

繊維産業における酵素とバイオウォッシュ加工

Enzymes and biowashing process in textile industry

奇 昇美・駒城 素子

Seungmi KI and Motoko KOMAKI

(お茶の水女子大学大学院 人間文化研究科 ライフサイエンス専攻)

1. 繊維産業における酵素利用

(1) 精練と漂白

綿布を効果的に染色・加工する前に施す工程には糊抜き(desizing), 精練(scouring), 漂白(bleaching)の3つがある。いずれの工程においても水の節約, 環境への配慮などの利点から近年は酵素が使われている。糊抜きは布を織るときに糸切れや毛羽立ちを除く目的で塗布される糊の除去に α -アミラーゼを用いることでよく知られている。酵素を用いて精練する時に, 非イオン界面活性剤を添加する事によって繊維の表面張力を下げ, 繊維の微細孔(micropores)に酵素が入りやすくなり, 精練効果が増加する。また酵素が生産する過酸化水素による漂白過程においては, 空気の供給と深い関係があり, 酵素濃度が高いほど過酸化水素の生産量が安定になる²⁾。

(2) インジゴデニムのバイオウォッシュ加工

繊維産業における酵素利用の多くは, インジゴデニムに古着の風合いを出す目的である。砂や軽石でデニム表面を擦りインジゴ染料を落とす伝統的な方法(stonewashing)に比べ, セルラーゼを用いる方法(biowashing)は, 摩擦による生地への損傷がなく, 低コストで生産効率が高い利点を持つ。しかし, 酵素処理によってインジゴデニムから脱離したインジゴ染料がデニム裏の白い緯糸を汚染するいわゆる逆汚染 (backstaining)が問題とされている。

2. バイオウォッシュ加工とセルラーゼの性質

(1) セルラーゼの吸/脱着とCBD

酵素によるセルロース加水分解は, セルロース基質表面にセルラーゼが優先的に吸着して生ずる。セルロースにおけるセルラーゼの吸着メカニズムはCBD (cellulose binding domains; セルロース結合部位) が深く関係していることが明らかにされている。しかし, CBDの種類や核の有無によって吸/脱着の量が異なり, 酵素活性にはCBDの存在よりは機械力の影響が大きい。これは円盤5枚 42 rpmで攪拌するRotawash machine処理と, 125 rpmで振とうするShaker処理とを比較し, 前者の方の吸着量が多くなる結果(Table1)¹⁾から判明した。セルラーゼはセルロースよりむしろインジゴとの結合性が強く, 天然セルラーゼ, 遺

伝子組換え技術による人工セルラーゼ(EG I, EG II, CBH I, CBD II)とも同じ傾向を示した。またタンパク質吸着量とインジゴ研磨能力(abrasive activity)との関連性は高くない⁵⁾。

(2) 酵素活性と減量率

活性はセルロースを加水分解する能力で, その高低は酵素が基質であるセルロースを分解する速度(反応速度)を意味する。Helena Azevedoらは, CBDの有無よりはセルラーゼの種類によって減量率が異なったため, 減量が起こらないCenA, CenA coreに関して末端基の分析を行った。その結果, 末端基の量が大きいことが明らかになり, 酵素活性とタンパク質分解を同じく考えてはならないという結論を導いた¹⁾。また Alexander V. Gusakovらは, 酵素構造モデル SWISS-MODEL protein modeling programを利用して, 酵素の構造を3次元解析し, セルラーゼの分解能力には芳香族残基(Tyr, Trp, Phe)の役割が大きく関係するという報告を行っている⁵⁾。

Table 1

Values of percentage of protein(\pm maximum error in protein determination) adsorbed after dilution with buffer(1:2) for the four proteins, using high level of mechanical agitation (Rotawash machine, 5 discs, 40 rpm, 50°C) and low level of mechanical agitation (Shaker bath, 125 rpm, 50°C)

Protein	Rotawash	Shaker
EGV		
Adsorbed	2 \pm 4	0
Desorbed	2 \pm 1	-
EGV core		
Adsorbed	2 \pm 4	0
Desorbed	2 \pm 1	-
CenA		
Adsorbed	78 \pm 4	47 \pm 4
Desorbed	21 \pm 1	17 \pm 1
Cen core		
Adsorbed	27 \pm 4	47 \pm 4
Desorbed	27 \pm 1	5 \pm 1

3. バイオウォッシュ加工の応用

(1) 軽石への酵素固定

セルラーゼは液体で使われるためセルラーゼとセルロース, セルラーゼとインジゴの親和性によって逆汚染が起こる。この問題を解決するために

酵素の固定化 (immobilized cellulases)が研究されている。Nurdan Kasikara Pazarliogluらは、バイオウオッシュ加工に用いる軽石 (pumice)に酵素を固定化する方法 (MP; modified pumice) について① 350°C オープンで乾燥, ② α -aminopropyltrithoxysilane (γ -APTS)処理, ③ $ZrOCl_2$ 処理の方法を比較した結果, $ZrOCl_2$ 処理が最も有効であった。また $ZrOCl_2$ 処理時間 15 分で相対活性が 80% 近くになり, 30 分以上では 80% でほとんど変化が生じない。このことについて, 基質表面の酵素が飽和状態になるためと推測している。また MP 濃度 1g/L で最大効果を示し, 遊離酵素 (FE; free enzymes) と比べてデニムのインジゴ染料脱着とともに逆汚染を防ぐ傾向を示した⁷⁾。

(2) ラッカーゼ (laccases)

ラッカーゼは, ウルシ等の植物や動物に広く存在する酵素で, 酵素存在下でフェノール類, アニリン類を酸化する。最近では食品産業からの廃棄物 (Barley bran; 麩) からラッカーゼを生産する方法の研究が進められている。インジゴデニム生地における酵素使用は, stonewashing 加工同様の効果を得ながら工業用廃水の減少に役立つとされている。人工ラッカーゼを用いて廃水中のインジゴ粒子を脱着させるメカニズムについて, ラッカーゼが Indigo \rightarrow Isatin \rightarrow Anthranilic acid に分解するメカニズムに関する報告がされている (Fig.1)。インジゴ吸/脱着とインジゴ粒子の大きさとの関連性について研究した結果, ラッカーゼの種類や酸化還元仲介物質種類によってインジゴ脱色度が異なり, 特に *T.hirsute* からなるラッカーゼと酸化還元仲介物質 Acetosyringone (ACS) の混合系における効果が最も高かった³⁾。またラッカーゼはインジゴ以外の合成染料に対しても脱色効果があると報告されている⁴⁾。

4. 酵素の熱安定性と保存

酵素安定性について噴霧乾燥法 (spray drying) を利用した研究がされている。噴霧乾燥は液体原料を熱風中に噴霧分散させ, 微粒状乾燥製品を得る乾燥法で, 5~30 秒の短時間で乾燥させるため熱変性を受けにくい利点を持つ。熱安定性について Carboxymethylcellulose (CMC), β -glucosidase activity, filter paper activity (FP) (total cellulases activity) について調べた結果, β -glucosidase activity, FP が類似した傾向を現すが, β -glucosidase activity が最も熱の影響を受けやすい。また噴霧乾燥 (spray drying) によって粉末化された酵素は, Polyethylene glycol (PEG) と Maltodextrin (MD) を添加することで 8 ヶ月間安定性を示す。また仲介物質 (media) の添加によって酵素活性が改善さ

れた。噴霧乾燥を試した PEG と MD の効果について比較した結果, 添加剤を入れないで inlet-outlet やノズルの温度を低くする方法が適当である。酵素保存において噴霧乾燥が効果的で, 仲介物質を加えると酵素活性が長期間保存しても失われなかった⁴⁾。

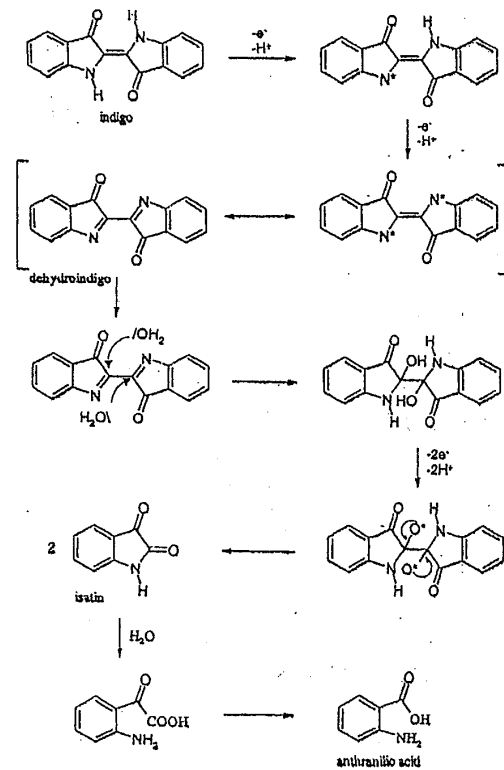


Fig.1. A possible mechanism for laccase catalyzed degradation of indigo dye.

【引用文献】

- Effects of agitation level on the adsorption, desorption, and activities on cotton fabrics of full length and core domains of EGV (*Humicola insolens*) and CenA (*Cellulomonas fimi*), Helena Azevedo et al, *Enzyme and Microbial Technology*, **27**, 325-329 (2000)
- Bio-preparation of cotton fabrics, Tzanko Tzanov et al, *Enzyme and Microbial Technology*, **29**, 357-362 (2001)
- Indigo degradation with purified laccases from *Trametes hirsute* and *Sclerotium rolfsii*, R. Campos, A. Kandelbauer et al, *J. Biotech.*, **89**, 131-139 (2001)
- Stabilization of *Penicillium occitanis* cellulases by spray drying in presence of Maltodextrin, Hafedh Belghith et al, *Enzyme and Microbial Technology*, **28**, 253-258 (2001)
- Study of protein adsorption on indigo particles confirms the existence of enzyme-indigo interaction sites in cellulase molecules, Alexander V. Gusakov et al, *J. Biotech.*, **87**, 83-90, (2001)
- Exploitation of a waste from the brewing industry for laccase production by two *Trametes* species, S. Rodriguez Couto, E. Rosales et al, *J. Food Engineering*, **64**, 423-428 (2004)
- Treating denim fabrics with immobilized commercial cellulases, Nurdan Kasikara Pazarlioglu et al, *Process Biochemistry*, **40**, 767-771 (2005)