

ジーンズの酵素処理におけるセルラーゼの吸着とインジゴ汚染の関係

Relations between Adsorption of Cellulase and Backstaining with Indigo on Enzymatic Finishing of Denim

生活環境化学研究室 9730127 向野 仁美 Hitomi Mukaino

<背景と目的>

セルラーゼはセルロース性物質を加水分解する酵素であり、衣料業界でもセルロース繊維の改質加工（減量加工）や、特にジーンズのバイオウォッシュ加工に用いられている。これはインジゴ染色デニムを酵素処理することによって表面のセルロースが部分的に分解されて、独自の古着感を醸し出す効果を利用している。

一般にインジゴデニムを洗浄すると染色糸（縦糸）のインジゴが白糸（横糸）を青く染める傾向があるが、特に酵素処理ではこれを助長することが染色加工業界で問題になっている。

当研究室ではこれまで、再現性のよい実験方法として均一なインジゴ分散液を調製し、白糸汚染が促進される原因は、セルラーゼがセルロースとインジゴのバインダーとしての役割を果たすためであることを明らかにした。¹⁾

そこで残された問題である以下の解明を目的とする。

- 1) 酵素たんぱく質の綿繊維への吸着量とインジゴ吸着量の関係：インジゴによる着色汚染性と布に吸着したたんぱく質量との関係は、酵素の種類に関わらず一致するか？
- 2) 実際系におけるインジゴ汚染メカニズムの検討：染色糸から脱落したインジゴ分子がセルラーゼとの複合体を形成して繊維に吸着するのか、予め繊維に吸着した酵素タンパク質に遊離のインジゴが結合するのかその機構を明らかにする。

<実験>

[酵素試料] Novozymes A/S 提供

酵素名	最適 pH	備考
C4	7	毛羽除去効果が高い エンド活性が強い
C5	5	C4 のアミノ酸残基を変化

[試料布]

- ・市販インジゴ染色デニム
(綿7番手 A8508 倉敷紡績(株)製)
- ・綿ブロード (40番手 色染社より入手
エタノールにより精練処理)

[攪拌処理装置] ターゴトメーター

[測定装置]

- ・白布の色差測定 (Lab)：ハンディー色差計
(NR-3000 日本電色 (株))

・反射・吸収スペクトル測定：紫外可視分光光度計
(UV-240 島津製作所、UV-550 日本分光 (株))

[方法]

1) インジゴ分散浴の調製

結果の再現性を得るため、予め染色デニムからインジゴを脱落処理し、これを均一な分散浴として、実験に用いた。(界面活性剤が入っていることを確認した。)

処理条件：浴比；1：50 (染色デニム/水) 温度；50℃
機械力；攪拌 160cpm 時間；30min

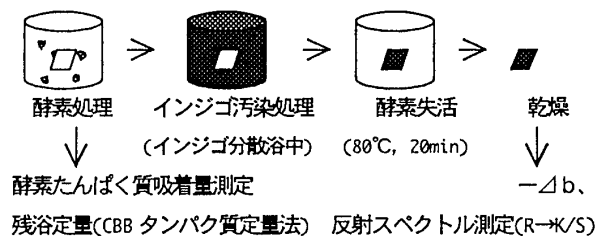
処理手順：攪拌処理→ガラス繊維ろ紙によりろ過

2) <方式1> 白布の酵素処理→インジゴ汚染処理

処理条件：酵素濃度；0、2、4、6 g/L

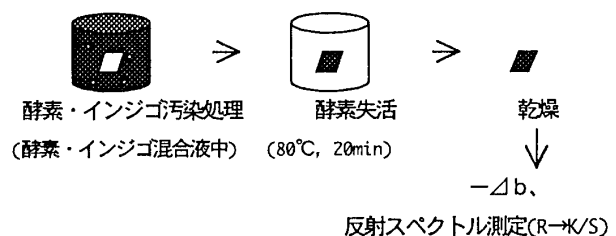
液性；pH=5、7 機械力；攪拌 100cpm

浴比、温度、時間は1)の処理条件に同じ。



<方式2> 酵素・インジゴ混合液による白布汚染

インジゴ分散浴と酵素原液を混合し1昼夜放置した後、白布を汚染処理する。



3) 薄層クロマトグラフィー (TLC) による

インジゴ-酵素複合体形成の確認

薄層板：シリカゲル

展開溶媒：n-プロパノール：酢酸エチル：水 = 6：1：3

実験試料：インジゴ分散浴，酵素，
酵素・インジゴ混合液

<結果と考察>

<方式1>より、酵素たんぱく質吸着量に対する $-\Delta b$ の関係を Fig.1 に示した。これを見ると、両酵素とも酵素の吸着量が多いほど着色汚染性を増してはいるが、酵素の種類によってその着色性に違いが出ている。

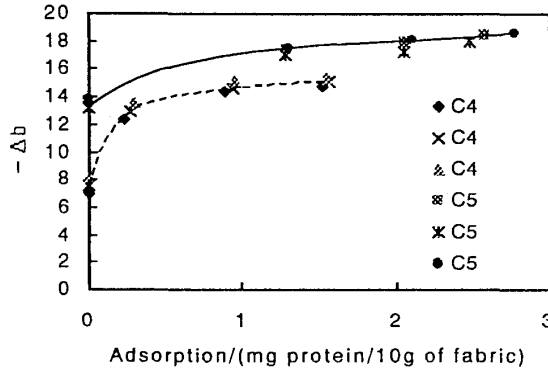


Fig.1 Relation between staining levels($-\Delta b$) and protein adsorbed on the fabric

反射スペクトルから求めた極大吸収波長 660nm での K/S 値を同様に酵素たんぱく質量に対してプロットした。(酵素濃度 0g/L(吸着量 0)の値が実験毎に一致しないため、酵素未添加の場合の $(K/S)_0$ を基準とし、酵素を添加した場合の $(K/S)_c$ の比を算出) (Fig.2)

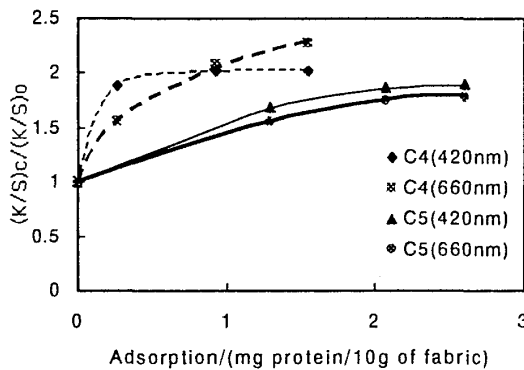


Fig.2 Staining with Indigo normalized by the levels of sample without protein

その結果 Fig.1 と同様、着色汚染性は酵素の種類によって明らかに異なっており、着色汚染性と酵素たんぱく質吸着量の関係は酵素の種類によって変わることが判明した。C4 は中性、C5 は酸性の条件下で最も効力があり、それぞれアミノ酸残基が異なるため、インジゴ染料との親和力も異なることが考えられる。そのため着色汚染性に違いがでてきたと考えた。

また、酵素を添加した布の K/S スペクトルは、いずれの酵素濃度でも極小吸収波長 420nm でほぼ重なっている。そこで 420nm における $(K/S)_c/(K/S)_0$ を 660nm での値同様プロットすると(Fig.2), 酵素 C5 では着色汚染性と酵素吸着の関係は波長に依存しないのに対し、C4 では少量の酵素で吸収が増大することが明らかになった。このことから、インジゴと酵素にはなんらかの相互作用が存在し、その性質も酵素間で異なるのではないかと考えた。

<方式1：予め酵素処理後インジゴ汚染>と<方式2：酵素・インジゴ混合液で汚染処理>の $(K/S)_c/(K/S)_0$ 値をそれぞれ酵素濃度に対してプロットした。(Fig.3)

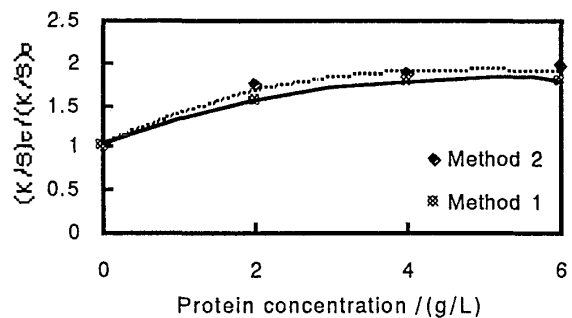


Fig.3 Comparison of staining levels by <Method 1> with <Method 2>

この結果から、インジゴ汚染の傾向は方式1と2でほぼ一致している。ゆえに白布汚染のメカニズムとして、酵素とインジゴは別々に作用するのであり、液中で複合体を形成し、作用するとは考えにくい。

そこで、TLC を用いて複合体形成を確認したところ、酵素のみと、酵素・インジゴ混合液のスポットが一致した。このことから、液中で酵素とインジゴが親和力を持ち、結合するとは考えられない。

しかし、白布に対する酵素吸着量が増えるとインジゴの着色汚染性が増加していること、上述の反射スペクトルの結果から、そこには2者の相互作用が確実に存在するということが分かった。

ゆえに、酵素はセルロース繊維が介在することによって、インジゴと親和力を持つようになると推察できる。

<まとめ>

1. 白布への酵素たんぱく質吸着量とインジゴの着色汚染性の関係は酵素の種類によって異なる。
2. 白布汚染のメカニズムとして、酵素とインジゴは液中で複合体を形成することなく、別々に作用する。
3. 酵素はセルロース繊維が存在することによって、インジゴとの親和力をもつようになると推定できる。

<引用文献>

1) 都甲 由紀子 平成 11 年度お茶の水女子大学修士論文

(指導教官 駒城 素子)