

リンゴ切断面褐変の化学教材化¹⁾

Cut Apple Surface Browning As a Chemical Teaching Material

北原晴男* ・ 鳴海安久* ・ 佐藤裕美*
Haruo KITAHARA Yasuhisa NARUMI Hiromi SATOH

(1996.9.24受理)

I. 論文要旨

《身近な素材を用いた化学実験》を目指して、教材の開発を行って来た²⁾。

今回、津軽において最も身近な物質であるリンゴに着目し、その切断面が時間の経過と共に褐色に変化する現象に興味を持ち、系の単純化と操作の簡便化による教材化を試み、知見が得られたので報告する。

II. はじめに

化学は、物質の本質や、物質の変化の仕方を調べ、人々の幸福に役立てるための科学の一分野である。また人々が快適な生活を営むため、地球上の有限な資源をもとに、衣食住のみならず医療・環境・エネルギー・情報・材料など、ありとあらゆる事柄の基礎を提供する役割を担っている。

例えば、人間の体と関係の深い生化学の分野では、多糖（デンプンなど）が注目され、医療・材料など多方面に利用されている。また人間の生活と関係の深い有機化学の最先端の研究では、不斉な炭素（4つの異なる原子あるいは原子団と結合している炭素原子）を創るため、一般になじみの深いパン酵母が用いられ、医療・情報・材料などに応用されている。

しかし化学が我々の生活とどのように関わっているかは、なかなか見えにくいところである。また一般に、「化学の実験」は〈特別な設備（実験室）〉で、〈薬品会社の試薬〉を用いて行われており、我々の日常生活とは懸け離れた、理解の困難なものと考えられがちである。

そこで我々は、化学が日々の生活と深く関わっていることを知ってもらうために、

1. 身近な材料を用いた化学実験の開発
2. 身近な現象の実験教材化
3. 実験操作の簡便さ

を目的として、この実験教材を企画した。

* 弘前大学教育学部自然科学科教室 Department of Natural Science, Faculty of Education, Hirosaki University.

Ⅲ. 戦 略 (Strategy)

化学が日々の生活と深く関わっていることを知ってもらうために、我々が生活している津軽（弘前）において最も身近な材料である「リンゴ」を用いて、良く目にする生命現象である「リンゴ切断面が褐色に変化する（褐変化）現象」を主題として教材化することとした（図1）。

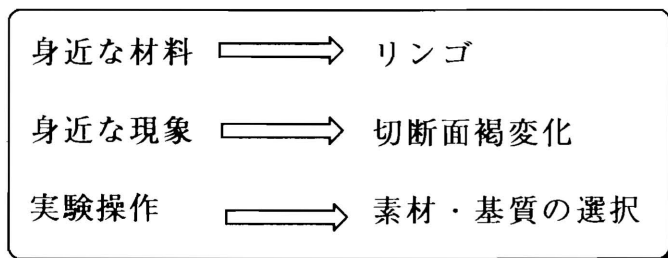


図1. 教材化の戦略

リンゴを切って置いておくと、数分から数十分の後に切断面が褐色に変化する。この現象は、カテキン（1, Catechin）などオルト位にジオールを持つポリフェノール（Polyphenol）類が酸素と酵素（ポリフェノール・オキシダーゼ, Polyphenol Oxidase, 消化酵素）によって酸化され、褐色を呈するキノン類（2, Quinone）に変化することによって起こる³⁾（図2）。

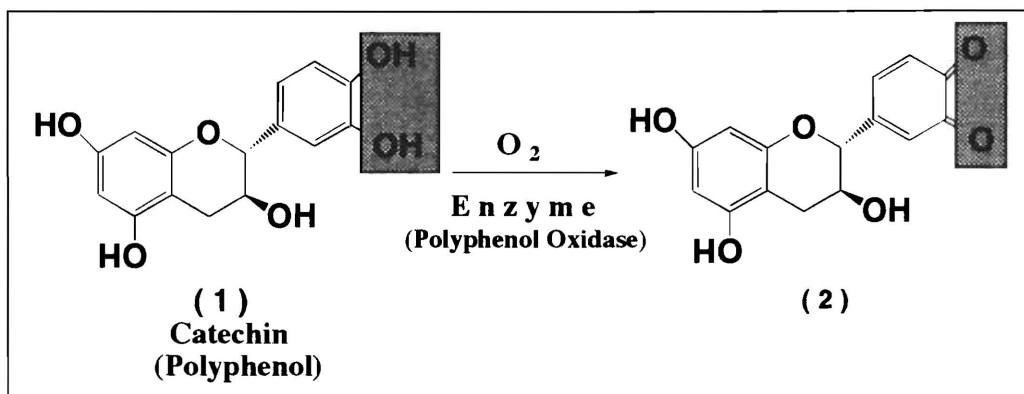


図2. 酵素と酸素によるポリフェノールの酸化

この現象は、図2に示すように、化学物質が深く関わっている。我々が身近に接する現象に化学物質が深く関わっていることを、小・中学校および高等学校の生徒に理解してもらうために、試験管の中でこの現象を再現することとした。

このためリンゴ褐変化の現象を教材化する過程で

- 1) 系の単純化（試薬の入手容易さと操作の簡便化）を計る
- 2) 化学構造の違いによる性質の違いを明確にする
- 3) 酵素と化学試薬の違いを明らかにすることとした。

1) 系の単純化 (試薬の入手容易さと操作の簡便さ)

小・中学校および高等学校で実験を行う場合、実験設備や実験予算が比較的少なく、限られた時間内 (45-50分) で実験を行うため、試薬の入手容易さと操作の簡便さが大きな問題となる。

そこで系の単純化を行うこととした。

すなわち生体物質であるカテキン (1) などポリフェノール類を直接用いるのではなく、購入価格が安く、カテキンと同様にオルト位に水酸基を有する 2 価フェノールであるカテコール (3, Cathechol) を基質に用いた (図 3)。

2) 化学構造と性質の違い

サリドマイド事件の例にあるように、化学物質は同じ炭素上でも置換基の結合位置が違うだけで、その性質は大きく異なってくる。このことを生徒達に理解してもらうために、カテコールと同じ 2 価のフェノール (ベンゼン環に 2 つの水酸基を持つ) で、結合位置が異なるヒドロキノン (4, Hydroquinone) とレゾルシノール (5, Resorcinol) を基質として用いた (図 3)。

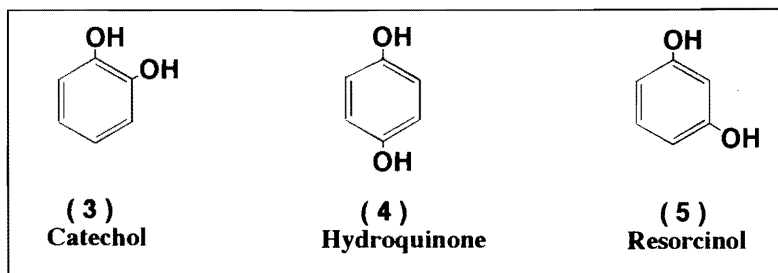


図 3. 基質として用いた 2 価フェノール

3) 酵素と酸化剤 (化学試薬) の違い

一般に酵素は、反応点がポケットのような形をしており、この形に合致しない基質は反応を受けないため、基質特異性が高いと考えられている。

一方、化学試薬は、基質に反応を受ける作用点があればどのような化合物も反応を受けるため、適応範囲が広いと考えられている。このことを理解してもらうために、3 種のフェノール類を基質に用いて、酵素反応と化学反応を比較検討することとした。

過去のポリフェノール・オキシダーゼを用いた教材例⁴⁾では図 4 及び図 5 の試薬・材料が用いられていた。

基 質：カテコール (3), フェノール (4, Phenol), 1,4-シクロヘキサ
ジオール (5, 1,4-Cyclohexanediol)
酸化剤：重クロム酸ナトリウム.
酵素液：ジャガイモをブレンダーですりつぶし、水溶液をろ過したもの.

図 4. 従来の実験例

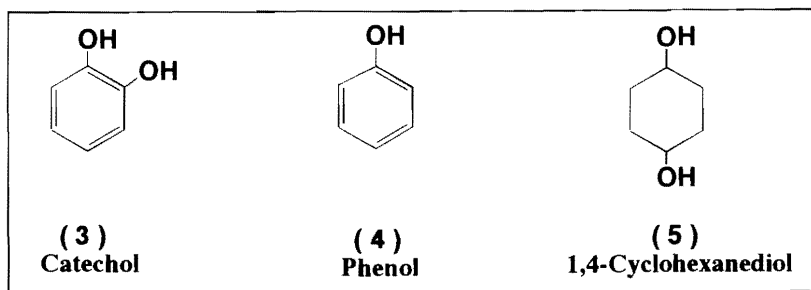


図 5. 文献で用いられた基質 (アルコール)

基質の構造を比較した場合、水酸基を持つことだけがカテコールとの共通性で、その他の構造の類似性は見られなかった (図 5)。このため酵素特異性があいまいだった。

また酸化剤は、濃度を種々変化させて検討したが、反応生成物の色は真っ黒となり、リンゴ切断面の褐色とは違っており、よい結果は得られなかった。また排水処理の点で問題があった。酵素液は文献に従って実験を行ったが、色の変化が激しく、反応前後での色の識別が困難であった。

Ⅳ. 実験及び結果

実験 1. 酵素による酸化

文献ではジャガイモをブレンダーですりつぶして酵素液としている。この方法で検討したが色の変化が激しく、反応前後での色の差が判別できなかった。

またリンゴをすりつぶし、同様の反応を行ったがジャガイモと同様の結果だった。

そこでリンゴ切断面あるいは切片を用いた酵素反応を検討した。

i) リンゴ切断面へのフェノール水溶液の滴下

リンゴ切断面に 0.1, 0.5 及び 1.0 mol/l のそれぞれカテコール水溶液数滴を滴下し、観察した。0.5 と 1.0 mol/l 水溶液を滴下したリンゴ切断面は瞬時に黒色に変化したが、0.1 mol/l では褐色を呈した (表 1)。

カテコールで良好な結果が得られたので、この濃度 (0.1 mol/l) を用いて、水、ヒドロキノン及びレゾルシノールについて、同様の操作を行い比較検討した。

結果は、予想どおり切断面の各滴下点に色の変化は見られず、無色透明のままだった (表 1)。

表 1. リンゴ切断面への基質の滴下

基 質	色
水 溶 液	変化なし
カテコール	黒 色
ヒドロキノン	変化なし
レゾルシノール	変化なし

ii) フェノール水溶液へのリンゴ切片の添加

5本の試験管にカテコールの1.0, 0.1, 0.01, 0.001及び0.0001mol/ℓ各水溶液をそれぞれ2ℓ加え、これに皮をむいた5mm角のリンゴ片を4～5粒ずつ添加し、10-15分間放置した。

1.0mol/ℓ水溶液は濃い褐色を示し、0.1mol/ℓ水溶液は褐色を呈し、残りの水溶液は薄い褐色であった。

カテコールで良い結果が得られた濃度(0.1mol/ℓ)で、水、ヒドロキノン及びレゾルシノールそれぞれの水溶液について同様の実験を行い、比較検討した。結果は期待した通り、色の変化は見られず、無色透明の溶液だった(表2)。

表2. 基質とリンゴ切片

基 質	色
水 溶 液	無色透明
カテコール	褐 色
ヒドロキノン	無色透明
レゾルシノール	無色透明

実験2. 酸化剤(化学試薬)の検討

i) 各種酸化剤の検討

カテコールを基質として、重クロム酸ナトリウム、過マンガン酸カリウム、過酸化水素水、二酸化マンガンを各種濃度で検討したが、望む褐変した溶液は得られなかった。

ii) 次亜塩素酸ナトリウムの検討

次亜塩素酸ナトリウム水溶液(和光純薬、化学用)の濃度はチオ硫酸滴定法を用いて1.764mol/ℓと決定した。

0.1mol/ℓカテコール水溶液2mlを基質とし、次亜塩素酸ナトリウムの1.764mol/ℓ水溶液を原液として、水で4種類に希釈した各溶液1mlを反応させた。その結果を表3に掲げた。

表3. カテコール水溶液と各種濃度での
次亜塩素酸ナトリウム水溶液との反応

希釈の割合(倍)	溶液の色
1(原液)	無色透明
10	黒褐色
30	深赤色
50	茶 色
100	褐 色

100倍希釈の次亜塩素酸ナトリウム水溶液で良い結果が得られたので、同じ濃度で水、ヒドロキノン及びレゾルシノールのそれぞれ0.1mol/ℓ水溶液について比較・検討を行った。

水は予想どおり無色透明の溶液であり、ヒドロキノン水溶液は期待通り赤褐色を呈した。

しかしレゾルシノール水溶液に変化は見られなかった。

そこで基質と試薬の濃度及び容量を変えて種々検討した。

その結果、レゾルシノール0.1mol/ℓ水溶液を1ml取り、50倍希釈の次亜塩素酸ナトリウム水溶液2mlを反応させたところ、望む褐色の溶液が得られた。

以上の結果を表4にまとめた。

表4. フェノール類と試薬の反応 (*基質1ml, 50倍希釈の試薬2ml。
他は100倍希釈の試薬1ml)

基質 (0.1mol/ℓ水溶液2ml)	溶液の色
水	無色透明
カテコール	褐色
ヒドロキノン	赤褐色
レゾルシノール*	褐色

V. 考 察

1) 実験1. 酵素による酸化

この実験では、酵素の基質特異性について検討を行った。リンゴなど果実の切断面が褐色に変化するの、カテキン(1)などオルト位にジオールを持つポリフェノール類がポリフェノール・オキシダーゼ(酵素)と酸素によって酸化され、褐色を呈するキノン類が生成するためである。

この酵素反応の本体は、オルト位にジオールを持つフェノール類がキノンに酸化されることにある。

この理由により、系を単純化して、オルト位にジオールを持つフェノール類であるカテコール(3)が酸素と酵素によって酸化されて褐色を呈し、一方同様の反応によってパラ位にジオールを持つヒドロキノン(4)やメタ位にジオールを持つレゾルシノール(5)が褐変しなければ、酵素の基質特異性が証明できたことになる。

酵素としては、過去の例ではジャガイモをすりつぶした溶液が用いられていたが、溶液の色の変化が激しく不適當であった。また基質として用いられた化合物は、カテキン(1)と類似性が乏しく、酵素の基質特異性を証明するには化合物の属性がかけ離れていた。

今回の我々の報告では、リンゴ切片を用いた実験1のi) ii) 共に、カテコール水溶液は褐色を呈し、ヒドロキノンやレゾルシノールのそれぞれ水溶液には変化が見られず無色透明のままであった。また基質として選んだ化合物は全て2価のフェノール類で類似性が大きく、同じ属性に含まれている。

このことにより酵素の基質特異性が証明できたと考えている。

2) 実験2. 酸化剤(化学試薬)による酸化

酵素と異なり、化学試薬は適応範囲が広いと考えられている。

化学試薬が酵素反応で酸化されない化合物を酸化すれば、化学試薬の広範囲な適応性を証明したことになる。

過去の例では、酸化反応生成物の溶液は真っ黒となってしまう、褐変とはかけ離れた色であった。また用いられた酸化剤は毒性を持ち、排水処理に問題があった。

今回の我々の報告では、カテコールとヒドロキノン共に褐色～赤褐色を示し、レゾルシノールも反応条件を変えることにより褐色を呈し、リンゴの切断面の褐変と同様の色を呈した。

また比較した化合物間での類似性は極めて高いものであった。

このことにより化学試薬は適応範囲が広いことが証明できたと考えている。

また今回用いられた酸化剤は過去に用いられたものより安全性に優れ、排水処理の点も問題がないと思われる。

リンゴ切断面褐変変化の教材化を検討し、得られた結果を教材のディレクションとして図6にまとめた。

試薬・材料

リンゴ、カテコール（和光純薬）、ヒドロキノン（和光純薬）、レゾルシノール（和光純薬）、次亜塩素酸ナトリウム溶液（和光純薬）

操 作

実験1 リンゴ切片へのフェノール水溶液の滴下

水およびフェノール類（カテコール、ヒドロキノン及びレゾルシノールのそれぞれ0.1mol/ℓ水溶液）を各2 mlのビベットを用いて数滴ずつ、リンゴ切断面の4カ所に滴下して結果を観察する。

実験2 フェノール水溶液へのリンゴ切片の添加

水およびフェノール類（カテコール、ヒドロキノン及びフェノールのそれぞれ0.1mol/ℓ水溶液）各2 mlを4本の試験官に入れる。これらの試験官に皮をむいた5mm角のリンゴ片4～5粒をそれぞれ加え、10・15分間放置したのち、結果を観察する。

実験3 化学試薬（次亜塩素酸ナトリウム水溶液）による酸化

実験2と同様に試験官4本に水および3種類のフェノール類を各2 ml（レゾルシノールは1 ml）入れ、100倍に希釈した次亜塩素酸ナトリウム溶液（レゾルシノールは50倍）をそれぞれ1 ml（レゾルシノールは2 ml）加え、10・15分間放置したのち、結果を観察する。

図6. リンゴ切断面褐変変化の化学実験のディレクション

本研究の特徴は以下の通りである

- 1) 身近な現象を試験管で再現した。
- 2) 身近な材料であるリンゴを用いて酵素反応を行った。
- 3) 基質の選択により、系の単純化と実験操作の簡略化を行った。
- 4) 酵素と試薬の酸化反応を対比させることによって、化学構造と性質の違いを明確にした。

以上の通り、『見近な材料』を用いた、『見近な現象』の教材化が達成できたと考えている。

謝 辞

最後に、本研究を行うにあたり、チオ硫酸滴定法をご教授頂いた本学理学部糠塚いそし氏に厚く御礼申し上げます。また分光光度計の測定にご協力頂いた本学教育学部加藤陽治氏に深謝致します。

文 献

- 1) 北原晴男・鳴海安久・佐藤裕美, 平成8年度 東北地区化学教育研究協議会(日本化学会 東北支部・日本化学会東北支部化学教育委員会主催, 青森県及び八戸市教育委員会後援, 10月, 八戸) 研究発表・講演要旨集, p.36.
- 2) 北原晴男・関向睦, 平成3年度 東北地区化学教育研究協議会(日本化学会東北支部・日本化学会化学教育専門委員会主催, 青森県及び弘前市教育委員会後援, 9月, 弘前) 研究発表・特別講演要旨集, p.4.
- 3) 田辺正行, りんごのすべてⅠ, 中村信吾編, p.219, 平成6年, エスケイケイ総合研究所 出版部.
- 4) 続実験による化学への招待, 日本化学会訳編, p.193, 1989年, 丸善.