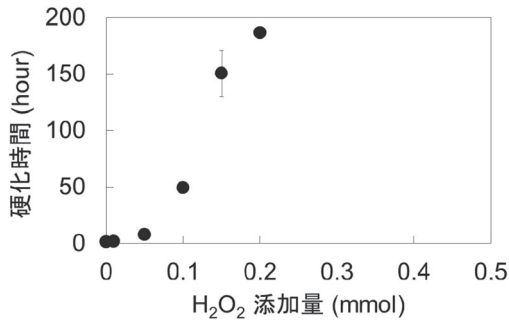


図4. 過酸化水素を添加した生漆の硬化時間横軸は生漆1.8gに対して添加した過酸化水素の量。

一般的な漆は、酸性状態(pH 4.5)であることが報告されている<sup>12)</sup>。今回の実験結果から酸性状態での過酸化水素の生成量は非常に少ないことから、通常は漆における過酸化水素の生成・影響は少ないことが予想される。また、漆中には過酸化水素を基質としたペルオキシダーゼと呼ばれる酵素が含まれている<sup>2)</sup>。今後、漆中のペルオキシダーゼと、漆から生成する過酸化水素の関連性について詳細に調査を行いたい。

#### 4. 結論

今回、新たにウルシオールから過酸化水素が生成することが分かった。ウルシオールから生成する過酸化水素の量は、pHの増加に伴って増加した。さらに、過酸化水素が漆ラッカーゼの活性低下および漆の硬化時間の遅延を引き起こすことが観測された。

今後、漆と過酸化水素の関係をさらに調査し、最終的な目的である漆の用途拡大および漆を利用した新しい材料の開発につなげていきたい。

#### 参考文献

- 1) N.S. Brommelle, P. Smith: "Urushi: Proceedings of the Urushi Study Group, Getty Publications", p.45, Tokyo, (1988).
- 2) J. Kumanotani: Prog. Org. Coat., 26, 163 (1995).
- 3) N. Bornoff: "Things Japanese: Everyday Objects of Exceptional Beauty and Significance", p.10, Vermont, (2002).
- 4) S. Kitajima et al: Biosci. Biotechnol. Biochem., 81, 1165 (2017).
- 5) Y. Yamauchi et al: J. Chromatogr. A., 243, 71 (1982).
- 6) T. Omura: J. Biochem., 50, 264 (1961).
- 7) T. Nakayama et al: Food Sci. Technol. Int. Tokyo., 1, 65 (1995).
- 8) Y. H. Miura et al: Biol. Pharm. Bull. 21, 93 (1998).
- 9) H. Arakawa et al: Biol. Pharm. Bull. 27, 277 (2004).
- 10) R.D. Milton, S.D. Minter: J. Electrochem. Soc. 161, H3011 (2014).
- 11) Y. Yamauchi et al: J. Chromatogr. A. 243, 71 (1982).
- 12) N.S. Brommelle, P. Smith: "Urushi: Proceedings of the Urushi Study Group, Getty Publications", p.155, Tokyo, (1988).