

## 酵素による羊毛繊維の可溶化とタンパク抽出

## Solubilization and Extraction of Wool Fabric with Enzymes

ライフサイエンス専攻 0240450 田中 弥江 Mie TANAKA

## 1. 背景・目的

羊毛は代表的な天然繊維であり、その優れた性質から多種多様な分野で用いられているが、羊毛のリサイクル方法はいまだ確立されておらず、現在廃棄される羊毛の多くは、埋め立て・焼却処分され問題視されている。しかし、羊毛の主成分はタンパク質であるため、そのタンパク質を可溶化し、抽出することができれば貴重なタンパク源として各種のリサイクルが見込まれる。本研究では、低エネルギーで環境負荷が小さいことから近年注目されている酵素を用い、羊毛を酵素触媒反応を用いて可溶化しタンパクを抽出することを目的とした。また、抽出されたタンパクの分子量に着目し、羊毛の溶解率との関係について検討した。

## 2. 実験

羊毛はウールモスリンの堅牢度試験用添付白布を約 10×10cm (約 1g) に裁断して用いた。試薬はすべて特級を用いた。

## 2-1 羊毛の前処理

## i) 試薬

ラウリル硫酸ナトリウム (以下 SDS とする)、チオグリコール酸アンモニウム (以下 TGA とする)

## ii) 実験方法

羊毛は繊維絶乾重量を測定後使用した。前処理には、界面活性剤 SDS、還元剤 TGA を用いた。7g/L SDS 溶液、5g/L TGA 溶液、7g/L SDS-5g/L TGA 混合溶液を調製し、処理温度 90℃、処理時間 1 h、浴比 1:50 の条件で羊毛の前処理を行った。前処理後、羊毛を 10 分間流水で洗浄し、表面に付着した SDS と TGA を除去した。

## 2-2 酵素処理

## i) 試薬

プロテアーゼ (ビオプラーゼ APL-30; ナガセケムテック株式会社)、リン酸二水素カリウム-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH 7)

## ii) 実験方法

酵素溶液はリン酸二水素カリウム-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH 7) を用いて 4 g/L に調製し、処理温度 50℃、処理時間 0~28h、浴比 1:75 の条件で、羊毛の酵素処理を行った。定められた処理時間後に順次タンパク・アミノ酸定量のためのサンプル溶液 1mL を採取した。また各処理時間の羊毛の繊維絶乾

重量を測定し、次式より溶解率を算出した。

$$\text{溶解率(\%)} = 100 - \frac{\text{酵素処理後の繊維絶乾重量(g)}}{\text{処理前の繊維絶乾重量(g)}} \times 100$$

## 2-3 タンパク・アミノ酸定量

分子量 3000 以上のタンパクの定量は、ブラッドフォード法により行い、基準物質には牛血清アルブミン (BSA) を用いた。分子量 1000 以下のアミノ酸の定量は、ニンヒドリンによる比色定量法により行い、基準物質にはロイシンを用いた。

## 3. 結果と考察

## 3-1 タンパク溶解量

Fig.1 は、TGA 溶液、SDS 溶液、SDS-TGA 混合溶液を用いて前処理し酵素処理した羊毛について、処理時間とタンパク抽出量 (高分子量抽出物; 分子量 3000 以上) の関係を示したものである。TGA のみで前処理した羊毛の場合、酵素処理を行っても分子量の大きいタンパクは抽出されなかった。SDS 溶液で前処理した場合、酵素処理時間 1 h でタンパク量は約 0.02 mg/mL に達し、その後はほぼ一定値となった。一方、SDS-TGA 混合溶液で前処理した場合、タンパク抽出量は酵素処理開始から 2 h まで急激に増加し、その後は緩やかな増加傾向を示した。そして酵素処理時間 25 h でタンパク量は約 0.15 mg/mL に達し、3つの前処理方法の中で最もタンパク抽出量が大きくなった。

これらの結果から、TGA で前処理をすると、羊毛タンパクに含まれる S-S 結合が切断され、羊毛が膨潤しやすくなることで酵素反応が促進されると考え

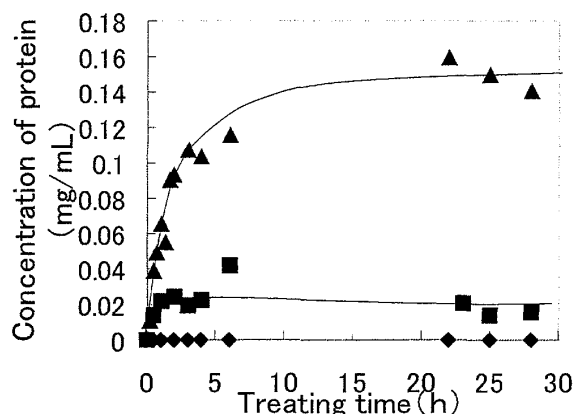


Fig.1 Plots of amount of extracted protein vs. enzyme treating time. ◆:TGA, ■:SDS, ▲:SDS/TGA.

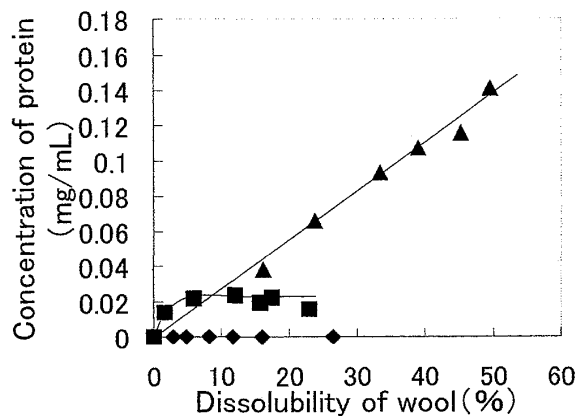


Fig.2 Plots of amount of extracted protein vs. dissolubility of wool fabric.

◆:TGA, ■:SDS, ▲:SDS/TGA.

られるが、タンパク抽出への寄与はないことがわかった。一方、SDS で前処理した場合、TGA を用いるよりもタンパク抽出量が大きくなったのは、SDS が羊毛繊維内部の CMC (細胞膜複合体) の脂質部分に結合し、結合した SDS 同士の静電的反発力によって CMC が膨潤し、酵素が繊維内部に拡散しやすい状態になり、酵素反応が促進したためと考えられる。SDS-TGA 混合液で前処理すると、SDS は CMC への吸着に加え、シスチン結合 (S-S 結合) が TGA により切断され生じた-SH 基に-S-SDS となって結合するものと考えられる。これにより、-SH 基は安定化し、S-S の架橋結合の開裂が保たれることにより羊毛が膨潤しやすくなり、タンパク抽出量が著しく増加したものと考えられる。

Fig.2 は、羊毛の溶解率に対するタンパク抽出量の関係を示したものである。SDS 溶液で前処理した場合は溶解率約 6% でタンパク抽出量はほぼ一定値になった。羊毛の溶解が進行してもタンパク抽出量が飽和を示すことから、抽出されるタンパクの分子量は 3000 以下の低分子であることが推測される。一方、SDS-TGA 混合溶液で前処理した場合は、溶解率とともに抽出タンパク量は増大した。これは、SDS-還元剤混合溶液の前処理によって羊毛繊維がより膨潤した組織となり、酵素が繊維内部を効率良く加水分解したことによって、比較的分子量の大きいタンパクが多量に溶出したものと考えられる。

### 3-2 アミノ酸溶解量

Fig.3 は、TGA, SDS 溶液, SDS-TGA 混合溶液を用いて前処理し酵素処理をした羊毛について、酵素処理時間とアミノ酸抽出量 (低分子抽出物; 分子量 1000 以下) の関係を示したものである。TGA および SDS で前処理した場合、酵素処理時間 25 h でアミノ酸抽出量はともに約 14 mM となりほぼ等しくなった。SDS-TGA 混合溶液で前処理した場合、酵素処理時間 25 h でアミノ酸抽出量は約 21 mM

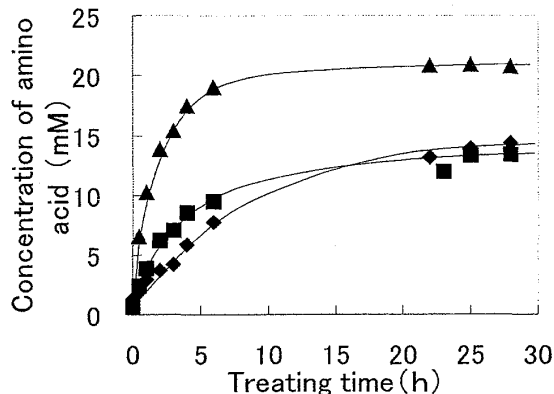


Fig.3 Plots of amount of extracted amino acid ( $M_w < 1000$ ) vs. enzyme treating time.

◆:TGA, ■:SDS, ▲:SDS/TGA.

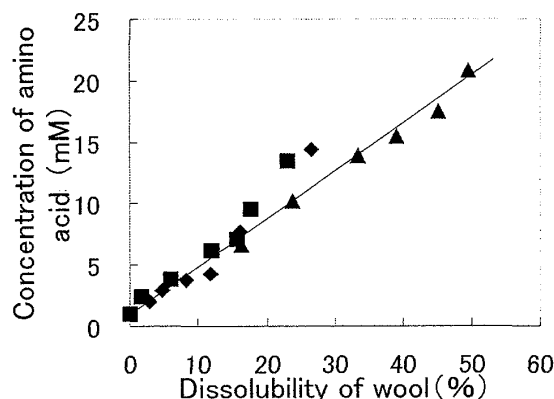


Fig.4 Plots of amount of extracted amino acid ( $M_w < 1000$ ) vs. dissolubility of wool fabric.

◆:TGA, ■:SDS, ▲:SDS/TGA.

となり最も抽出量が多くなった。これは、タンパク抽出の場合と同様に、S-S 結合の切断および-SH 基の保護による羊毛繊維の膨潤と SDS の吸着による CMC の膨潤に起因する酵素反応の促進が要因と考えられる。

Fig.4 は、羊毛の溶解率に対するアミノ酸抽出量を示したものである。前処理溶液の種類によらず、アミノ酸抽出量は羊毛の溶解率とともに増加した。このことから、比較的分子量の小さいアミノ酸は、S-S 結合の切断や SDS の結合・吸着による羊毛の膨潤の程度に関わらず羊毛が溶解するに従って抽出されることが明らかになった。

## 4. 謝辞

本研究にあたり御指導いただきました大阪市立工業研究所吉村由利香先生に深く感謝申し上げます。

### 【発表状況】

- 1) 生活工学研究, 4(2), 274 (2002).
- 2) 生活工学研究, 5(1), 110 (2003).
- 3) 繊維学会予稿集, 58(1), 290 (2003).
- 4) 生活工学研究, 6(1), (2004), 2 報.

(指導教官 仲西 正)