

インジゴ移染におよぼすセルラーゼの影響 Effect of Cellulase on Indigo Backstaining

王 丹, 駒城素子

Dang WANG, Motoko KOMAKI,
お茶の水女子大学, ライフサイエンス専攻

1. はじめに

セルラーゼによるジーンズのバイオウォッシュ加工において、染色糸（縦糸）のインジゴが脱落して未染色糸（横糸）を青く染める傾向がある。この原因について、白糸汚染は基質に結合している酵素に対するインジゴの結合力 (Cavaco-Paulo ら)¹⁾、酵素の吸着能力 (Gusakov ら)²⁾ があげられている。インジゴの汚染を防止するにはプロテアーゼ併用が有効である (Compos)³⁾ などが報告されている。また都甲⁴⁾ は、白糸汚染の促進には、酵素がセルロースとインジゴ間でバインダーとしての役割を果たしていることを明らかにした。

そこでセルロースへの吸着部位の有無や、活性 pH 域の異なるセルラーゼ数種類を選択し、綿繊維への吸着量とインジゴ汚染量の関係から、実際系における酵素/インジゴ/セルロース三者がどのように関わるかについて調べ、若干の知見を得たので報告する。

2. 綿布への酵素吸着量とインジゴ汚染量の関係^{5) 6)}

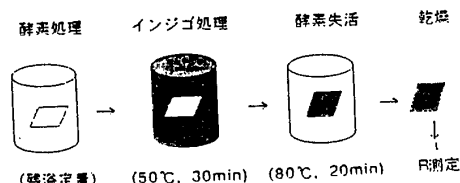
<実験>

○ 酵素 (セルラーゼ) : Novozymes A/S 提供

酵素の種類	名称	CBDの有無	至適 pH	備考
多成分	CL	○	5	バイオポリッシング用 <i>Trichoderma Viride</i> 由来
単一成分	C5	○	5	C4のアミノ酸残基変化毛羽除去効果が高い
	C4	○	7	
	C3	×	7	

- 試料布 : 綿ブロード白布 (40 番手, 精練済)
- インジゴ分散液 : 市販デニム (倉敷紡績) を水 (浴比 1 : 50) で攪拌処理して、インジゴの脱離液を調製 (標準品から算出した濃度 : 0.06g/L, 界面活性剤含有)
- 処理条件 : 酵素濃度 0~6g/L, 浴比 ; 1 : 50, 50℃, 攪拌 100rpm, 30分.
- 定量 : a. 白布への酵素吸着量 : 色素結合法 (Coomassie Brilliant Blue 法 (CBB 法)) で定量. b. 白布へのインジゴ染着量 : 660nm 表面反射率 (R) 測定から Kubelka-Munk 式により、算出した K/S.

○ 手順 :



<結果と考察>

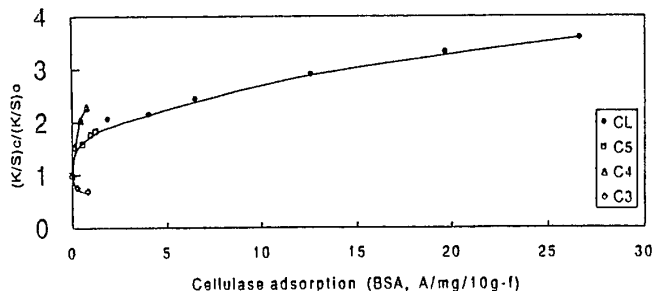


Fig1 Adsorption of Indigo and Cellulases on cotton fabric

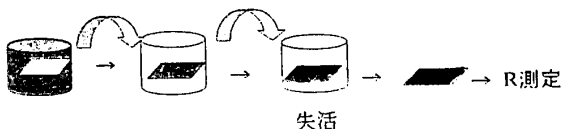
4 種類の酵素の吸着量とインジゴ汚染量の関係 (Fig.1) から次のことが明らかになった。

- (1) セルロースへの吸着部位 (CBD:Cellulose Binding Domain) を持たない酵素(C3)でも綿布へ吸着する。しかしインジゴの汚染を促進することはなく、むしろ抑制する。
- (2) CBD を有する酵素 (CL, C5, C4) では、吸着量の増加に伴い、インジゴの染着量も増える。
- (3) 酸性酵素 (CL,C5) では、単一成分 (C5) が多成分 (CL) に関わらず酵素吸着量とインジゴ染着量の間に関係がある。
- (4) 酵素吸着量が同一の場合、酸性酵素より中性酵素の方がインジゴの染着性が高い。

3. 酵素/インジゴ/セルロース間の関係

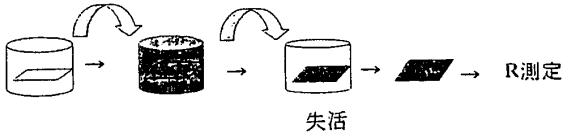
<実験>

- セルラーゼ : CL.
- 試料布 : 綿ブロード (40 番手, 精練済)
- インジゴ分散液 : 2 と同じ.
- 処理条件 : 酵素濃度 : 0, 1, 2, 3g/L, 浴比, 温度, 時間, 機械力は 2. と同じ.
- 手順 :
A. 布にインジゴを吸着させた後に酵素処理. (I+F→E→)



B. 布を酵素処理後、インジゴ分散液中で処理。

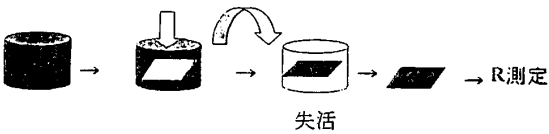
(E+F→I→).



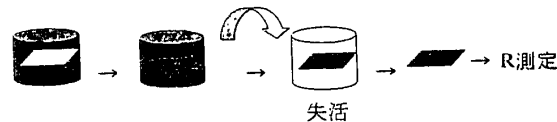
C. 同浴処理。(E+I+F→).



D. 酵素とインジゴ分散液を混合、攪拌処理した後、布を入れて連続処理する。(E+I→+F→)



E. 布にインジゴを吸着させた後、酵素を加えて連続処理する。(I+F→+E→).



<結果と考察>

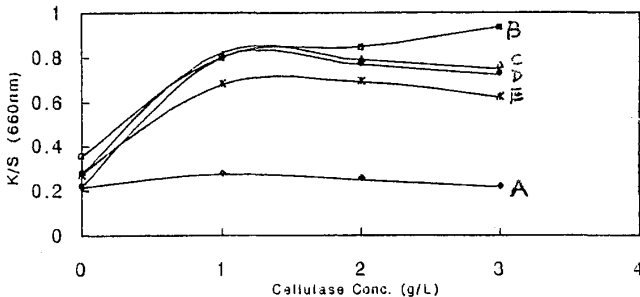


Fig.2 Indigo staining and amount of Cellulase(CL)in the bath.

酵素とインジゴを予め結合した状態にしてから布を入れた場合 (D) と同浴処理 (実際系 C) の、酵素供与濃度とインジゴ染着性の関係にはほぼ一致した傾向が認められ、しかも、極大が出る (Fig.2). このことから、次のように考えた。

- (5) 酵素とインジゴの結合はかなり速く生じ、それが繊維に吸着する。
- (6) 系の中にあるインジゴ (0.06g/L) はすべての酵素 (1g/L) と結合する。
- (7) それ以上酵素量が増加した場合 (遊離インジゴはない)、結合してない酵素は繊維の加水分解に寄与し、インジゴが染着した繊維を細かく分解して脱落する。その結果 K/S は減少する。このことは、D の残浴を三日間放置

すると、無色透明な上澄みと青い沈澱が得られたことから裏付けられる (これは毛羽である。元のインジゴ分散液は 2 週間以上放置しても、沈澱しない)。すなわち、“加水分解によるみかけのインジゴ汚染の減少”が生ずる。

4. 酵素活性の影響。

(7)を確認するために、次の実験を行なった。

<実験>

3.の C と D について、予め酵素を失活処理 (80℃, 20min) した後、吸着処理を行った。処理条件は 3 と同じ。

<結果と考察>

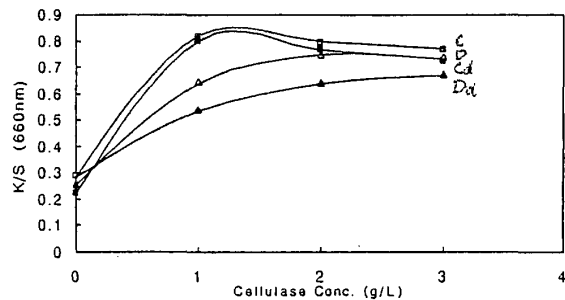


Fig.3. Effect of Cellulase activity on Indigo staining.

Fig.3 に活性酵素 (C, D) とともに失活酵素 (Cd, Dd) の結果を示した。失活酵素ではインジゴ染着に極大が出ない。したがって、極大が出る原因は酵素の活性であると考えた。

(8)失活酵素は 2~3g/L でインジゴ 0.06g/L と結合する。これは恐らく活性酵素より失活酵素の方がインジゴに対する結合の能力が低いのであろう。

(9) 最大の汚染量で比べると、活性より不活性酵素の方がインジゴ染着性が低い。このことも (8) と矛盾しない。

5. まとめ

- 1) 綿繊維へのインジゴ汚染性には、酵素吸着量と酵素の種類が関与する。
- 2) 酵素とインジゴはそれぞれ 1 : 0.06 (質量比) で結合する。
- 3) 酵素の活性はインジゴ汚染性を促進する。

引用文献：

- 1) A.Cavaco-Paulo,et.al.Textile Res.J.,68(6),398-401(1998)
- 2) A.V. Gusakov,et.,al., Applied Biochemistry and Biotechnology, 75, 279-293(1998)
- 3) 小林文夫, 染色工業, 47,(9),425 (1999)
- 4) 都甲由紀子, お茶の水女子大学, 修士論文(2000)
- 5) 王丹, 向野仁美, 駒城素子, 繊維学会予稿集 2001 (年次大会), 56(1), 339 (2001)
- 6) 向野仁美, お茶の水女子大学, 卒業論文 (2001)