(昭和 31 年 6 月 13 日 受 理)

日光によるフィブロイン分子の崩壊について

第 3 報 絹の黄褐変機構について

東京農工大学繊維学部 岡 本 奨・今 井 其 枝

THE DECOMPOSITION OF SILK FIBROIN BY SUNLIGHT.
(III) ON THE MECHANISM OF THE YELLOWING OF SILK

By Susumu Okamoto and Sonoe Imai

(Faculty of Textile Industry, Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan)

On the mechanism of the yellowing of silk by the sunlight, it was reported recently by Chujo that tyrosine contained 13-14 per cent in silk fibroin was changed into the indole derivatives and then into melanin-like pigments photochemically. This theory however deserves further investigations.

We recognized that tyrosine was easily decomposed in the diluted hydrogen peroxide solution at room temperature, while tryptophan, especially its indole-ring, was more stable for it. So the silk cloth was dipped in the diluted hydrogen peroxide solution to make tyrosine in it decompose, and was exposed to ultraviolet radiation. The exposed cloth was sifted by means of the rate of yellowing and the reactions for the colouring matters such as nitric acid or Ehrlich's reagent.

These changes were compared with those of the oxidized wool as well as the formalized silk or wool. While, tyrosine and tryptophan fixed on the rayon cloth by polyvinylalcohol were also exposed to light and their changes were detected by paper chromatographic method.

It may be concluded that the changing process proposed by Chujo does not coincide with the various results obtained in this experiments, and that the leading cause of the yellowing is not attributed to the changes of tyrosine, but to tryptophan although the amount contained in silk fibroin is very little.

(Received 13. 6. 1956)

1. 緒 言

絹は光によって速やかに黄褐変するが、この原因については絹フィブロイン中に 13~14% 程度含まれているチロジンの変化に基づくと考えられている。しかしチロジンが如何に変化するかについては、未だ定説なく、比較的最近になってその機構に論及されるようになった。小幡・坂村氏¹⁾はチロジン水溶液を光に照射しジオキシンフェニルアラニン (DOPA) を中間生成物として分離確認し、チロジンは DOPA を経てメラニン様有色物質に変化するものであらうと述べている。また中条氏²⁾は絹布を光に照射し、蛋白質の呈色反応を布上で試みた結果、照射部分においてはチロジンの存在に基づくキサントプロテン反応が陰性となり、インドール核の存在に基づく Ehrlich 反応が陽性となることを認め、チロジンは光によってインドール化合物を形成し、ついで有色物質に変化するであらうと推定

している。

いずれにせよ、チロジンの変化によって黄褐変が起るものであれば、あらかじめチロジンを分解しておけば上のようなコースが通れなくなり、黄褐変現象も変化してくると思われる。この意味で絹の酸化処理を行い、これに伴う一連の付帯実験を行った結果を考察し、如上のチロジンの光変化機構について若干の検討を加えたので、ここに報告する。

2. 実験方法

(1) チロジンおよびトリプトファンの対酸化抵抗性

チロジンおよびわれわれが黄褐変の大きなファクターであると考えているトリプトファンのそれぞれ 1% 水溶液をつくり、これに過酸化水素を 1% および 3% となる如く含ませ、一定期間暗処に放置し、ペーパークロマトグラフによってその変化を追跡した。すなわち試料の一定量を東洋濾紙 No. 50 の一端におきブタ

ノーラー酢酸-水 (4:1:1) で一次展開しニンヒドリンブタノール溶液および Ehrlich 試薬 (5% p-ジメチルアミノベンズアルデヒドの2N塩酸溶液) を顕色剤として常法により発色同定した。

(2) 酸化絹および羊毛の諸反応

10匁付絹羽二重および市販純毛サージを温水でよく洗滌し3%過酸化水素に浸漬し、3日後にとり出して洗滌しメタノール抽出を行って風乾後、AtlasのFade-O-meterで10,30時間照射した。なおこの程度の酸化では外観上ほとんど無処理と変りがない。これらの布片について黄褐変度、キサントプロテン反応、Ehrlich反応を布上で一定条件で試みその呈色度を肉眼で比較した。黄褐変度については更にPhotovolt Reflection Meter (フィルター G) を使用し、その順序に間違いのないことを確めた。キサントプロテン反応は5%硝酸液を煮沸湯煎上におき、試験布を5分浸漬し真ちに水洗して比色した。またEhrlich反応は上記試薬に常温で10分間浸漬し同様にして比色した。

(3) フォルムアルデヒド処理布の諸反応

絹布にフォルムアルデヒド処理してメチレン橋を形成させ、また羊毛は一旦酸化してジズルフィド結合の一部を開裂させた後にフォルムアルデヒドを作用させたものをつくった。

フォルムアルデヒド処理は濃度14%のホルマリンを用い、95°, 60分間試布を浸漬する。試布との浴比は1:40としpH 2.0で行った。ひきあげて軽くしぼり直ちに100~105°で45分間キュアリングし最後に120°まで上昇させた。後0.2%亜硫酸ソーダ溶液で洗水し洗して試料とした。そのCH₂O結合量は奥氏³⁾の方法で測定した。紫外線照射と呈色反応は実験(2)と同様にして行った。なおジズルフィド結合の変化はGroteの試薬(ニトロプルシッドソーダ0.5gを水10ccにとかし0.5gのヒドロキシラミン塩酸塩を加えついで重曹と少量の臭素を加えたもの)を用い、直後および15分後の色調を見た。

(4) チロジンおよびトリプトファン自体の諸反応

水50ccにポリビニルアルコール0.1gを溶解した溶液をつくる。これにチロジンならば、0.1g、トリプトファンならば0.005gをとかし、径15cmの大型シャーレに入れこれに同大のスフ布2枚(1枚約2g)を浸漬し、低温で徐々に蒸発させ、できるだけアミノ酸を均一に布に固定させる。チロジンとトリプトファンとの量比は20:1では絹フィブロイン中の含量比と

なっている。またこれらのアミノ酸が全部布に固定されたとすれば布のチロジン含量は約2.5%、トリプトファン含量は約0.125%となるわけである。これらの試布について前実験と同様に照射し諸反応を試みる。

(5) 照射によるチロジンおよびトリプトファンの分解

実験(4)の30時間照射区の布の一部を用い、同一布より照射および無照射部分を切りとり、それぞれ1.1g宛の試料をつくり、細片として温水で抽出し、抽出液は1ccに濃縮し、その一定量をとって実験(1)と同様にしてペーパークロマトグラフを行なう。

3. 実験結果

実験結果はそれぞれ次の如くであった。

	Conc. of H ₂ O ₂ %	Days of Dipping	Color Reag.	R _f					
				0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
Tyrosine	0	3	Ninhydrin						
		6							
	1	3							
		6							
	3	3							
		6							
Tryptophan	0	3	Ninhydrin						
		6							
	1	3							
		6							
	3	3							
		6							
	0		Ehrlich						
	1								
	3								
	3								

Fig. 1. Changes of tyrosine and tryptophan by hydrogen peroxide

(1)

チロジンはH₂O₂を含まなければ無論変化はないが、1% H₂O₂で6日目に、3% H₂O₂で3日目に早くも相当分解していることがわかった。これに対しトリプトファンはかなり抵抗性があり、ニンヒドリン反応は酸化の度合の進むにつれて弱くなっていくが、8日目の

Ehrlich 試薬による呈色は各区何れもほとんど変化なく、少なくともトリプトファンのインドール核は破壊されていないことを示している。

第1表 絹および羊毛の酸化による諸反応の変化

照 射 時 間			0	10	30
絹	黄 褐 変 度	無処理 酸 化	— —	++ ++	+++ +++
	キサントプロ テイン反応	無処理 酸 化	+++ +	— —	— —
	エーデルリッ ヒ反応	無処理 酸 化	— —	++ ++	+++ +++
羊 毛	黄 褐 変 度	無処理 酸 化	— —	++ +	+++ +++
	キサントプロ テイン反応	無処理 酸 化	+++ +++	++ ?(褐)	— ?(褐)
	エーデルリッ ヒ反応	無処理 酸 化	— —	— ++	— +++

(2)

絹についてみれば無照射区のキサントプロテイン反応は酸化したものの方が弱くなっており、チロジンの一部が分解したことを示している。この点は数回実験を繰返して確認した。しかるに黄褐変度は逆にむしろ酸化絹布の方が強い。Ehrlich 反応もこれに伴って強くなっている。

羊毛の場合、無処理布が照射に伴って黄褐変度が増し、キサントプロテイン反応が減少することは、絹の場合と同様であるが、Ehrlich 反応はあらわれない。し

第2表 絹および羊毛のホルマリン処理による諸反応の変化

	照 射 時 間	絹		羊 毛		
		無処理	ホルマ リン	無処理	酸化	酸化-ホル マリン
CH ₂ O結合量(%)		0	0.41	0	0	0.64
グロース直後 テ反応(15分後)				++ ++	+++ +	— —
黄 褐 変 度	0 10 30	— ++ ++	— + ++	— + ++	— ++ +++	— + ++
キサントプロ テイン反応	0 10 30	++ — —	++ ++ +++	++ + —	++ ?(褐) ?(褐)	++ ++ ++
エーデルリッ ヒ反応	0 10 30	— ++ +++	— + +	— — —	— ++ +++	— — —

かし羊毛を一旦酸化したものは、絹と同様反応が強くあらわれるようになる。酸化羊毛も黄褐変度は同様であるが、キサントプロテイン反応は褐色を呈し明瞭ではない。

(3)

フォルムアルデヒド処理により、絹は紫外線照射しても Ehrlich 反応が微弱となり、キサントプロテイン反応は余り減退しなくなった。黄褐変度は多少フェースをおくれるが結局同程度に進んだ。

羊毛は酸化によって Grote 反応が示す如くジズルフィド結合の部分に変化があったことを示す。これをフォルムアルデヒドで処理したものは再び Ehrlich 反応が陰性となることがわかった。すなわち絹ならびに酸化羊毛をフォルマリン処理したものは、照射によってもキサントプロテイン反応が減退せず、また Ehrlich 反応が微弱となるにもかかわらず、黄褐変は依然として進行する。

第3表 チロジンおよびトリプトファンの照射による変化

	照射 時間	PVA のみ	チロジン	トリプト ファン	チロジン トリプト ファン
黄 褐 変 度	0 10 30	— — —	— — (+)	— ++ +++	— ++ ++
キサントプロ テイン反応	0 10 30	— — —	+(桃) +(〃) +(〃)	+(桃) +(〃) +(〃)	+(桃) +(〃) +(〃)
エーデルリッ ヒ反応	0 10 30	— — —	— — —	— ++ +++	— + ++

(4)

この場合の黄褐変については、既に著者はポリビニルアルコールの代りにゼラチン（チロジン、トリプトファンの含量僅少）を固定剤として試みており、また吉田・加藤氏⁵⁾はシリカゲルを両アミノ酸の分散剤としてやはり固体状態で照射試験を行っている。そして本実験結果を含めて何れの場合もトリプトファンは微量でも著しく黄褐変し、チロジンの黄褐変はそれに比べて極めて緩慢である点で一致している。なお吉田氏らの場合はトリプトファンとチロジン共存でもっとも黄褐変著しいとされているが、本実験では色調が若干異なり比較は困難であるが、チロジンと共存の場合がトリプトファン単独の場合より黄褐変度が大きいとは認められなかった。

本実験で注目すべき点は、トリプトファンはインドール核をもっているにもかかわらず、このように布に付着させた条件では無照射区で Ehrlich 反応の呈色ができず、照射によって初めて著しく顯色することである。チロジンは照射してもこの反応は陰性である。

		amount of Sample cc.	Color Reag.	R_f				
				0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Tyrosine	non-exp	0.002	Ninhydrin					○
	exposure						○	
	non-exp	0.004	Ninhydrin				○	
	exposure						○	
	non-exp	0.004	Ehrlich					
	exposure							
Tryptophan	non-exp	0.01	Ninhydrin					○
	exposure							
	non-exp	0.016	Ninhydrin					○
	exposure							○
	non-exp	0.016	Ehrlich					○
	exposure							

Fig. 2. Changes of tyrosine and tryptophan by light

(5)

チロジンは照射、無照射によって特別な変化はみられない。この点は溶液で行った諸実験⁹⁾とかなり相違する。これに反しトリプトファンは照射によって速やかに減少し、Ehrlich 反応によっても布上反応の場合と反対にトリプトファンまたはその誘導体と同定されるスポットがでないことを認めた。

4. 考 察

チロジンが光化学的变化によって中間生成物を經由して有色物質に変化するとすれば、チロジンを予め酸化分解しておけばこの反応が起り得ないわけである。チロジンは稀過酸化水素水で容易に分解され、絹布上でも酸化処理によりキサントプロテン反応が減退する点から考えて、絹のチロジン残基も少なくとも表層部では分解されると考えてよい。それにもかかわらず黄褐変が進行することは別の原因によると思われる。吉田氏⁷⁾は絹中の吸光性物質として實際上問題となるのはチロジンとトリプトファンとだけであると指摘し

ている。今トリプトファンを別の原因と考えれば、トリプトファンはこの程度の酸化処理に対して比較的抵抗性をもつので、酸化後もトリプトファンは残留しこれがため依然黄褐変現象が進行するのであると説明しうる。

絹および酸化絹での Ehrlich 反応はほぼ黄褐変の進度と比例して濃色となるが、この反応は羊毛においては発現しない。羊毛もこれらのアミノ酸を第4表の如く含有しているにもかかわらず、絹と異なる行動をと

第4表 絹および羊毛中のチロジン、
トリプトファン含量 (%)

	絹フィブロイン ⁸⁾	羊毛ケラチン ⁹⁾
チロジン	13.8	4.65
トリプトファン	0.3	1.8

るのはシスチン橋あるいはその他のクロスリンケージによってチロジンもしくはトリプトファンの自由な行動が抑止されるためではないかと考えられる。酸化処理によって羊毛のシスチン橋の一部を開裂させると絹と同様な反応を示し、またメチレン架橋によって再び Ehrlich 反応が発現しなくなることは、絹もメチレン架橋によって羊毛と同様に Ehrlich 反応が微弱となること等は、この考えを裏付けるものである。しかしながらチロジン及びトリプトファン溶液にフォルムアルデヒドを加えて上記繊維のホルマリン処理と同様な条件で熱処理すると、これらアミノ酸の特有反応——ニンヒドリン反応、Million 反応、Ehrlich 反応——を呈さなくなるので、この点は構造上の相違のみに帰せしめることができるか否かはなお検討を要する。いずれにせよ、上の諸事実はキサントプロテン反応の減少と Ehrlich 反応の発現をチロジンの一連の変化と考えると説明しにくいことで、この反応をそれぞれ別個の基質にもとづく変化と考えて初めて首肯しうるであろう。

またチロジンを布上で照射した場合、チロジン自身の減少が意外に少なく、かつ黄褐変も緩慢なのに反し、トリプトファンの方は分解が速やかで黄褐変度著しく、かつ照射部分のみが布上で Ehrlich 反応が顕著に発現することから考えて、黄褐変現象はむしろトリプトファンが主要因である如く考えられる。また照射絹布上で発現する Ehrlich 試薬による呈色もチロジンか

ら誘導されたインドール化合物ではなく、トリプトファン自体の変化生成物による発色と考えられる。ペーパークロマトグラム上に照射部分から Ehrlich 試薬で顕色される物質がえられなかったのはおそらく高分子物となって原点にとどまるためではないかと思われる。なお文献¹⁰⁾によれば、Ehrlich 反応はインドール核の α 位置が空いている場合に発見するわけであるから、たとえ前報¹¹⁾で引用したチロジンからインドール核物質が生成するコースがあるとしても、 $-\text{CH}-\text{CO}-$ 結合でも切断されぬ限り、これが Ehrlich 試薬で呈色する筈はないと思われる。Ehrlich 反応の発現は日光の場合でも極めて短時間の照射で起るが、日光の波長と $-\text{CH}-\text{CO}-$ 結合力を考慮すれば、 $-\text{CH}-\text{CO}-$ 結合の切断がそのように容易に起るとは考え難いことである。

もっともアミノ酸の光化学的な変化は溶液状態、固体状態ではかなり相違していると様に、ペプチド鎖中にある場合と遊離状態の場合との間でも著しい相違があるであろうと推定される。著者らが目下合成ポリチロジンをを用いて行っている実験によっても、チロジンの変化は遊離の場合と相当異なることが認められるが、しかも現在のところなお黄褐変の原因となると考えられるデータは得られない。

5. 結 語

絹の光による黄褐変機構に関する説を検討するため、絹および羊毛につき酸化処理、フォルムアルデヒド処理などの手段を用いて、主としてチロジンおよびトリプトファン残基の行動を呈色反応によって追跡し、また遊離チロジンおよびトリプトファンの光による変化も検討した。その結果、チロジンと黄褐変ならびに照

射チロジンと Ehrlich 反応との間に特に相関的な関係がないことを認め、“チロジン→インドール化合物→有色物質”のコースとは合致しがたいと考察した。この実験中黄褐変の主因はむしろトリプトファンにあると推定できる事実が幾つかえられた。すなわち遊離トリプトファンは微量でもチロジンに比べて迅速かつ顕著に黄褐変すること、トリプトファンは光により速やかに分解すること、布上に固定したトリプトファンは照射により Ehrlich 反応陽性となる物質を生成することなどを認めた。

本研究の要旨は昭和31年繊維学会春季研究発表会で報告した。本研究は農林省応用研究補助金によって行った。

文 献

- 1) 小幡弥太郎・坂村貞雄；農化誌，27, 769 (1953)
- 2) 中条紀三；日蚕誌，23, 366 (1954)
- 3) 奥正巳；セリシン定着論，340 (昭16)
- 4) 岡本奨；絹の合成樹脂加工その他処理の研究中間報告 (昭28-29分) 農林省，7, (1955)
- 5) 吉田善一・加藤勝；工化誌，58, 667 (1955)
- 6) 例えば小幡・坂村；ibid.
- 7) 吉田善一・加藤勝；工化誌，58, 274 (1955)
- 8) 桐村二郎；ビオアッセイ集談会々誌，(1), 28 (1954)
- 9) G. R. Tristram: The Proteins (Neurath & Bailey) I, 220 (1953)
- 10) 赤堀四郎・水島三一郎；蛋白質化学 I, 155 (1954)
- 11) 岡本奨；本誌，10, 629 (1954)

リグニン化学討論会講演者募集

日 時： 昭和32年11月5日(火)

場 所： 紙パルプ会館 (東京・銀座)

申 込 要 項

1. 講演題目
2. 講演者名
3. 講演予定時間
4. 申込先……繊維学会宛
6. 申込締切……6月15日

主 催： 紙パルプ技術協会，高分子学会，木材学会，日本化学会，繊維学会