

中性条件下での修飾酵素の特性とラミー繊維の改質

Chemically Modified Cellulase Treatment of Ramie Fabric under Neutral Conditions using an Air Jet Treatment Machine

菅井 實夫* 上甲 恭平** 林 壽郎***
Jitsuo Sugai Kyohei Joko Toshio Hayashi

荒井 基夫****
Motoo Arai

(2006年8月29日 受理)

Technological development of textile processing requires achievement of physical and environmental safety as well as value-added. As an application of enzymatic protein cellulase that is chemically modified with maleic acid methyl vinyl ether copolymer, treatment of ramie by MAMEC – a mixture of 60% modified and 40% non-modified – was attempted with boric buffer solution at neutral condition in an Air Jet Treatment Machine. The following results were acquired. 1) The ramie surface fluff is removed by MAMEC treatment. 2) The treatment softens rigid ramie fibers without strength loss because of the molecular size effect of MAMEC, which inhibits penetration into the fiber. Simultaneously, details of mechanism and characteristic effects caused by the high avicelase activity were studied through weight reduction behavior of ramie in MAMEC treatment and morphological observation of treated textiles and fibers.

キーワード：セルラーゼ，無水マレイン酸メチルビニルエーテル共重合体，化学修飾，酵素加工

1. はじめに

近年の繊維加工技術開発においては、作業員身体への安全性ならびに環境への安全性を確保した上での風合い加工など高付加価値化が必須とされ、酵素利用はその一環でもある。繊維加工における酵素利用は、アミラーゼによるのり抜き加工、セルラーゼによる綿セルロース系繊維の減量加工あるいはジーンズにおけるバイオウォッシュ加工に取り入れられてきた。また近年ではプロトペクチナーゼによる綿繊維のバイオ精練法なども実施されている。これまでに筆者らは、綿セルロースの加水分解酵素であるセルラーゼによる繊維表面の加工について種々の検討を行い、その中で酵素のセルロース繊維への作用を繊維表面に限定するために、

セルラーゼを無水マレイン酸メチルビニルエーテル共重合体により化学修飾し、分子サイズを大きくした酵素（以下修飾酵素とする）を調製し、この修飾酵素によるセルロース系繊維への作用について検討を行ってきた¹⁾。

検討の結果、同一の減量率で比較した場合、修飾酵素で処理した糸の強度低下が元の酵素で処理した糸のそれより常に低く抑えられることなどを見出し、我々は修飾酵素が繊維内部へ侵入し難く繊維表面に局在化するため、その減量作用が強度低下に寄与しない繊維表面に限定されるためであると考察した²⁾。その結果、この修飾酵素の一番の特徴は、被加工物の加工程度（より具体的には、加工の進行に伴う強度低下）を制御しやすい点であることがわかった。その後、この化学修飾セルラーゼの各種特性を検討する中で、修飾酵素をホウ酸系緩衝液で調整した中性浴で使用した場合にも、高いアビセラゼ活性（セルロースの結晶性が高い領域に作用できる能力の指標）を保持できることを見い

* 化学環境部 繊維応用系

** 京都女子大学 家政学部

*** 大阪府立大学名誉教授

**** 中部大学応用生物学部

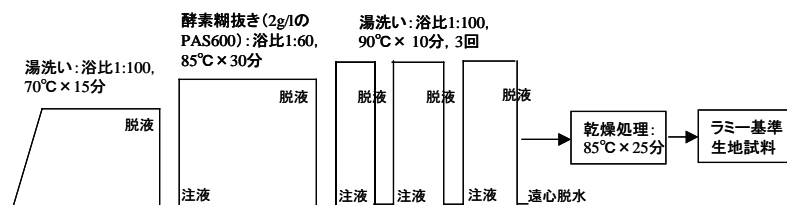


図1 実験に供したラミー生地の前処理方法

The pretreatment of a ramie cloth was performed according to the above procedure

だし、高結晶領域を綿より多く含むラミー繊維を用いて中性条件下で生地表面の毛羽取り処理および風合改質の可能性に言及した³⁾。ここでは修飾酵素のホウ酸緩衝液系でのラミー糸への作用挙動の詳細と、実機レベルの気液流染色加工機でのラミー生地の加工性を検討した結果について報告する。

2. 実験方法

(1) 修飾酵素の調製および繊維供試料の前処理

(A) 修飾酵素の調製

修飾酵素は、市販トリコデルマ・ピリデ系酸性セルラーゼ(セルライザー:ナガセ生化学工業(株))と、市販の無水マレイン酸メチルビニルエーテル共重合体(Gantrez AN119 (mw87,000): GAF Chemical Corp.)を既報の条件下で反応させることにより調製した²⁾。20℃, 24時間の反応で調製した修飾酵素の修飾率は約60%であった。このセルラーゼの化学修飾においては修飾と未修飾のセルラーゼを分離精製していないので、実験に使用した酵素はそれら両者が混在している。なお、以後の図表における英語表記においてはこの修飾酵素をMAMECと記す。また、酵素活性はソモギ・ネルソン法⁴⁾により測定した。

(B) 試験糸ならびに試験布の前処理

試験用の糸試料としては60番手精練ラミー双糸をそのまま用いた。また生地試料としては、入手したラミー100%生地(60番手単糸, 平織り)を図1に示した糊抜き処理手順により、図2に示した気液流染色加工機(CUT-MJ-25R(株)日阪製作所製)を用いて処理した。なおこの装置は薬液調整用の予熱槽を具備するとともに、熱による酵素の失活を防ぐためボイラー蒸気を直接缶体内に導入することなく、温調した熱交換パネルによる間接加熱方式での加熱が可能な、主として酵素加工に特化した実機レベルの試験加工機である。

糊抜き処理後に遠心脱水した生地は、85℃のタンブラー乾燥機(Asahi ANT2020)で25分間乾燥処理し、この生地を以下の酵素処理に用いる基準生地試料として用いた。

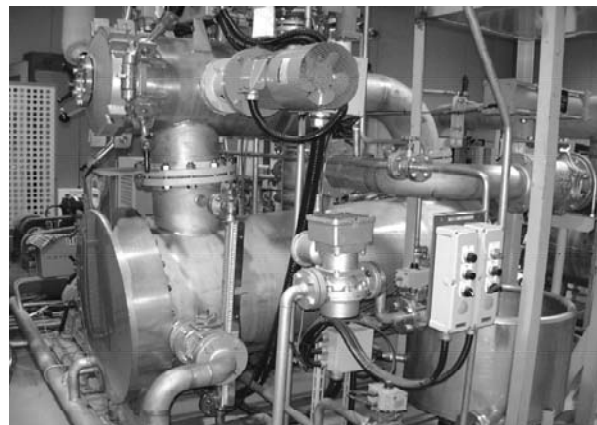


図2 気液流染色加工機 (CUT-MJ-25R)

Air jet treatment machine

(2) 酵素処理

pH8のホウ酸緩衝液に酢酸を添加し、pH7に調整した中性条件下⁵⁾の緩衝液系を調製し、気液流染色加工機によって以下の処理を行った。修飾酵素の場合は1.4g/l、元の酵素では2.0g/lの濃度で50℃×所定時間、浴比1:60で酵素処理を行った。サンプリングは所定時間毎に装置を停止し、生地長50cmずつ切り取り採取し、装置を再稼働した。所定時間毎にサンプリングした生地は、ワッシャーを用い、85℃×15分で酵素を失活させた。脱液後90℃の水を注入し、浴比1:100で10分間の湯洗いを、水を換え3回行った。生地は脱液の後、85℃のタンブラー乾燥機(Asahi ANT2020)で25分間乾燥処理した。

(3) 試験評価

(A) 形態観察

実体顕微鏡ならびに走査型電子顕微鏡((株)日本電子, JSM-TI100)を用い生地表面の毛羽状態を観察した。

(B) 生地の密度変化

生地のタテ糸方向ならびにヨコ糸方向のについてそれぞれ、単位インチ長当たりの本数を数え、本数変化から織密度変化を表した。

(C) 生地の減量率

生地の減量率については、実機での処理のため厳密な意味での減量率を求めることが困難なため、それぞれ各試料から正確に20cm角の生地を切り取り、20℃,

65 %RH で調整したのち、それぞれの生地重量の変化から計算した。

なお、「中性条件下での修飾酵素処理によるラミー糸の重量減少」および「酵素処理で生じる還元糖の生成量から換算したラミー糸の減量率」「中性条件下でのラミー糸の強度保持率」におけるラミー糸の酵素処理はビーカー試験で行った。

(D) 引張り試験

各生地試料からタテ糸を抜き取り、20 °C、65 %RH の恒温恒湿下で一週間水分率調整したのち同温湿度下でオートグラフ ((株)島津製作所製:AG-10kNG) を用い、糸長 20 cm、引張り速度 20 cm/min で測定し、強度伸度を求めた。測定本数はそれぞれ 30 本とした。

(E) KES 風合い試験

また加工後の生地試料を 20 °C、65 %RH の恒温恒湿下で 1 週間調整したのち同温湿度下で KES 風合い試験機(カトーテック(株);KES-FB システム)を用い、圧縮・曲げ・表面・せん断・引張りの各特性を測定した。

3. 実験結果と考察

(1) 中性条件下でのラミー糸の減量率

(A) 中性条件下での修飾酵素処理によるラミー糸の重量減少

1/20 M- ホウ酸緩衝液 (pH 8) に 1 M- 酢酸を添加し pH 7 に調整した緩衝液を用いて、修飾酵素 0.5 g/l と 1.4 g/l 濃度 (以下、修飾酵素の濃度は、セルライザーの量で換算した値であり、アビセラゼ活性値が等しい濃度) の溶液を調製した。また、同じ緩衝液で修飾酵素とのアビセラゼ活性値をそろえた元の酵素溶液 (セルライザー溶液) も調製した (本実験条件では 0.7 g/l ならびに 2.0 g/l 濃度に相当)。これらの酵素溶液を用い、50 ml の三角フラスコ中、浴比 1 : 40、40 °C の条件下、60 番手の精練ラミー糸を 240 分まで振とう処理した。その減量挙動を図 3 に示した。どちらの酵素も、低い濃度の場合の減量率は 1 % 弱、また、高い濃度の場合でも、1.2 % 弱の重量減少であった。この結果、アビセラゼ活性値をそろえた場合、修飾の有無にかかわらず同等の減量効果を示し、ラミー糸の減量率にはアビセラゼ活性が大きく影響していることがわかった。

(B) 酵素処理で生じる還元糖の生成量から換算したラミー糸の減量率

前記 (A) における酵素処理溶液中には、分解により生成した還元糖が存在しており、この還元糖量をネルソン-ソモギ法により測定し、その値から換算したラミー糸の減量率を図 4 に示した。図 4 における修飾酵

素 0.5 g/l ならびに元の酵素 0.7 g/l 処理では、重量減から求めた減量率 (図 3) との間に大きな開きが見られた。この差は、低い濃度でのラミー糸への酵素処理では、その減量率の多くは単に毛羽落ちとしての重量損失の表れとみなすことができることを示している。他方、修飾酵素 1.4 g/l ならびに元の酵素 2.0 g/l 濃度の処理では、ラミー糸の重量減少から測定した減量率との差が小さくなったことから、高濃度処理では単なる毛羽落ちに留まらず、処理時間とともにセルロースから還元糖を生成する分解作用がより進行している可能性が示唆された。

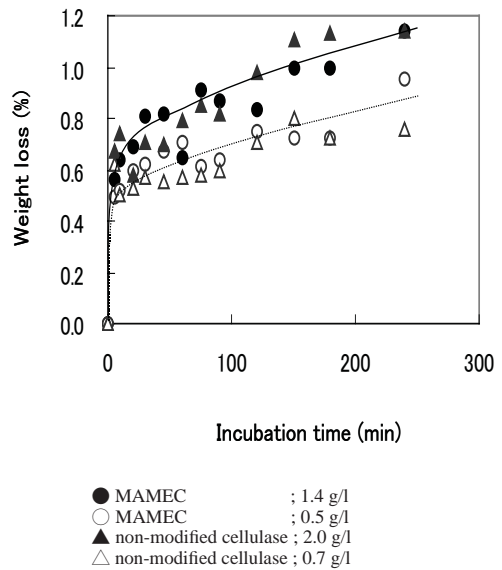


図 3 pH 7.0、40 °C の条件下、未修飾および修飾酵素で処理したラミー糸の減量率

The weight loss of ramie yarns treated with MAMEC and non-modified cellulase under condition of pH 7.0, 40 °C

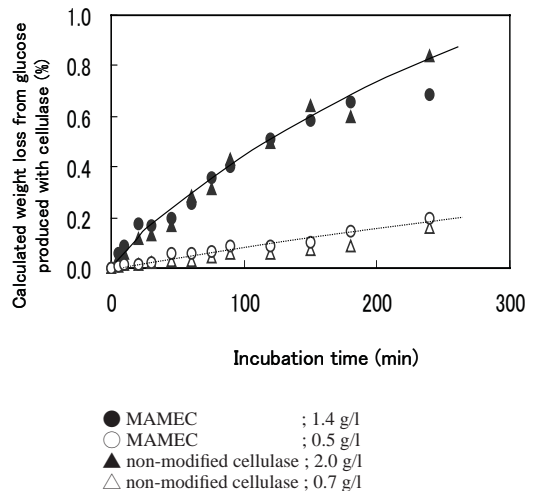


図 4 図 3 で示した酵素処理浴中に生成したグルコース量から換算したラミー糸の減量挙動

Calculated weight loss from glucose produced with cellulase in the bath referred in Fig.3

(C) 中性条件下でのラミー系の強度保持率

ラミー糸の強度保持率を図5に示す。図から、修飾酵素0.5 g/lならびに元の酵素処理0.7 g/l処理では、修飾酵素も元の酵素の場合も減量処理時間に対する強度保持率低下が緩やかであった。

他方、修飾酵素1.4 g/lならびに元の酵素2.0 g/l処理では、低い濃度での処理に比べて減量率の増加はわずかなのであるにもかかわらず明らかな強度低下が認められた。このことから、繊維の強度保持に大きく寄与するセルロース分子主鎖の分解が生じていることが強く示唆される。なおこの条件下において、修飾酵素処理では減量初期の段階から常に元の酵素処理よりも強度保持率を高く保持することができた。

この差については、(1) 修飾酵素はラミー繊維内部への浸透が抑制されるため、その加水分解作用が強度低下に寄与しないラミー繊維表面に優先して起こったこと⁵⁾、(2) 高分子量の修飾酵素が繊維表面に局在化することにより未修飾酵素の作用も抑制されたこと⁵⁾、などの作用が考えられる。しかし、低濃度酵素処理では、修飾酵素処理系と元の酵素処理系の強度保持性に差がなかったことから、中性条件下ではこれら(1)、(2)の作用機構の寄与は小さく、アビセラゼ活性とセルロース主鎖の非晶性領域においてランダムな分子鎖切断をするCMCアーゼ活性を示す酵素との作用バランス差が影響したことが示唆される。

すなわち、本実験では、pH 7でのアビセラゼ活性を揃えたが、このときのCMCアーゼ活性値の保持率/アビセラゼ活性値の保持率の値は、修飾酵素の場合は1.06 (85 % /80 %)、元の酵素の場合1.42 (50 % /35 %)であった。このことから元の酵素の方が、CMCアーゼ活性の比率が高い状態で酵素作用が生じたことがわかる。相対的に高いCMCアーゼ活性値を示す酵素作用による繊維の分解作用は、減量率の増加に伴う強度低下が大きい⁶⁾。したがって、特に高い酵素濃度の条件においては、元の酵素で処理した試料は、修飾酵素で処理の場合よりも減量率の程度に比べて、大きな繊維強度低下が生じたものと考えられる。

(2) ラミー生地の気液流染色加工機による酵素処理

一般的酵素のり抜き剤であるアミラーゼ製剤を使い、ラミー生地ののり抜き処理を行うと、図6に示すように生地表面には、顕著な毛羽立ちが生じる。この不要な毛羽立ちを除去し、さらに生地に柔らかさを与える風合い改質効果を得るため、酵素(セルラーゼ)加工を行う方法が考えられる。そこで修飾酵素の作用が織物物理特性としてどのように現れるかを検討した。その結果を、ラミー生地の織密度、厚み、見かけ重量変

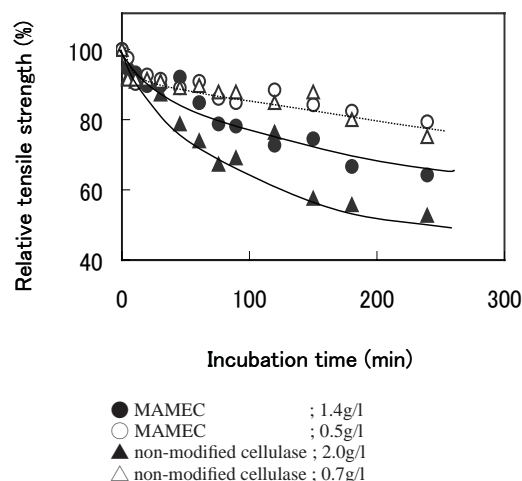


図5 未修飾および修飾酵素で処理したラミー糸の強度保持率

The relative tensile strength of ramie yarns treated with MAMEC and the non-modified under condition of pH 7.0, 40 °C

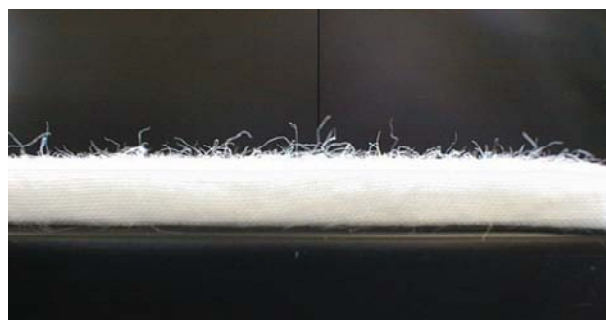


図6 酵素(アミラーゼ)糊抜き剤処理後のラミー生地表面。多くの毛羽立ちが生じている。

Fluff was raised after desizing with amylase treatment.

化から考察した。

まず酵素処理による生地の織密度変化と生地の厚み変化を計測した結果を図7に示した。図中、生地の織密度(本/インチ)は300本分の糸幅(インチ)を実測して求めた。また、生地の厚みは、KES圧縮試験機を用い、50 gf/cm²の圧力を加えた時の厚みT_m(mm)を計測した。図7からタテ糸密度ならびにヨコ糸密度ともに多少のバラツキは認められるものの、酵素が化学修飾の有無に関わらず、処理後のラミー生地の織密度変化は極めて少ないことが分かった。このとき生地厚み変化T_mを見ると、両酵素とも加工の初期段階でT_mがわずかに上昇し、その後緩やかに減少することが分かった。

そこで、織密度の変化がなかったものと仮定して、正確に20 cm角の試料片を切りだし、その重量変化から見かけの減量率を求め、その結果を図8に示した。150分時点では若干差があるものの200分までの範囲内では、両酵素による処理生地ともに、ほぼ等しい減

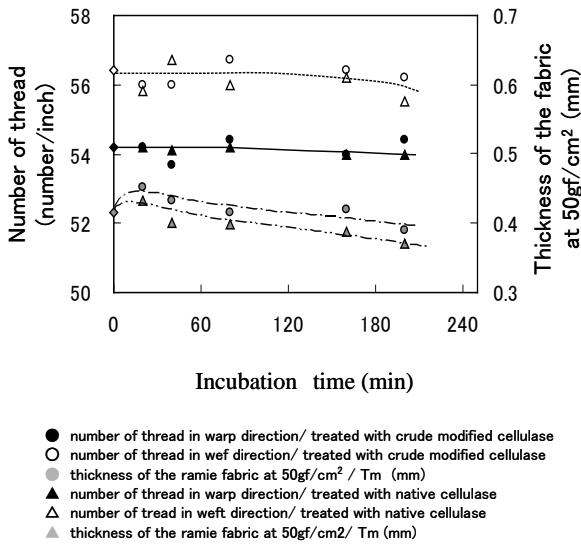


図7 酵素処理によるラミー生地の状態変化

The number of thread of ramie fabric and its thickness changes by enzymatic treatment

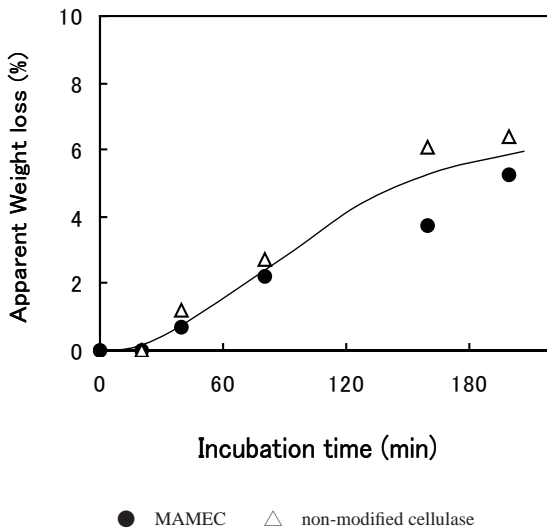


図8 気液流染色加工機を用い、修飾酵素で処理したラミー生地の見かけの減量率

Behavior of weight loss of the ramie fabric treated with air jet treatment machine with MAMEC and non-modified cellulase

量挙動を示した。

以上、工業生産において、この加工は生地の重量減少が若干伴うものの、織密度や厚みなど生地の物理的な基本特性には大きな影響を及ぼさない加工であることが分かる。

(3) ラミー生地表面の毛羽除去および織組織形態変化

次に、修飾酵素による減量処理後の、ラミー生地表面の毛羽状態の観察結果を図9ならびに図10に、糸一糸間の形態観察結果を図11に示す。これらの図から、酵素処理時間に伴い、生地表面ならびに糸間ともに、毛羽が除去されたことが分かる。また、このときの単繊維の表面写真を図12(a), (b), (c)に示した。修飾酵素

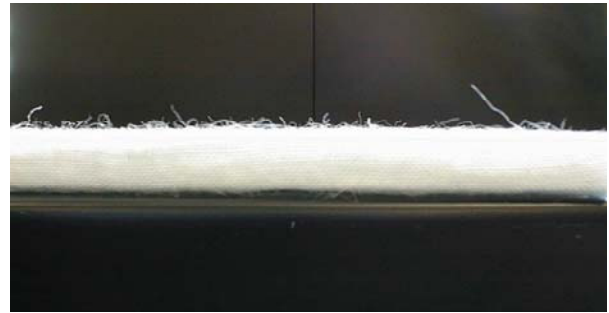


図9 pH 7.0, 50 °C の中性条件下、修飾酵素で40分処理したラミー生地の毛羽状態

Side view of the ramie fabric after treatment with MAMEC, at pH 7.0, 50 °C , 40 min



図10 pH 7.0, 50 °C の中性条件下、修飾酵素で200分処理したラミー生地の毛羽状態

Side view of the ramie fabric after treatment with MAMEC, at pH 7.0, 50 °C , 200 min

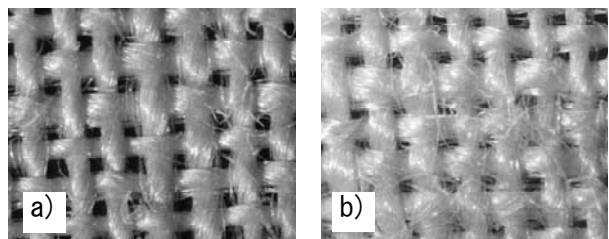


図11 修飾酵素で処理したラミー生地表面
a) 200分処理後 b) コントロール (基準試料)

200分の酵素処理で糸と糸の間にあった毛羽が除去された様子が明らかに分かる。

Surface view of the ramie fabric after treatment with a) MAMEC at pH 7.0, 50 °C , 200 min, b) control

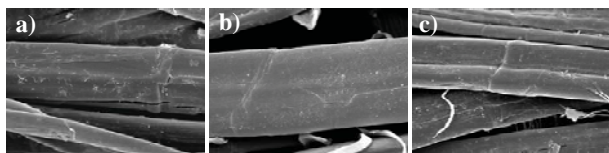


図12 200分の酵素処理をしたラミー繊維の表面
a) 修飾酵素での処理
b) 元の酵素での処理
c) コントロール (基準試料)

Surface view of the ramie fiber after treatment with a) MAMEC, b) non-modified cellulase at pH 7.0, 50 °C , 200 min and c) control

で 200 分処理したラミー生地繊維 (図 12(a)) は、酵素処理による顕著な変化は認めなかったが、元の酵素で処理した場合には、図 12(b) に示したように繊維表面の凹凸感が減少した。なお、元の酵素で処理した生地の場合、修飾酵素処理布と比較して、若干毛羽の除去速度が速いことを確認している。

(4) 繊維強度への影響

次に酵素作用が繊維強度に及ぼした影響を調べるため、生地からたて糸を抜き取り、その強度保持率変化を求め図 13 に示した。横軸は見かけの減量率をとり、縦軸には強度保持率を示した。図から元の酵素による処理布の糸強度は、酵素処理の初期段階から急速に低下していることが分かる。他方、修飾酵素で処理した場合、酵素処理の初期段階からの強度低下は緩やかで、この実験範囲内において、常に元の酵素で処理した糸の強度保持率を上回っており、物理的な損傷が抑制されていることが分かった。これは先に、ホウ酸で pH 7.0 に調整した系では、元の酵素は、修飾酵素と比べて、CMC アーゼ活性の比率が高い状態で酵素作用が生じていることを述べた²⁾が、CMC-アーゼ活性を示す endo-型セルラーゼの作用による繊維の分解は、繊維の減量率の増加に伴う強度低下が exo-型セルラーゼの場合よりも大きくなる³⁾ことから、ラミー糸を元の酵素で処理した場合、修飾酵素で処理した場合よりも、大きな繊維強度低下が生じたと考えられる。今回の染色加工実機を用いたラミー生地の処理についても、同様の挙動を示したものと考える。

以上の変化をきたしたラミー生地は、KES 試験機で測定すると、例えば図 14 に示すような挙動を示した。図は横軸に曲げ剛さをとり、縦軸に曲げヒステリシス (2HB/B; Residual Curvature) を示した。図中の数字は酵素処理時間である。酵素処理した生地の曲げヒステリシスは基準布と比べ、すべて低い値をとっており、曲げ歪みが減少し、生地の曲げ反発性 (回復性) が向上していることが分かる。

曲げ反発性を向上させる作用は、修飾酵素で処理したラミー生地の方が元の酵素処理した生地よりも若干強く現れた。またこのとき、曲げ剛さの変化を見ると、元の酵素処理の場合、矢印で示したように、長時間の酵素処理で曲げ柔らかさが大きく増すことがわかった。これらの結果から、ホウ酸で調整した中性条件下での修飾酵素によるラミー布処理は、生地の強度低下を制御しやすく、かつ毛羽除去についても有効な処理ができることがわかった。またこのとき、処理布の風合い特性も変化させることがわかった。しかしながら、ラミーなどの麻繊維製品は、麻繊維のもつ特異な反発性

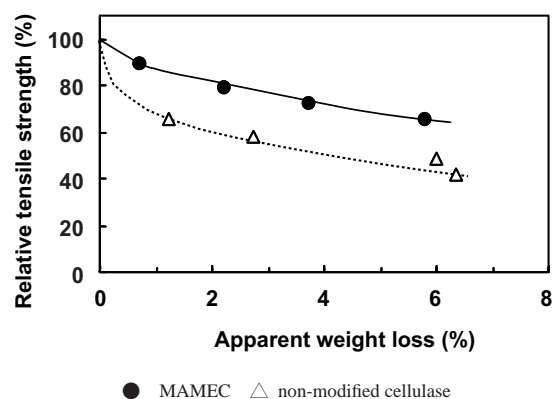


図 13 pH 7.0, 50 °C の条件下、修飾酵素で処理したラミー生地から抜き取った糸の相対強度保持率変化

The relative breaking strength of ramie yarns from fabric treated by MAMEC and non-modified cellulase under condition of pH 7.0, 50 °C

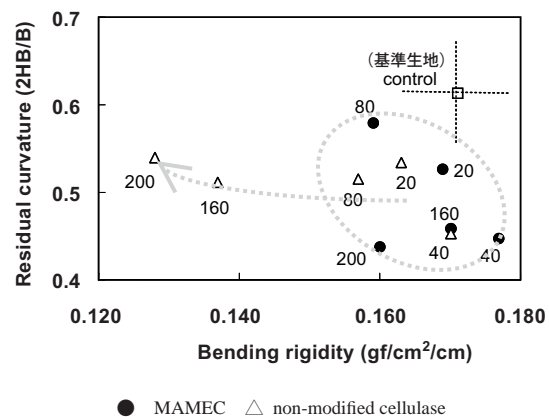


図 14 酵素処理によるラミー生地の曲げ特性変化
Bending properties of ramie fabric after enzymatic treatment

(弾性) が評価される生地でもあることから、実際の加工現場では、必要とする毛羽除去程度と風合い変化 (柔らかい特性が強まる) ならびに強度保持のバランスを考慮したうえで加工を行う必要があり、さらにそれぞれの機械毎のファクター (機構、スピード、容量等) を考慮し、基礎データを取った上で処方を検討する必要がある。

4. あとがき

綿よりも多くのセルロース高分子結晶領域を含むラミーをホウ酸系緩衝液で調整した中性浴で修飾酵素処理し、重量変化と強度変化を求めた結果、修飾酵素が有するアビラーゼ活性がラミーの毛羽除去および繊維の柔軟化加工として有効に作用することを示した。

また、同条件で実機レベルの気液流染色加工機でのラミー生地の加工を試みた結果、強度、厚み、寸法変化とも実用的には問題のない範囲内で、毛羽も少なく

柔軟な生地加工することができた。

参考文献

- 1) 上甲恭平, 菅井實夫, 木村和臣, 林 壽郎, 荒井基夫 : 繊維学会誌, **56**, 10, (2000) p.473
- 2) 菅井實夫, 上甲恭平, 林 壽郎, 荒井基夫 : 繊維学会誌, **58**, 12 (2002) p.466
- 3) 菅井實夫:大阪府立産業技術総合研究所報告, No.18 (2004) p.39
- 4) Somogyi, M., Notes on Sugar Determination: J. Biol. Chem., **195** (1952) p. 19
- 5) 菅井實夫, 上甲恭平, 林 壽郎, 荒井基夫 : 繊維学会誌, **60**, 1 (2004) p.50
- 6) E. Hoshino, M. Nomura, M. Takai, M. Okazaki, K. Nishizawa, and T. Kanda: J. of Fermentation and Bioengineering, **77**, 5 (1994) p.496