

# 天然物の機能開発に関する研究 —機能性ペプチドの開発技術—

北野道雄、茶谷悦司

## 要 旨

天然物の持つ機能を有効に利用するため、主として各種動植物性タンパク質を加水分解により低分子量ペプチド化する技術を研究するとともに、繊維加工用ペプチドの持つ各種機能について明らかにした。

この研究の特徴としては、今まであまり繊維加工に利用された例のないタンパク質を中心に加工物質として選定し、主として酵素による加水分解を施して低分子量ペプチド化したものを繊維に付与加工した。そして、加工した繊維の各種機能について評価した。この結果、各種ペプチドの持つ機能を明らかにするとともに、これらペプチドを繊維に付与加工する技術を確認した。また、加工した繊維の性能を評価した結果、ペプチドの持つ諸特性を十分に発現できる高機能繊維が開発できた他、これらのペプチド類が皮膚刺激性が小さく、しかも環境に優しい加工剤であることが明らかになった。

### 1. はじめに

健康や快適性を目的とした繊維製品の開発がここ数年続いているが、この理由は人間生活における心の豊かさが求められているためと考えられる。昨年度は、化粧品の持つような機能を繊維に付与する研究を行って、スキンケア機能を持った衣料製品の開発に成功した。本年度は、この研究成果を応用して機能性の高いペプチドの開発研究を行った。この結果、従来にない諸機能を持ったペプチドが開発できたので報告する。

### 2. 実験方法

#### 2. 1 試料

織物(JIS添付白布使用)：毛(略記号:W)、ナイロン(N)  
糸：梳毛糸 2/72

#### 2. 2 天然系加工剤及び薬剤等

酵素	蛋白質加水分解酵素 プロテアーゼN(天野製薬製) ニューラーゼF(天野製薬製) プロテアーゼM(天野製薬製) プロテアーゼS(天野製薬製) プロレザー(天野製薬製) 多糖類加水分解酵素 セルロシンCA(阪急バイオインダストリー製)
機能性ペプチド	市販の、主として蛋白質の加水分解物(表1)
蛋白質	機能性ペプチド調製用の動物蛋白質 乳蛋白質(酸カゼイン、ホエー) (日本プロテン製)

表1 繊維加工試験に用いたペプチド類

No.	名 称	成 分 (由来)	メ ー カ ー
1	プロモイスパールP	コンキオリン (アコヤ貝)	成和化成
2	ミルクペプチドMWPI	ホエータンパク (牛乳)	一丸ファルコス
3	ミルクペプチドMKSC	カゼインタンパク (牛乳)	一丸ファルコス
4	グルアディンAGP	小麦タンパク	一丸ファルコス
5	ツェイン88	トウモロコシタンパク	昭和産業
6	ハイニュートDL	大豆タンパク	一丸ファルコス
7	Phyto Collage	大豆タンパク	一丸ファルコス
8	BOREP	グロビタンパク	阪急共栄物産
9	ヨークプロテインP-1	卵黄タンパク	太陽化学
10	ヨークペプチドH-2	卵黄タンパク	太陽化学
11	卵白粉末	卵白タンパク	太陽化学
12	エグレートNo.2	全卵タンパク	太陽化学
13	CROLLAC L20	セラック	クロダジャパン
14	COLTIDE HQS	小麦タンパク	クロダジャパン
15	TRITISOL	小麦タンパク	クロダジャパン
16	Cromoist WHP	小麦タンパク+ハニー	クロダジャパン
17	Hydromond	アーモンドタンパク	クロダジャパン
18	マリンデュウ PC-100	キチン加水分解物	味の素
19	硫酸プロタミン	鮭 (複合DNAタンパク)	和光純薬
20	ポリリジン	ポリアミノ酸 (重合リジン)	チッソ

大豆蛋白質(フジビュリナプロテイン製)

社製)

卵白蛋白質 (太陽化学製)

小麦蛋白質 (小麦グルテン)  
(タジマ食品製)

多糖類 キトサンLL (焼津水産製)  
架橋剤 イソシアネート系 (明成化学工業製)  
アニオン系 FS-9000(略記号:FS)  
(明成化学工業製)

染料 Kayanol Milling Blue GW (日本化薬製)  
Erionyl Blue LE-RF (Ciba-Geigy製)

試験菌 黄色ぶどう球菌 (Staphylococcus aureus)  
保存番号及び機関 (IFO  
12732・発酵研究所)  
肺炎桿菌 (Klebsiella pneumoniae)  
保存番号及び機関 (IFO  
12732・発酵研究所)

セルロース透析膜 セルロースチューブ24/32  
(分画分子量12,000~14,000、  
平面幅32mm) (Viskase社製)  
スペクトラポア (分画分子量  
3,500、平面幅45mm) (Spectrum

## 2. 3 試験装置と試験条件

### 2. 3. 1 試験装置

恒温振とう培養器 (Bio-Shaker)

BR-30L型 (大洋工業製) により天然高分子加水分解処理及び天然加工剤付与加工試験を行った。

液体クロマトグラフ(1)

Farmacia FPLC System (ファルマシア製)

液体クロマトグラフ(2)

インテリジェントHPLCシステム/Gulliver  
シリーズ (日本分光工業製)

ガスクロマトグラフ

GC14APTF (島津製作所製)

熱分解装置 (JHP-22型キューリーポイントパイロライザー) (日本分析工業製)

帯電性測定装置

スタチックオネストメータ (H-0110型)  
(シシド静電気製)

インピーダンス

SKIN SURFACE HYDROMETER (SKICON  
-200) (I.B.S. 社製)

風合い計測装置

KES-FB1 (表面試験機)、KES-FB3 (圧縮試験機) (カトーテック製)

走査型電子顕微鏡 (SEM)

T330型 (日本電子製)

X線分析装置 (EDX)

JED-2000型 (日本電子製)

顕微鏡TV画像撮影装置

微細構造解析装置 (明伸工業製)

紫外線発生装置並びに照射装置

ソーラーシミュレーター (XB-25T1W1型) (WACOM社製)

可視紫外線分光光度計

U-3200型 (日立製作所製)

測色機

カラーセブン分光光度計 (倉敷紡績製)

変角光沢計

デジタル変角光沢計UGV-5D型 (スガ試験機製)

乾熱処理装置

ヤマトファインオープンDF-41型 (ヤマト科学製)

マングル

手回しマングル (大栄科学製)

ニューマチックエアー加圧3Ton堅型パッダー (上野山機工製)

## 2. 3. 2 試験条件

### (1) ペプタイドの分離精製

ペプタイドを各種繊維に効果的に固着するために、過去の研究例<sup>1)2)</sup>を参考に5種類の蛋白質を選定した。5種類の蛋白質については、酵素による加水分解を施すことにより低分子量化した。加水分解物の調製法は表2の方法により溶解処理をした後、低分子量化する目

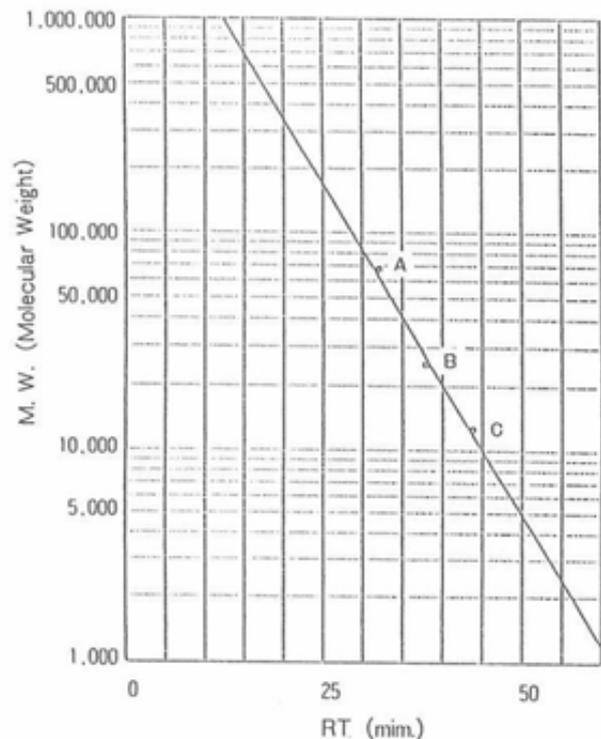
的でプロテアーゼにより加水分解した。また、多糖類のキトサンについては、多糖類の分解に適した酵素(セルロシンCA)を用いて加水分解した。分解条件は、セルロシンCAを対基質5%、pH5.0、55℃で60分振とう処理した。

### (2) ペプタイドの分子量分布測定

ペプタイド加工剤の分子量分布測定については、全て液体クロマトグラフィーのゲルろ過法で調べた。この分析条件を表3に、検量線を図1に示した。<sup>3)</sup>

### (3) ペプタイドの分析

2種類の繊維に付与加工したペプタイドの存在確認分析は、熱分解ガスクロマトグラフィーによった。方法は、試料をキューリーポイントパイロライザーで熱分解し、発生したガスをガスクロマトグラフで分析するもので、パイログラムピークの時間比較とパターンの違いから解析を行った。システム構成及び分析条件を2及び表4に示した。<sup>3)</sup>



M.W. Standard A 67000 : Bovine Serum Albumine  
B 25000 : Chymotrypsinogen A  
C 12300 : Cytochrome C

図1 分子量分布検量線

表2 加水分解蛋白質の調製方法

蛋白質種類	酵素加水分解方法
A. 乳蛋白質 (酸カゼイン)  濃度5% (W/V)	酸カゼイン10gを0.1N NaOH溶液70mlに溶解後ウォーターバス中で90℃20分間加熱。冷却後、1N塩酸溶液でpH7に調整し、200mlにメスアップした。 この溶液20mlに、0.5mg/ml濃度に溶解したプロテアーゼSを1ml添加し(蛋白1g当り5単位)、振とう培養機(巡回振とう80r.p.m.)を用いて45℃で1時間反応させた。反応後、90℃で10分間加熱(酵素失活)した後、遠心分離機により5,000r.p.m.で10分間処理して不溶物を除去した。
B. 乳蛋白質 (ホエー蛋白)  濃度5% (W/V)	ホエー蛋白10gを150mlの蒸留水に溶解後、pH7に調整し、200mlにメスアップした。 この溶液20mlに、0.5mg/ml濃度に溶解したプロテアーゼSを1ml添加し(蛋白1g当り5単位)、振とう培養機(巡回振とう80r.p.m.)を用いて45℃で1時間反応させた。反応後、90℃で10分間加熱(酵素失活)した後、遠心分離機により5,000r.p.m.で10分間処理して不溶物を除去した。
C. 大豆蛋白質  濃度10% (W/V)	大豆蛋白10gを100mlの蒸留水に懸濁し、ホモジナイズを行った後、遠心分離機により、10,000r.p.m.で5分間処理し上清を用いた。 この溶液20mlに、1mg/ml濃度に溶解したプロテアーゼSを1ml添加し(蛋白1g当り5単位)、振とう培養機(巡回振とう80r.p.m.)を用いて45℃で1時間反応させた。反応後、90℃で10分間加熱(酵素失活)した後、遠心分離機により5,000r.p.m.で10分間処理して不溶物を除去した。
D. 卵白蛋白質  濃度10% (W/V)	卵白蛋白20gを180mlの蒸留水に溶解後、1N塩酸溶液でpH4に調整し、200mlにメスアップした。 この溶液20mlに、2mg/ml濃度に溶解したニューラーゼFを1ml添加し(蛋白1g当り7単位)、振とう培養機(巡回振とう80r.p.m.)を用いて45℃で1時間反応させた。反応後、90℃で10分間加熱(酵素失活)した後、遠心分離機により5,000r.p.m.で10分間処理して不溶物を除去した。
E. 小麦グルテン  濃度2% (W/V)	小麦グルテン2gを80mlの0.05N酢酸溶液に懸濁し1N塩酸でpH3に調整した。ホモジナイズした後、遠心分離機により、3,000r.p.m.で10分間脱泡を行い、上清及び沈澱を再懸濁して100mlにメスアップした。 この溶液50mlに、1mg/ml濃度に溶解したニューラーゼFを1ml添加し(蛋白1g当り7単位)、振とう培養機(巡回振とう80r.p.m.)を用いて45℃で1時間反応させた。反応後、90℃で10分間加熱(酵素失活)した後遠心分離機により5,000r.p.m.で10分間処理して不溶物を除去した。
ND. 卵白蛋白質  濃度10% (W/V)	卵白蛋白20gを180mlの蒸留水に溶解後、1N塩酸溶液でpH4に調整し、200mlにメスアップした。 この溶液に、10mg/ml濃度に溶解したプロテアーゼMを10ml添加し(蛋白1g当り27.5単位)、振とう培養機(巡回振とう80r.p.m.)を用いて45℃で5時間反応させた。反応後、90℃で15分間加熱(酵素失活)した後、遠心分離機により5,000r.p.m.で10分間処理して不溶物を除去した。
NE. 小麦グルテン  濃度10% (W/V)	小麦グルテン20gを180mlの蒸留水に懸濁し、ホモジナイズした後、200mlにメスアップした。 この溶液に、10mg/ml濃度に溶解したプロレザーを10ml添加し(蛋白1g当り50単位)、振とう培養機(巡回振とう80r.p.m.)を用いて45℃で5時間反応させた反応後、90℃で15分間加熱(酵素失活)した後、遠心分離機により5,000r.p.m.で10分間処理して不溶物を除去した。

(4)キトサンの酵素加水分解確認試験

キトサンとして用いたキトサンLLをセルロシンCAで加水分解したが、この分解の確認をSchales変法で行った。方法は、Schales

試薬を用いて、キトサン酵素分解反応による分解生成物であるN-アセチルグルコサミンを定量して分解指標とした。

Schales試薬：フェリシアン化カリウム0.5g

表3 ゲル透過クロマトグラフィーによる分子量分布測定条件

使用機器	液体クロマトグラフ (Farmacia FPLC System)	液体クロマトグラフ (インテリジェント HPLCシステム/ Gulliverシリーズ)
測定条件	カラム: Farmacia (Superrose12) 溶媒: 50mM, pH7, phosphate buffer (150mM NaCl) Flow rate: 0.75ml/min Detector: 280nm Sample Charge: 200μl	カラム: 日本分光工業 (Biofine-PO-700K-L) 溶媒: 20mM, pH7, phosphate buffer (50mM KCl) Flow rate: 2.5ml/min Detector: RI Detector: 280nm Sample Charge: 300μl
MW Standard	67000: Bovine Serum Albumine 25000: Chymotrypsinogen A 12300: Cytochrome C 6500: Trypsin-inhibitor 1450: Bacitracin	

表4 熱分解ガスクロマトグラフィーによる分析条件

分析装置: ガスクロマトグラフ (GC-14APTF) (島津製作所製)
カラム: 熔融シリカキャピラリーカラム (CBM10-M25) (島津製作所製)
カラム温度: 50℃-270℃ (10℃/min)
キャリアーガス: He (スプリット比1:50)
検出器: FID
試料注入口及び検出器温度: 280℃
試料: 0.5mg
熱分解装置: JHP-22型キューリーポイントパイロライザ (日本分析工業製)
熱分解時間: 3秒
熱分解温度: 590℃ (590℃ホイル使用)

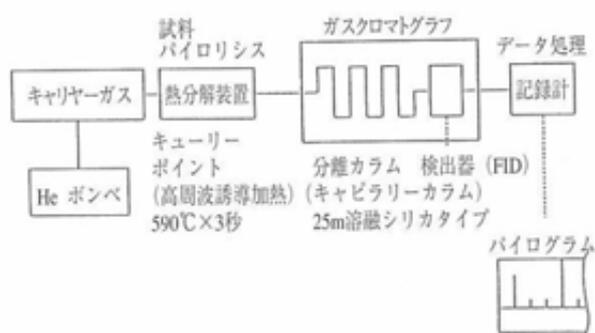


図2 熱分解ガスクロマトグラフ(Py-GC)のシステム構成

を0.5M炭酸ナトリウム1ℓに溶解して調製した。定量分析操作は、Nアセチルグルコサミン溶液1mlとSchales試薬3mlを振り混ぜ、沸騰水浴中で15分加熱した後、420nmにおける吸光度を測定した。(図3)

(5)ペプチド加工条件 (A)

キトサン  
↓  
酵素 (キトサナーゼ) 加水分解  
↓  
N-アセチルグルコサミン …………… 定量分析

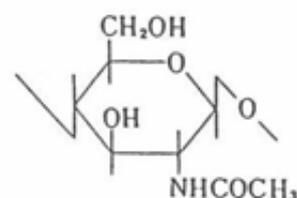


図3 キトサナーゼによるキトサンの分解

2種類の繊維素材 (毛及びナイロン) に対して、ペプチドを吸尽法またはパッド法により付与加工した (加工試験フローを図4に、加工条件を表5に示した。)吸尽法による処理は、三角フラスコ中に試料と必要な薬剤を添加した後、振とう培養機を用いて温度50~55

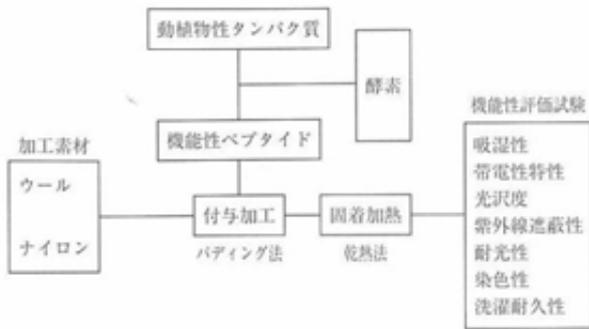


図4 機能性ペプチド付与加工工程フロー

表5 ペプチド付与加工条件

加工工程	加工条件	
パッド法	ペプチド マンダール絞り率	2.5~10% 80~120%
吸尽法	振とう培養機	旋回振とう (120回/分)
	ペプチド 温度 時間	2.5~10% o.w.f. 50~55℃ 30~60分
固着加熱	乾熱法	120℃×3分
ソーピング	非イオン活性剤 (センカノールDM) 0.5g/L	50℃×5分
水洗	水洗	3分×2回

℃にて30~60分間、旋回振とう120回/分の条件で行った。パディング法による処理は、パッド浴に布を浸漬した後、マンダールで絞り率80~120%で付与する方法とした。固着のための加熱条件は乾熱とした。

#### (6) ペプチド加工条件 (B)

ペプチド類を付与加工した繊維の吸湿性特性を調べるため、ペプチド類を2.5%、架橋剤を2%用いてパッド法で加工した。固着加熱条件は乾熱120℃×3分とし、洗浄は50℃×5分、水洗3分とした(図4、表5)。

## 2. 4 ペプチド付与加工試料の性能評価試験法

### (1) ペプチド加工布の染色特性

ペプチドの違いによる染色特性の違いについては、酸性染料 (Erionyl Blue LE-RF

試料: ペプチド付与加工織物  
JIS添付白布: 毛、ナイロン

染料: Erionyl Blue LE-RF 2% o.w.f.  
助剤: 硫酸アンモニウム 2% o.w.f.  
昇温条件

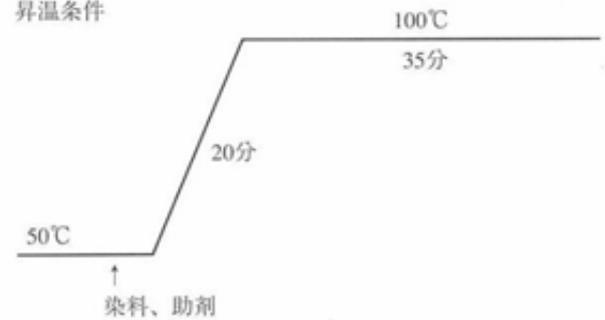


図5 ペプチド染色特性試験条件

2% o.w.f.)による加工布の染色試験を行って、分光光度計により染色試料のK/S、色差 $\Delta E^*_{ab}$ を測色して比較した。(図5)

### (2) ペプチド付与加工試料の耐光性

ペプチド付与加工試料の耐光性についてはJIS L0842法により、カーボンアーク照射後(10時間毎に130時間)の光学特性の変化を分光光度計により色差や白色度(JIS L1081)、黄変指数(JIS L1081)で比較した。

### (3) ペプチド及びペプチド付与加工試料の紫外線吸収効果

ペプチド及びペプチド付与加工試料の紫外線吸収効果については、紫外分光光度計並びにソーラーシミュレーターを使用して評価した。ペプチド類の紫外線吸収効果は、試料を光路長10mmの石英製セルに入れて250~400nmの紫外線の吸収特性を調べた。また、ペプチド付与加工試料の紫外線吸収効果については、ソーラーシミュレーターを使用してUV-A波(320~400nm)とUV-B波(290~320nm)の透過エネルギーを比較した。測定条件は、試料に対して20cmの高さからUV-A波の場合、24.00mW/cm<sup>2</sup>、UV-B波の場合は2.400mW/cm<sup>2</sup>で照射した(図6)。

### (4) 吸放湿性

付与加工条件の違いによる加工布の吸放湿

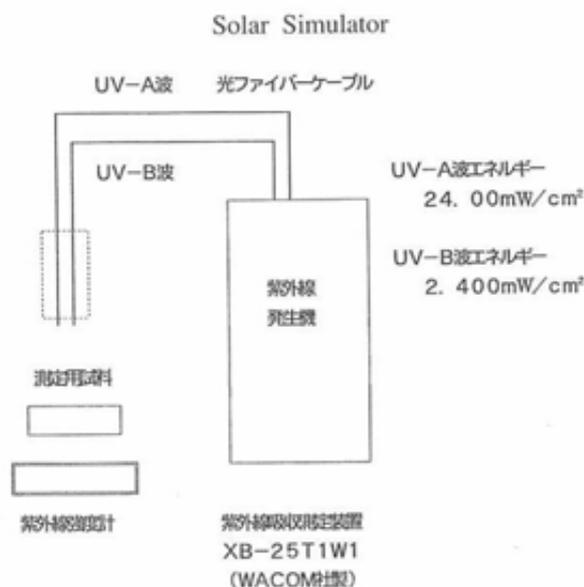


図6 紫外線吸収測定装置概念図

性については、以下の条件で試験した。加工布の吸湿性については試料を絶乾した後、恒温恒湿試験室内で20℃、65%R.H.における吸湿水分の重量変化を調べた。放湿性については、90%R.H.環境から20℃、65%R.H.とした場合の放湿水分の重量変化を調べた。

#### (5) 吸水性

ペプチド付与加工試料の吸水性については、JIS L1096 A法（滴下法）により吸水速度を比較した。

#### (6) インピーダンス測定

ペプチド付与加工試料のインピーダンスについては、SKIN SURFACE HYDROMETERを用いて、試料を湿度75%R.H.雰囲気中に保持して加湿したものを測定した。試料の6ヶ所（中心と周囲5ヶ所）を測定し、最大と最小値をカットした残りの平均値を測定値とした。

#### (7) 帯電性特性

ペプチド付与加工試料の帯電性については、スタチックオネストメータを用いてJIS L1094A法（半減期測定法）、印加電圧（+）10 kVにより20℃、65または40%R.H.で測定し

た。

#### (8) ペプチド類の皮膚刺激性

ペプチド類の安全性については、市販品の場合はカタログデータ等を参考にした。この結果、試験に用いた多くのペプチドが化粧品や食品に添加できるものであることから、生物学的試験（急性経口毒性試験、変異原性試験、皮膚刺激性試験、皮膚感作性試験、皮膚毒性試験）の結果は陰性のものが多い。また、酵素による加水分解を施して作製した7種類の蛋白質加水分解ペプチド（表6）については、皮膚刺激性を調べた。

#### (9) 皮膚刺激性試験

皮膚刺激性の試験はウサギにおける生体材料の皮膚一次刺激性試験に関する実施基準（OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALSおよび新化粧品等安全性評価指針）に準拠して実施した。この試験は、皮膚に接触した被検物質が局所にどのような影響を与えるかを評価する試験で、試験の方法を表7に示した。また、この試験の判定は皮膚反応の評価基準（表8）にしたがって行った。

#### (10) 風合い特性

ペプチドを付与加工した織物の風合い変化については、KES-FBシステムにより計測した。結果については、未加工布と加工布の風合い値を比較して評価した。

#### (11) 抗菌性（定性法＝ハロー法）

表6 加水分解蛋白質

略記号	蛋白質種類		加水分解酵素
	蛋白質名称	濃度(W/V)	
A	乳蛋白(酪カゼイン)	5%	プロテアーゼS
B	乳蛋白(ホエイ)	5%	プロテアーゼS
C	大豆蛋白	10%	ニューラーゼF
D	卵白蛋白	5%	ニューラーゼF
E	小麦蛋白(グルテン)	2%	ニューラーゼF
ND	卵白蛋白	10%	プロテアーゼM
NE	小麦蛋白(グルテン)	10%	プロレザー

表7 皮膚一次刺激性試験方法

1. 投与方法および試験方法  
 OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALSおよび新化粧品等安全指針に準拠して実施。

(1)投与経路および理由  
 被検物質は経皮適用が予想されるため、24時間閉塞貼付した。

(2)濃度  
 被検物質は液体であるため、原液のまま使用した。

(3)試験方法

a. 動物数	体重1.3~1.5kg雌性ウサギ3羽
b. 試験部位	電気バリカン（オースター製）で刈毛処理したウサギの背部皮膚を用いた。
c. 試験面積	1個所2.5cmφの試験区を、1羽当り3個所設定した。
d. 接触時間	2.5cmφのリント布部を有する動物パッチテスト用絆創膏（鳥居薬品工業製）を用いて、24時間閉鎖貼付した。
e. 適用区	試験区1個所当り0.3mlをリント布部に適用した。
f. 適用量	皮膚刺激性試験に一般常用されている適用量。
g. 適用後の置	被検物質適用後は、ナメ防止ネックレスを装着した。

(4)観察  
 貼付した絆創膏を除去した後、1、24および48時間後に皮膚反応を観察した。

表8 皮膚反応の評価基準

皮膚反応の程度	評価点
紅斑と痲皮形成	
紅斑なし	0
ごく軽度の紅斑(やっと認められる程度)	1
明らかな紅斑	2
中程度から強い紅斑	3
深紅色の強い紅斑に軽い痲皮形成(傷害は深部に)	4
浮腫形成	
浮腫なし	0
ごく軽度の浮腫(やっと認められる程度)	1
明らかな浮腫(周囲と明らかに区分可能)	2
中程度の浮腫(1mm程盛り上がっている)	3
強い浮腫(1mm以上盛り上がり、周囲にも広がる)	4

抗菌剤を付与加工した試料の抗菌性（ハロー法）については、JIS L1902により試験した。試験には黄色ぶどう球菌と肺炎桿菌の2種類の細菌を用いた。

(12)抗菌性（定量法＝SEKマーク認定試験法）

抗菌剤を付与加工した試料の抗菌性のうち、SEK（繊維製品新機能評価協議会）マーク認定の試験法については、菌数減少法のうちから浸漬法並びに振とう法を採用した。評価試験は浸漬法の中の菌数測定法と振とう法の中のシェークフラスコ法によった。試験には黄色ぶどう球菌と肺炎桿菌の2種類の細菌を用

いた。また、計算式は次の2法によった。<sup>4)</sup>

菌数測定法

$$\text{増減値差} = \log(B/A) - \log(C/A)$$

A：未処理布に接種、直後に分散回収した分散液の生菌数

B：未処理布に接種、18時間培養後に分散回収した分散液の生菌数

C：加工布に接種、18時間培養後に分散回収した分散液の生菌数

SEK抗菌力評価基準：増減値差＝1.6以上

シェークフラスコ法

$$\text{減菌率}(\%) = [(A-B)/A] \times 100$$

A：生菌数（初発菌数）＝振とう前の生菌

B：生菌数＝振とう後の生菌数

SEK抗菌力評価基準：減菌率＝26%以上

(13)ペプチド付与加工繊維の表面観察

ペプチドを付与加工した繊維表面の変化を走査型電子顕微鏡(SEM)により観察した。

(14)耐久性試験

ペプチド付与加工織物の耐久性については、JIS L0217-103法により繰り返し洗濯10回後の加工剤の付着量を熱分解ガスクロマト

グラフにより定量分析した。また、あらかじめ金属（銀）でラベルを施したペプチドを付与加工した織物についてもJIS L0217-103法により繰り返し洗濯10回後の金属の付着量を電子顕微鏡（SEM）付属のEDXにより定量分析する方法によっても明らかにした。（図7、表9）

#### (15)光学特性

ペプチド付与加工織物の光学特性の変化については、分光光度計により色差や白色度並びに黄色度を調べて評価した。

#### (16)光沢度

ペプチド付与加工織物の光沢度については、デジタル変角計を用いてJIS Z8741により45°と60°の鏡面光沢度を測定した。

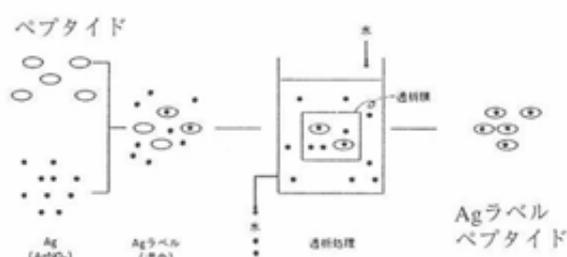


図7 Agラベルペプチドの調製フロー概念図

表9 銀ラベル法によるペプチドの付着量解析試験

試料	JIS毛添付白布 20×20cm
ペプチド加工内訳	
ペプチド	B:乳タンパク（ホエー） 5%W/V
ペプチドラベル用銀	AgNO <sub>3</sub> 水溶液（濃度：10mgAg/1ml）
AgNO <sub>3</sub> 使用量	タンパクペプチド純分に対して、同重量の銀をラベルに使用した。 （例：ペプチドBの場合、1mlと結合させるのに必要な量は5ml。）
処理	タンパクペプチドと必要量の銀を含むAgNO <sub>3</sub> 水溶液を30℃で30分間混合した。振とう培養機使用（120r.p.m.旋回振とう） この後、ペプチドと未結合の余分な銀を透析チューブ（分画分子量=3500）で蒸留水へ透析して、除去した。
ペプチド濃度	2.5%

## 3. 試験結果と考察

### 3.1 ペプチドの特性試験

#### 3.1.1 ペプチドの分子量分布測定結果

試験に用いたペプチドについては、あらかじめ得られた検量線（図1）から分子量分布を求めた。市販のペプチドについては、その多くが分子量（MW）=6500～25000に分布していた。このクロマトグラム例を図8～11に示した。また、酵素による加水分解を試みた動植物性蛋白質のペプチドについては、分子量（MW）=10000～25000に分布していた。このクロマトグラム例を図12～15に示した。

繊維加工にペプチドを利用する場合には、繊維表面並びに内部に留まらせるための理想的な分子量の分布範囲があるが、ここで用いた市販品、調製したペプチドとも多くがほぼ理想的な分子量範囲であった。

#### 3.1.2 ペプチドの紫外線吸収特性解析結果

試験に用いたペプチドの紫外線吸収特性については、可視・紫外分光光度により200～400nmの紫外部の分光吸収曲線を測定した。この結果の例について、図16～18に示した。濃度は0.2～0.5%（W/V）で、結果から多くのペプチドで紫外部に吸収が認められた。特に、280nm付近に極大吸収がみられた蛋白質は大豆蛋白、全卵蛋白、小麦グルテン、アーモンド蛋白等で、これは主としてアミノ酸のチロシンとトリプトファンによる吸収と考えられる。これはまた、細胞中の遺伝子DNAの損傷に最も係わりのある波長とされているため、紫外線遮蔽目的には都合のよいペプチドである。その他、特徴的な現象として、同じペプチドであっても加水分解に用いた酵素の違いによって、分光吸収曲線が異なっていた（図19）。

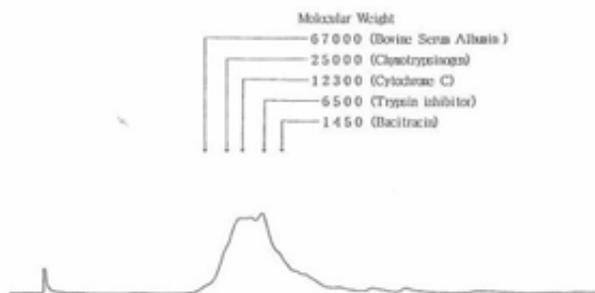


図8 ペプチドの分子量分布  
(グルアディンAGP(小麦タンパク)(No.4))

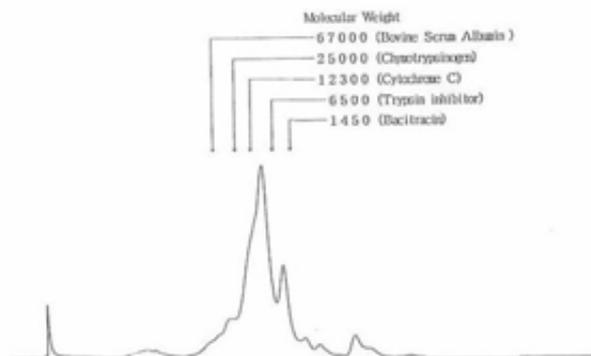


図12 ペプチドの分子量分布  
(乳蛋白(ホー)(B))

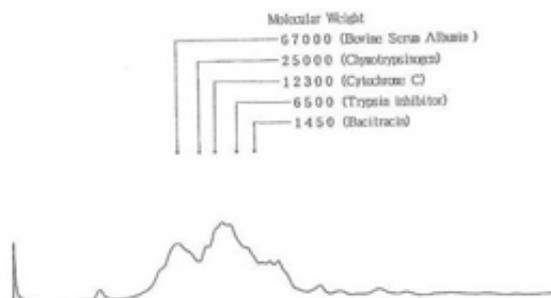


図9 ペプチドの分子量分布  
(ハイニュートDL(大豆)(No.6))

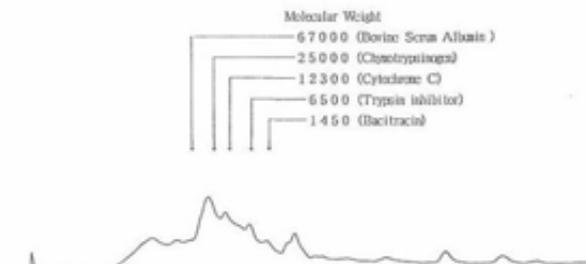


図13 ペプチドの分子量分布  
(大豆タンパク(C))

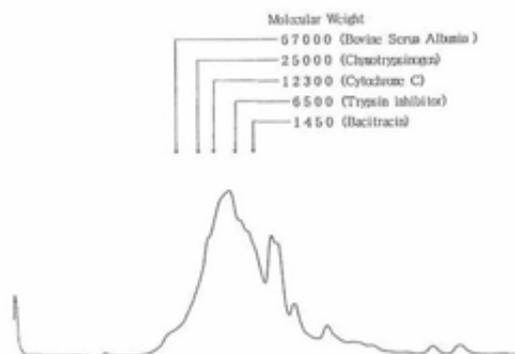


図10 ペプチドの分子量分布  
(Hydromond(アーモンドタンパク)(No.17))

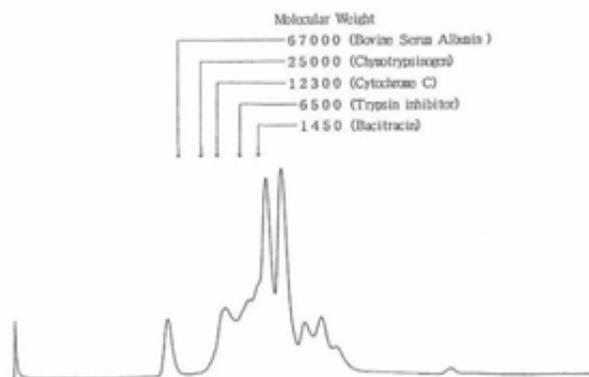


図14 ペプチドの分子量分布  
(卵白(ND))

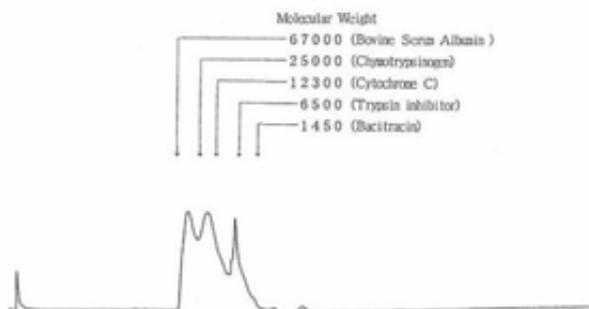


図11 ペプチドの分子量分布  
(ポリリジン(No.20))

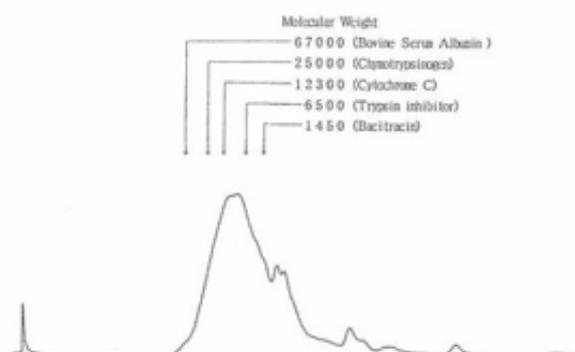


図15 ペプチドの分子量分布  
(小麦グルテン(NE))

### 3. 1. 3 ペプチドの紫外線遮蔽効果試験結果

ペプチドを付与加工したウールとナイロン生地については、ソーラーシミュレーター

を使用してUV-A波とUV-B波に対する紫外線の遮蔽効果を調べた。この結果、紫外線

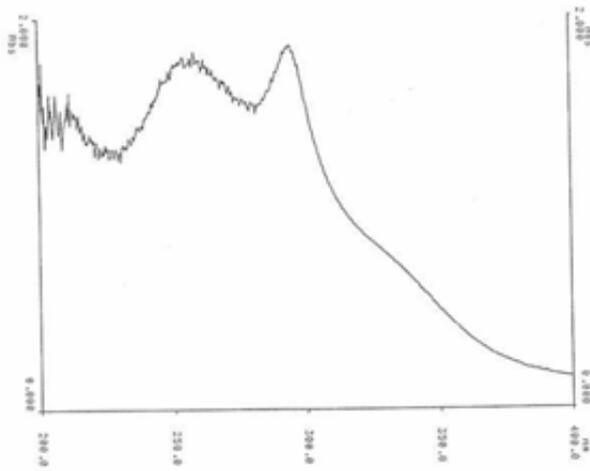


図16 酵素加水分解ペプチドの紫外分光曲線  
(タンパク質=大豆(C))

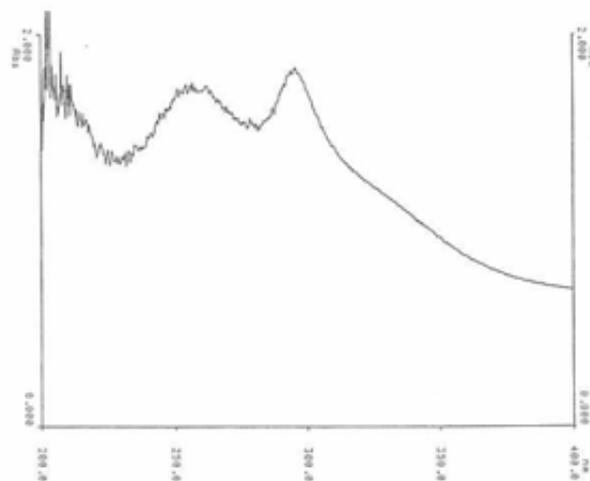


図17 酵素加水分解ペプチドの紫外分光曲線  
(タンパク質=大豆(No. 6))

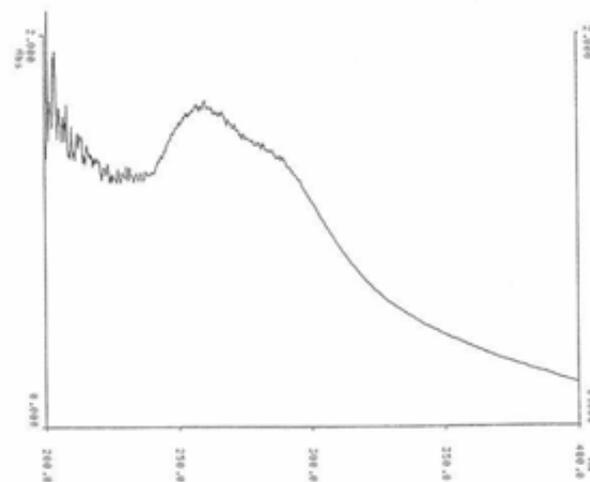


図18 酵素加水分解ペプチドの紫外分光曲線  
(タンパク質=アーモンド(No. 17))

遮蔽効果の高い蛋白質ペプチドは、卵、牛乳、大豆、小麦、アーモンド等でUV-A波、UV-B波について効果の高いものから順に

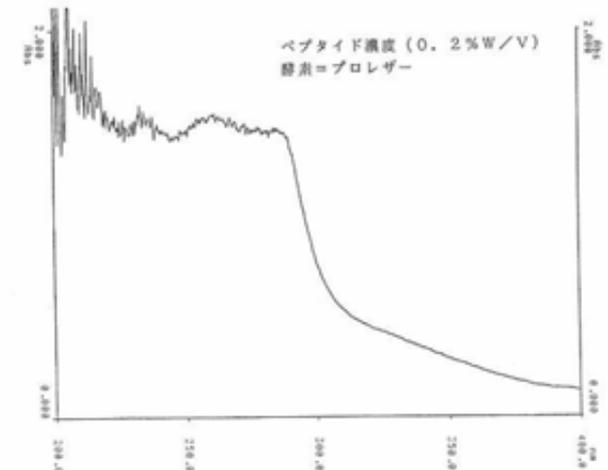
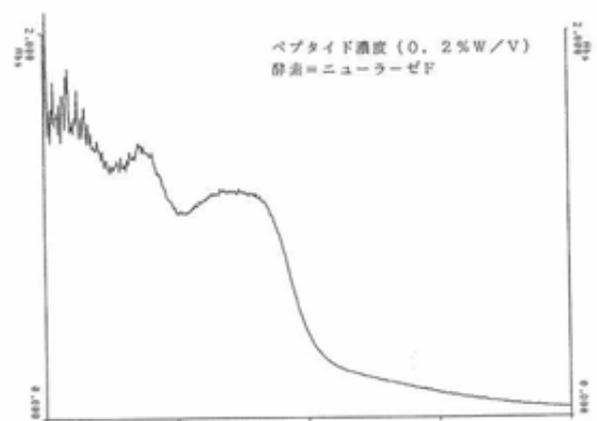


図19 酵素加水分解ペプチドの紫外分光曲線  
(タンパク質=小麦グルテン(E))

あげると表10のとおりであった。

タンパク質の紫外線吸収作用は、一般にタンパク質中のアミノ酸のチロシン残基やトリプトファン残基によるとされており、絹繊維の黄変や脆化に対して、タンパク質中に存在するチロシン残基が関与することが知られている。ここで用いたペプチドについても、紫外部に強い吸収が認められたものでは紫外線遮蔽効果も同様に高く、チロシンやトリプトファンを多く含んだアミノ酸組成であった。

### 3. 1. 4 ペプチド付与加工繊維の染色性比較

付与加工したペプチドの違いによる染色性については、ペプチド濃度=2.5%でパッド法で付与した試料を酸性染料により染色し、分光光度計で測色して比較した。この結

表10 紫外線遮蔽効果の高いペプチド類

紫外線種類 遮蔽効果	UV-A		UV-B	
	ウール	ナイロン	ウール	ナイロン
BLANK	1.680	1.670	0.138	0.134
1	小麦(16) 1.265	全卵(12) 1.444	ホエー(B) 0.089	全卵(12) 0.110
2	大豆(6) 1.270	小麦(16) 1.498	大豆(7) 0.094	小麦(16) 0.120
3	アーモンド(17) 1.298	小麦(E) 1.500	小麦(16) 0.095	大豆(C) 0.122
4	全卵(12) 1.310	大豆(C) 1.550	全卵(12) 0.100	ホエー(B) 0.127

(注1) ペプチドの内容詳細は以下のとおり。

- 6. ハイニユートDL (大豆タンパク酵素加水分解物)
- 7. Phyto Collage (大豆タンパク枯草菌処理物)
- 12. エグレートNo.2 (全卵タンパク酵素加水分解物)
- 16. CromoistWHP (小麦タンパク酵素加水分解物+Honey)
- 17. Hydromond (アーモンドタンパク加水分解物)
- B. 乳タンパク (ホエー) 酵素加水分解物
- C. 大豆タンパク酵素加水分解物
- E. 小麦タンパク (グルテン) 酵素加水分解物

(注2) 紫外線吸収測定装置 (WACOM社製XB-25T1W1)

- UV-A波エネルギー=24.00mW/cm<sup>2</sup>
- UV-B波エネルギー=2.400mW/cm<sup>2</sup>
- 試料生地地上部20cmの高さから照射した。

果、表11~12のようにウール、ナイロンともペプチドNo.20が最もK/Sが大きく、以下、ウールでは19、18、ナイロンでは3、19の順であった。

### 3. 1. 5 ペプチド付与加工繊維の吸水性と吸湿性

ペプチド付与加工試料の吸水性について調べた結果、ナイロンの場合、架橋剤を使用しない場合も架橋剤を併用した場合も吸水性はblankと比較して大きいペプチドが多く、2~最大50倍の吸水速度の向上が確認できた(図20)。またウールについては、吸水時間が非常に長く、未加工生地と差が認められたがデータを割愛した。

この他、SKIN SURFACE HYDROMETERによりインピーダンス測定を行った結果、ウール、ナイロンともNo.18とAにおいてのみblankとの差が認められ吸湿性が高かった。結果の詳細は、75%R.H.の湿度雰囲気中で、ペプチドNo.18の場合blank=2に対して、

表11 機能性ペプチド加工ウールの染色特性

No.	表面染着率(K/S)	色差(ΔE*ab)
BLANK	7.49	基準色
1	8.37	1.61
2	8.23	1.27
3	8.50	1.74
4	8.71	2.22
5	8.47	1.90
6	8.29	1.67
7	8.23	1.40
8	8.13	0.90
9	8.26	1.05
10	7.82	0.94
11	8.29	1.42
12	8.54	1.71
13	8.10	1.54
14	9.16	2.88
15	8.07	0.93
16	8.64	1.85
17	8.85	2.24
18	10.01	4.63
19	10.14	4.19
20	11.85	7.30
A	8.92	2.45
B	8.17	1.34
C	8.25	1.97
D	8.97	2.32
E	8.47	2.11
ND	9.02	0.88
NE	8.37	1.15

表12 機能性ペプチド加工ナイロンの染色特性

No.	表面染着率(K/S)	色差(ΔE*ab)
BLANK	6.14	基準色
1	6.95	2.08
2	7.32	3.25
3	7.68	3.67
4	7.44	2.88
5	6.97	2.19
6	7.15	2.65
7	7.12	2.62
8	7.08	2.30
9	6.74	1.56
10	7.60	3.53
11	7.52	3.42
12	7.60	3.77
13	6.97	2.75
14	7.40	3.72
15	7.35	3.44
16	6.48	0.71
17	6.36	0.63
18	6.68	1.00
19	7.65	4.21
20	8.85	6.30
A	6.68	1.57
B	6.21	0.90
C	6.77	2.40
D	6.68	1.61
E	6.21	0.30
ND	6.70	1.51
NE	6.19	0.32

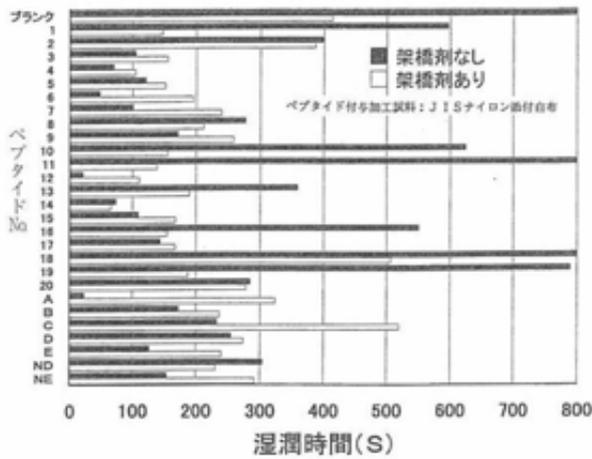


図20 吸水性試験結果 (JIS L 1907 滴下法)

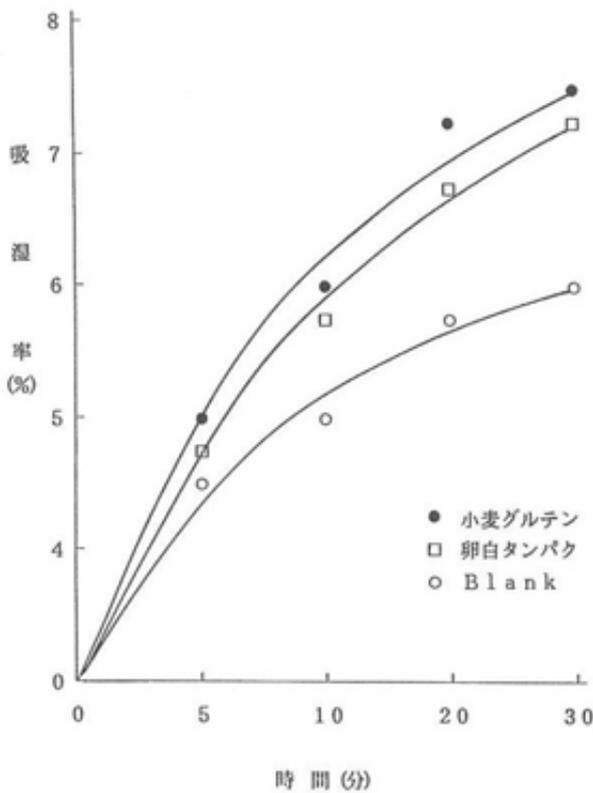


図21 ペプチド加工ナイロンの吸湿性

ウール=3、ナイロン=10で、ペプチドAの場合はナイロン=4 (単位= $\mu\text{S}$ )である。このことから、ここで行った布に対する加工のような、わずかな水分差の評価法としてはあまり適さないと考えられる。重量法による吸湿性評価結果については、図21に示した。

### 3. 1. 6 ペプチド付与加工繊維の耐光性

ペプチド付与加工試料の耐光性について、カーボンアーク照射を行って変化を調べた。

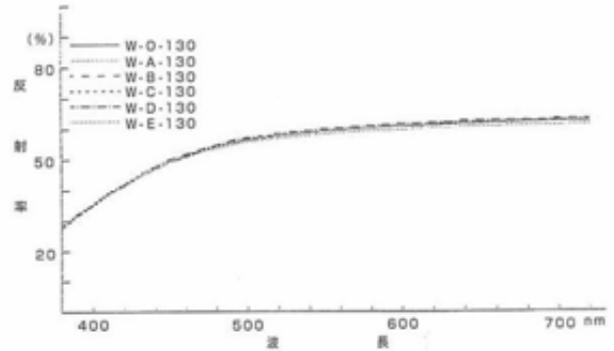


図22 ペプチド付与加工ウールの130時間カーボンアーク照射分光反射率曲線

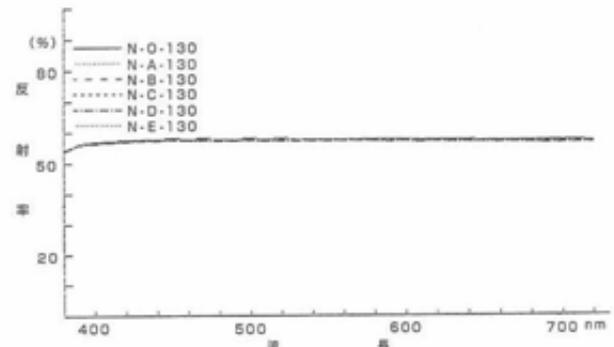


図23 ペプチド付与加工ナイロンの130時間カーボンアーク照射分光反射率曲線

この結果を分光反射率で比較したが、未加工試料と比較してウール、ナイロンとも大きな変化は認められなかった (図22~23)。また、測色機により色差や白色度、黄色度等の光学特性を比較した結果を表13に示した。

### 3. 1. 7 ペプチド付与加工繊維の帯電性特性

ペプチド付与加工による帯電性特性について比較した結果、ナイロン生地に付与加工した場合、blankと比較して半減期、飽和電圧とも低いペプチドがあることが明らかになった。特に10、11、12、NDと卵黄や卵白、全卵の場合や14、15、16、17、NEとコムギ蛋白やアーモンド蛋白の場合、半減期はいずれもblankの1/5~1/8程度短いことが確認できた (図24)。また、飽和電圧については、10、12、14、16、18、NDがblankよりも低い結果で、1/2~1/4程度低い (図

表13 機能性加工試料の耐光性

試料 No.	毛			ナイロン		
	L*	W	YI	L*	W	YI
B1	80.98	76.12	24.85	80.46	74.46	1.22
B2	80.55	74.93	30.08	79.95	75.18	1.46
1	80.47	73.89	31.83	80.18	75.44	1.00
2	81.54	75.09	31.04	79.85	75.04	1.15
3	81.81	75.18	32.52	79.54	74.69	1.03
4	80.39	73.81	31.96	79.22	74.32	0.76
5	80.73	74.22	31.30	80.11	75.36	0.78
6	80.36	73.91	30.69	80.09	75.33	1.68
7	80.44	73.93	31.19	80.01	75.24	0.78
8	80.52	73.61	34.70	79.99	75.16	4.16
9	81.85	75.49	30.38	80.82	76.19	0.84
10	81.02	74.31	32.87	80.42	75.37	9.77
11	82.65	76.18	31.14	81.33	76.79	1.07
12	81.41	74.88	31.96	80.84	76.21	0.82
13	82.16	75.72	31.12	81.11	76.53	0.70
14	80.70	74.22	31.02	81.16	76.59	0.81
15	81.54	75.19	30.42	80.86	76.24	1.06
16	80.36	73.54	34.46	79.47	74.52	1.92
17	81.26	75.21	32.21	79.14	74.19	1.54
18	78.98	72.47	33.05	79.71	74.86	2.73
19	81.04	74.67	30.12	80.23	75.52	0.36
20	80.92	74.00	34.84	80.56	75.73	6.65
A	81.12	74.73	30.37	80.41	75.73	0.57
B	81.46	74.99	31.19	80.58	75.93	0.44
C	81.05	74.52	31.52	80.46	75.78	0.41
D	81.46	75.00	31.07	80.27	75.56	0.52
E	80.60	74.25	29.82	80.23	75.52	0.78
ND	80.25	76.55	30.01	80.28	75.26	0.72
NE	80.21	76.50	32.23	80.09	74.05	0.86

(注) B1：未処理試料、B2：130時間カーボンアーク照射試料

24)。タンパク処理した化学繊維織物の帯電性を評価した研究例としては、小原らの報告がある。これは、ケラチンタンパクをポリエステルやアクリル、アセテート等に付与加工して、吸湿性や帯電性を評価したもので、ケラチンタンパクで処理した織物では、帯電性の低下が認められたとしている。<sup>5)</sup>ここでは、この報告と同様に各種タンパクのペプチドを織物に付与加工して帯電性を評価したが、ペプチド付与によって吸湿性が上がった結果、帯電性についても低下すると考えられる。筆者らの過去の研究例<sup>6)</sup>からもペプチド加

工によって、帯電性が低下することが確認されている。

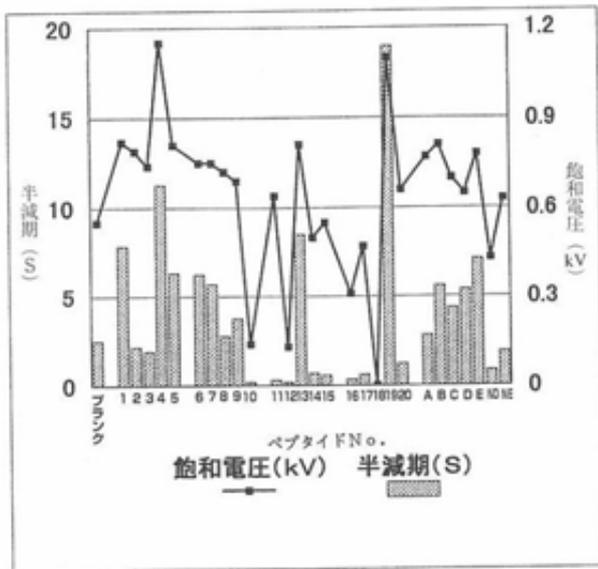
### 3. 1. 8 ペプチド付与加工織物の光沢度

ペプチドを付与加工した織物の光沢度を調べた結果、ウール、ナイロンともほとんどの試料で大きくなることが明らかになった。

(図25～28)

### 3. 1. 9 ペプチド付与加工繊維の皮膚刺激性

ペプチド付与加工試料の皮膚刺激については、ウサギにおける皮膚一次刺激性試験を行って評価した結果、5種類の酵素加水分解



帯電性試験方法  
 試験の種類：繊維及び織物の帯電性試験方法(JIS L 1004)A法(半減期測定法)  
 装置：シンドリ電気株式会社 オキスター H-0110  
 温湿度条件：20±2℃、相対湿度65±2%  
 印加電圧：10kV

図24 ペプチド付与加工ナイロンの帯電性

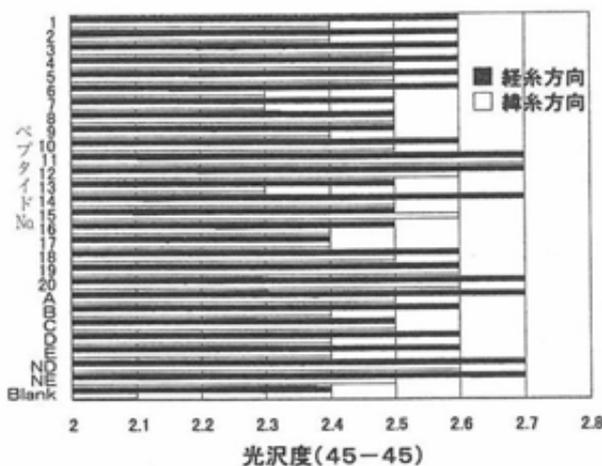


図25 機能性加工試料の光沢度 (45-45, 毛)

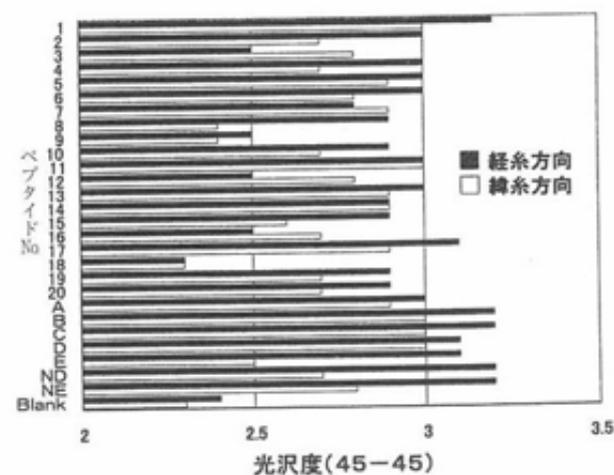


図26 機能性加工試料の光沢度(45-45, ナイロン)

(注1) (45-45)は、入射角度=45°、反射角度=45°を示す。  
 (注2) 経糸方向、緯糸方向は、入射光方向を示す。

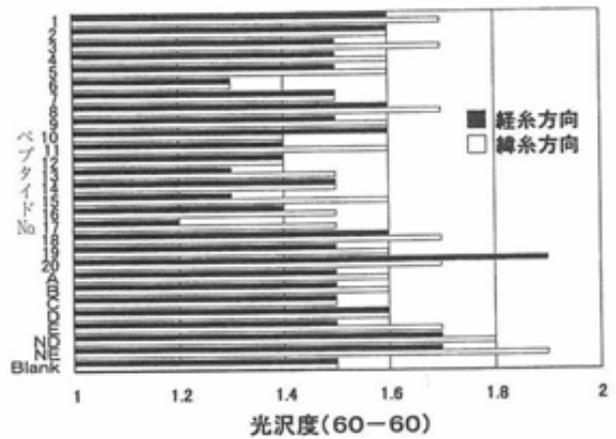


図27 機能性加工試料の光沢度 (60-60, 毛)

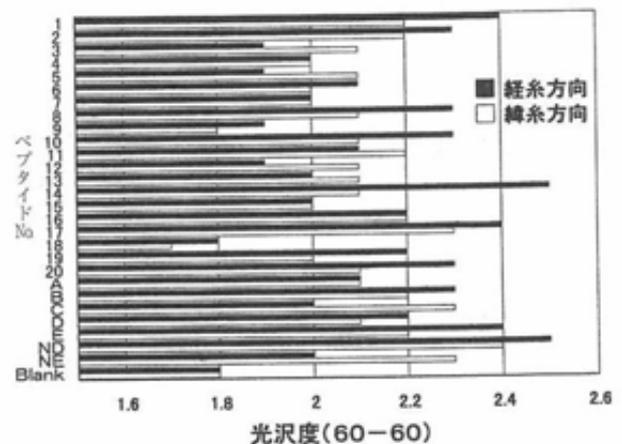


図28 機能性加工試料の光沢度(60-60, ナイロン)

(注1) (60-60)は、入射角度=60°、反射角度=60°を示す。  
 (注2) 経糸方向、緯糸方向は、入射光方向を示す。

ペプチドは全て刺激が認められなかった  
 (評価点=0)

### 3. 1. 10 ペプチド付与加工繊維の風合い特性

ペプチド付与加工した繊維の風合い特性については、KESにより表面特性並びに圧縮特性を調べた。この結果、表面特性、圧縮特性ともBLANKと比較してほとんど違いは認められなかった。表面特性値については、摩擦係数(MIU)は加工試料の方がわずかに大きい、摩擦係数の変動(MMD)は加工試料の方が小さい結果であった。また、SMD(表面凹凸の変動)についても変化が認められなかった。(表14~15)

表14 ペプタイド付与加工ウールの風合い値(表面特性)

試料 (ペプタイド)	MIU	MMD	SMD
BLANK	0.228	0.0164	6.58
乳タンパク (ホエー=B)	0.240	0.0161	7.16
大豆タンパク (C)	0.260	0.0155	6.60
小麦グルテン (NE)	0.240	0.0132	7.85

(注1) 各特性値は、WEFT方向のみの3回測定値の平均。

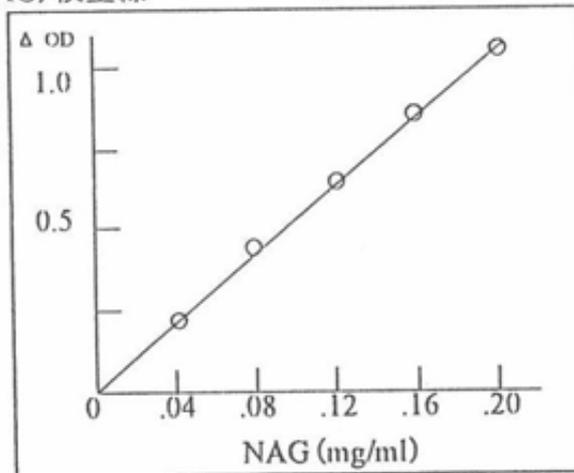
表15 ペプタイド付与加工ウールの風合い値(圧縮特性)

試料 (ペプタイド)	LC	WC	RC	TO	TM
BLANK	0.378	0.121	53.2	0.418	0.228
乳タンパク (ホエー=B)	0.349	0.141	53.4	0.461	0.312
大豆タンパク (C)	0.364	0.130	50.2	0.440	0.298
小麦グルテン (NE)	0.368	0.140	51.8	0.464	0.312

(注1) 各特性値は、3回測定値の平均。

Schaless 変法による N-アセチル グルサミン(NAG) 検量線

NAG (mg/ml)	OD (420nm)	Δ OD
0(対照)	1.148	
0.04	0.937	0.211
0.08	0.721	0.427
0.12	0.509	0.639
0.16	0.293	0.855
0.20	0.092	1.056



$r = 0.99995$

Factor ( $\Delta OD = 1$  のとき) = 0.188mg/ml

$NAG (mg/ml) = \Delta OD \times \text{Factor} \times \text{試料希釈倍数}$

反応液の分析

反応時間 (hrs.)	対基質酵素使用量 (%)					
	5		10		20	
	NAG (mg)	NAG 増加量 (mg)	NAG (mg)	NAG 増加量 (mg)	NAG (mg)	NAG 増加量 (mg)
0	2.24	—	2.74	—	3.53	—
1	3.30	1.06	5.30	2.56	8.88	5.35
2	4.98	2.74	7.85	5.61	14.01	11.77
3	6.50	4.26	10.58	7.84	18.35	14.82

図29 キトサナーゼによるキトサン分解反応の確認試験結果

### 3. 1. 11 酵素加水分解キトサンの抗菌活性

キトサン加水分解反応の確認試験結果は図29のとおりで、酵素反応液の分析を行った結果、反応時間並びに酵素使用量の増加に伴って、NAGの生成増加が確認できた。また、キトサンを酵素により加水分解した低分子量キトサンの抗菌性については、キトサンLLとその加水分解キトサンを毛織物にパディング法で付与加工して、抗菌活性を比較した。この結果、JISハロー法では、黄色ぶどう球菌でハロー形成が認められ、加水分解キトサンの方がハローの幅が大きいことが分かった。また、菌数測定法では黄色ブドウ球菌、肺炎桿菌ともにSEKの評価基準の1.6以上をクリアしたが、肺炎桿菌では差が認められ、低分子量キトサンの方が抗菌活性が高いことが判明した。シェークフラスコ法についての測定結果も、黄色ぶどう球菌、肺炎桿菌ともSEKの評価基準である26%をクリアしたが、いずれも低分子量キトサンの方が高いことが確認できた。(表16)

以上の結果から、キトサンは酵素加水分解した方が抗菌活性が高くなることが明らかになった。

### 3. 1. 12 ペプチド付与加工繊維の耐久性評価試験結果

ペプチド付与加工試料の耐久性については、JIS L0217-103法により繰り返し洗濯10回後のペプチドの付着状態を熱分解ガスクロマトグラフを用いて調べる方法により確認した。加工試料としては、ウールやナイロン生地にペプチドを付与加工したものを使用した。また、あらかじめ金属(銀)でラベルを施したペプチドを付与加工した織物について、繰り返し洗濯10回後の金属の付着量をSEM付属のEDXにより定量分析する方法でも確認した。

表16 酵素加水分解キトサンの抗菌性評価試験結果

1. 試料：毛100%毛織物  
キトサン：キトサンLL  
酵素：セルロシンCA 対基質5%  
pH5.0、55℃、60分振とう処理  
付与加工法：パッド法  
キトサン濃度 1%  
絞率 80%
2. 試験結果  
No.1 キトサンLL  
No.2 キトサンLLの加水分解物

#### (1)Halo法(繊維製品の抗菌性試験法：JIS L 1902)

試験菌種	Staphylococcus aureus	Klebsiella pneumoniae
菌濃度(個/ml)	$1.1 \times 10^6$	$1.5 \times 10^6$
Haloの幅(mm)	No.1	0
	No.2	0

(注)試験片の形態：28mm×28mm

#### (2)菌数測定法(SEK法)

試験菌種	Staphylococcus aureus	Klebsiella pneumoniae
接種菌数(個)	$5.1 \times 10^5$	$4.5 \times 10^5$
増減値差	No.1	5.07
	No.2	5.12

(注)増減値差1.6以上で有効

#### (3)シェークフラスコ法(SEK法)

試験菌種	Staphylococcus aureus	Klebsiella pneumoniae
接種菌数(個)	$1.6 \times 10^5$	$1.6 \times 10^5$
減菌率(%)	No.1	96.2
	No.2	97.7

(注)減菌率26%以上で有効

この結果、いずれの加工条件の試料からもペプチドが検出され、耐久性の高い加工法であることが明らかになった。(図30)

### 3. 1. 13 ペプチド付与加工繊維のSEMによる表面観察像

ペプチド付与加工繊維の表面をSEMで観察した結果、一般の樹脂加工と異なり、ウール、ナイロンとも非常に平滑な表面を呈していた。(写真1~7)

JEOL JED-2000  
Spectrum Plotting Program  
Printplot V02.05

Sample ID: B.Ag

Energy Range: 0 - 20 keV 10 eV/ch

Preset: Live Time 30 Seconds

Real Time: 32.86 Sec. Live Time: 30.00 Sec.

B% Deadtime 1048 Counts/Second

Cfs 512

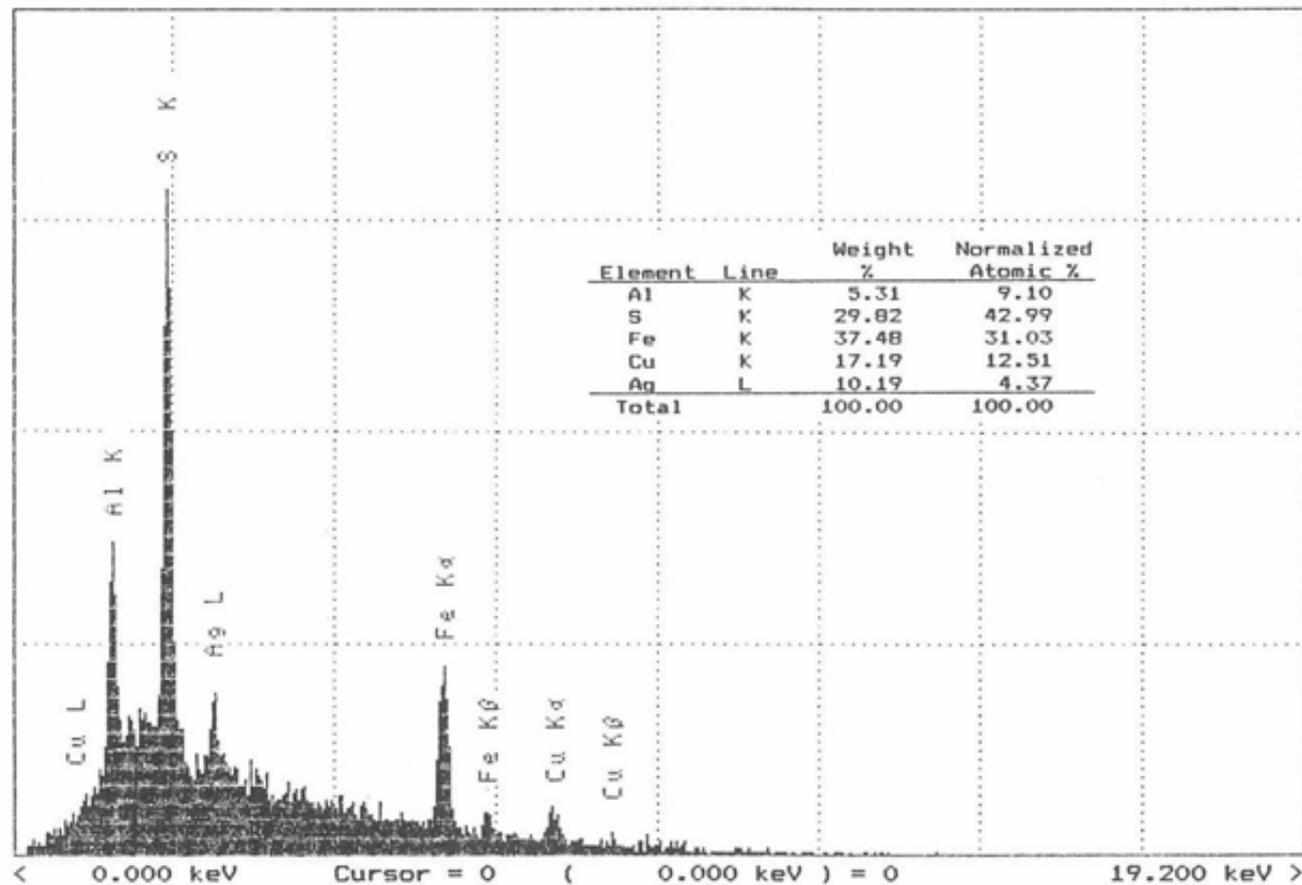


図30 EDXによる銀の検出

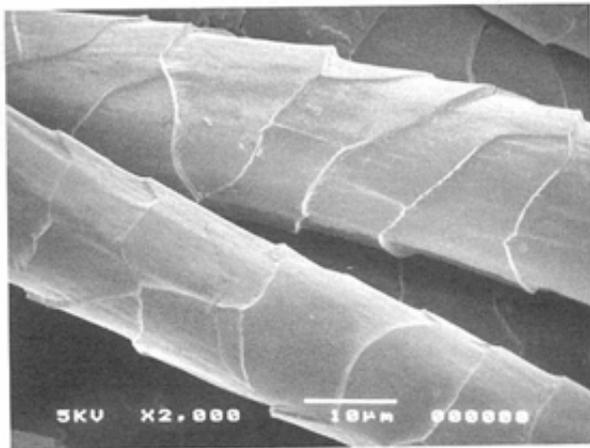


写真1 未加工ウール

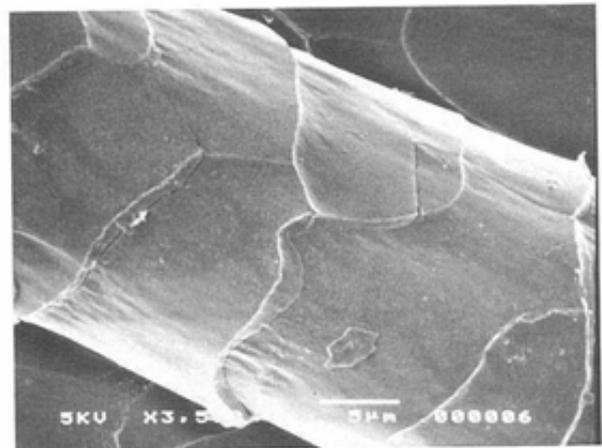


写真4 ペプチド加工ウール  
(ハイニユートDL=大豆タンパク)

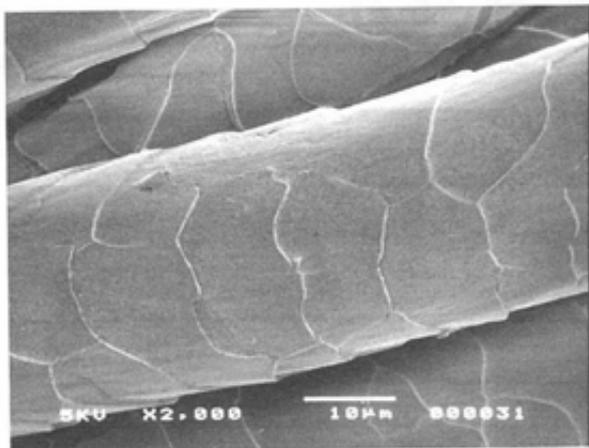


写真2 ペプチド加工ウール  
(B=乳タンパク (ホエー))

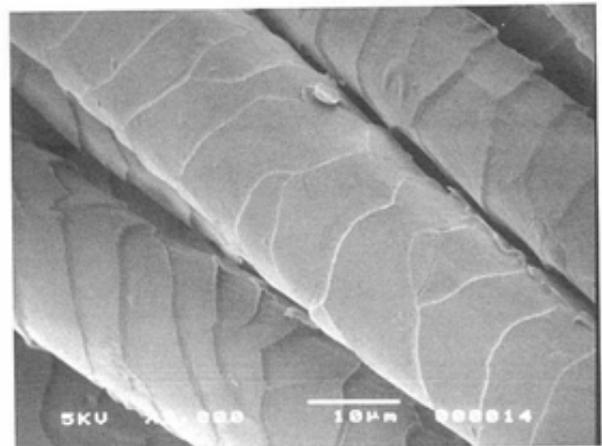


写真5 ペプチド加工ウール  
(コルタイトHQS=小麦タンパク)

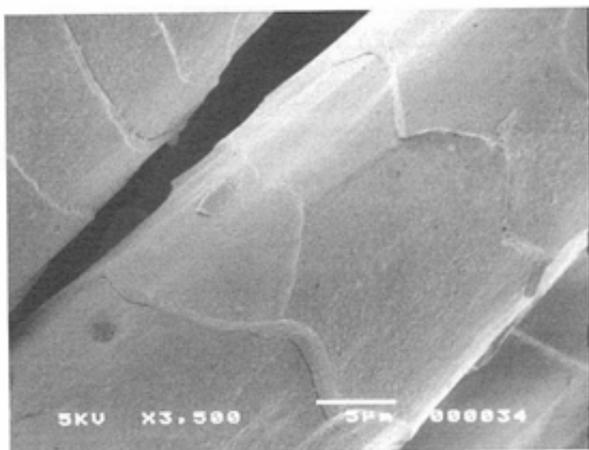


写真3 ペプチド加工ウール  
(D=卵白タンパク)

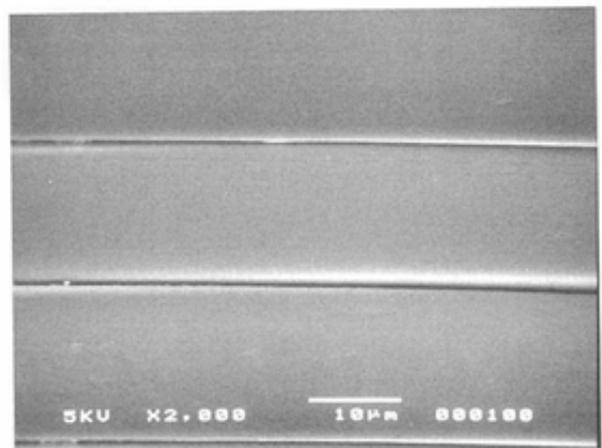


写真6 未加工ナイロン

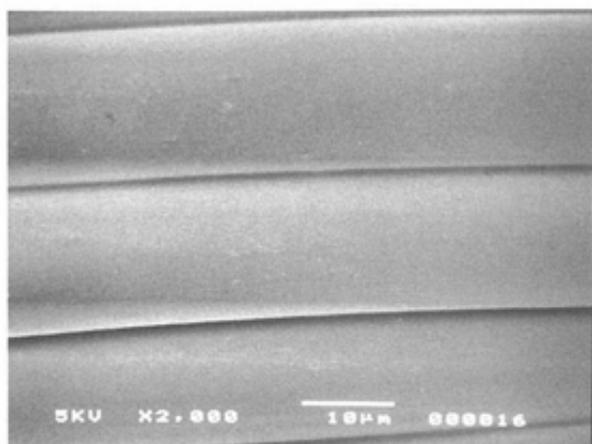


写真7 ペプチド加工ナイロン  
(Cromoist WHP=小麦タンパク)

#### 4. まとめ

以上、ペプチドや低分子量化した多糖類の持つ機能を有効に利用するため、これら天然由来の機能性ペプチドの調製法と特性解析、加工試料布の機能を評価した結果を述べた。機能性の高い繊維加工剤を開発するため、今まで繊維加工への利用例の少ない物質を中心に選定して試験を行った。この結果、紫外線遮蔽効果や吸水性、帯電性特性、光沢度等の諸特性の優れた機能性ペプチドの存在が明らかになった。また、この加工をインナー衣料等に应用する場合、肌に接する部分の皮膚刺激性が問題となる。しかし、化粧品原料等において最初に確認される皮膚一次刺激性試験による評価を試みた結果、乳タンパクや卵タンパク、大豆タンパク、小麦タンパク等の各種動植物性タンパク質の酵素加水分解ペプチド(5種類)は、全く刺激反応が認められないことが判明した。この他、耐久性等については、より高い性能が求められると考えられ、機会があれば試験を試みて検討を加える予定である。最後に、本研究で用いたような加工剤は天然由来のものが主で、地球環境問題に対しては有利な物質と考えられる。天然物の利用については、ますます研究開発の

必要性、重要性が高まってきており、本研究の成果が少しでも企業の発展に貢献できることを願っている。

得られた成果を要約するとつぎのとおりである。

- (1)各種動植物性タンパク質の酵素による加水分解ペプチド化試験を試みた結果、繊維の加工に適した分子量1万~2万5000の機能性ペプチドの分離・精製技術を明らかにした。
- (2)ウールやナイロンにペプチド付与加工を施して、紫外線遮蔽効果を調べた結果、UV-A波、UV-B波に対する遮蔽効果の優れたペプチドの存在が判明した。
- (3)ウールやナイロンにペプチド付与加工を施して、光沢度、吸水性、帯電性等を評価した結果、性能の高いペプチドの存在が判明した。
- (4)各種動植物性タンパク質の酵素による加水分解ペプチドについて、皮膚一次刺激性を試験した結果、いずれも皮膚刺激反応は認められなかった。

#### 5. 謝辞

本研究の遂行にあたって、酵素分解法並びに分子量分布測定について御助言を賜った天野製薬(株)中央研究所の平野賢一氏、並びに抗菌活性試験について御指導を頂いた一丸ファルコス(株)開発部の伴野規博氏に深く感謝いたします。また、キトサンの酵素分解について数多くの貴重な御意見を賜った阪急バイオインダストリー(株)の宮腰 強氏に厚く御礼申し上げます。この他、皮膚一次刺激性試験とその評価について協力を頂いた日本メナード化粧品(株)総合研究所の物部彰夫氏に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 北野、橋本、山本、坂川：テキスタイル & ファッション, Vol. 9, No. 6, 254~282 (1992)
- 2) 北野：染色工業, Vol. 43, No. 4, 180~194 (1995)
- 3) 北野、平石：テキスタイル&ファッション, Vol. 14, No. 10, 561~581 (1998)
- 4) 北野、平石：加工技術, Vol. 33, No. 7, 20~33 (1998)
- 5) 小原、滝沢、佐々木：家政学会誌, Vol. 49, No. 1, 45~47 (1998)
- 6) 北野、茶谷：テキスタイル&ファッション, Vol. 15, No. 10, 572~589 (1999)