

合成繊維用バイオポリッシング酵素の開発

茶谷悦司^{*1}、北本則行^{*2}、森川 豊^{*3}

Application of the Fungal Enzymes to Synthetic Fiber

Etsushi CHAYA, Noriyuki KITAMOTO and Yutaka MORIKAWA

Owari Textile Research Center, AITEC^{*1} Food Research Center, AITEC^{*2*3}

本研究ではエネルギー消費が少なく、排水負荷も少ないと考えられるかびの酵素を利用した環境調和型ポリエステル(PET)繊維改質加工技術の確立に取り組んだ。ラッカーゼなどの酸化還元酵素とリパーゼなどのエステル分解酵素がPET繊維の分解及び改質に有効であること、さらに両酵素を併用することにより、単独処理では得られなかった著しい表面変化が生じることを見出した。それと同時に、繊維に吸水・拡散性の向上といった優れた特性が付与されることを確認した。

1. はじめに

現在、PET繊維は合成繊維における生産量のシェアが約70%あり、天然繊維を含めた世界の繊維需要においても約35%を占める重要な繊維である。

一般に“ポリエステル”と呼ばれている繊維は、テレフタル酸とエチレングリコールからなるポリエチレンテレフタレート(PET)である。PET繊維は、結晶化度と配向性の高さに基づく繊維構造の緻密さのため風合いが硬く、染色も困難である。また吸湿性、吸水性に乏しく、帯電しやすいという欠点もある。

これらの欠点を補い衣料用繊維素材として適用するために、様々なPET繊維改質加工が行われている。一般にこれらの加工は、アルカリ剤、界面活性剤、合成樹脂などを用い、高温下で行われるため、エネルギー消費が大きく、使用済みの加工剤や分解生成物を含有した加工廃水が大量に発生することにより排水負荷を高める原因となっている。このため、温和な加工条件で処理ができ、排水負荷も少ないPET繊維改質加工技術の開発が望まれている。

そこで、本研究ではエネルギー消費が少なく、排水負荷も少ないと考えられるかびの酵素を利用した環境調和型PET繊維改質加工技術の確立に取り組んだ。まずPET繊維改質加工用酵素として有用と考えられるラッカーゼ¹⁾とリパーゼ²⁻⁴⁾に着目し、その生産菌のスクリーニングを行い、選択した菌株の生産する酵素のPET繊維に対する有効性を確認した。そして有用たんぱく質の大量生産システムを利用して生産した組換えラッカーゼとリパーゼを用いたバイオポリッシング加工技術の確立するため、組換えラッカーゼ、リパーゼの諸性質の検討、PET

繊維改質加工条件の検討、加工処理したPET繊維の特性評価を行った。

2. 実験方法

2.1 バイオポリッシング酵素生産菌のスクリーニング

繊維工場、廃水処理場、公園、畑などの土壌試料を採取し、各種選択培地を用いてリパーゼ、ラッカーゼ生産菌を分離した。分離菌株の生産する酵素のPET構成ユニットであるエチレングリコールジベンゾエート分解活性の評価などを行い、菌株の絞り込みを行った。

次に、候補菌株の生産する酵素でPET繊維を加工処理し、走査型電子顕微鏡による繊維外観の観察、帯電特性及び吸水性の評価を行い、最終候補を決定した。

酵素処理したPET布の特性変化の評価で良好であった菌株の染色体DNAから、Bornemanらの方法⁵⁾により18SリボソームDNAの部分領域をPCR増幅し、塩基配列を決定した。決定した塩基配列をDNAデータベースと比較した。また生理的形態的同定を(株)NCIMB Japanに依頼した。

2.2 組換え酵素の諸性質の検討

ラッカーゼ遺伝子高発現ベクターpTALC100で*Aspergillus oryzae*を形質転換することにより得た高生産株MY001を米ぬか培地(米ぬか3.0%、ポリペプトン1.0%、KH₂PO₄0.1%、NaNO₃1.0%、KCl0.2%、MgSO₄0.05%、CuSO₄0.0025%)中で30℃、7日間培養して得られた培養上清を、Q-SepharoseFFを用いて精製し、諸性質を調べた。

リパーゼD遺伝子高発現ベクターpTAFLipD210で*A. oryzae*を形質転換することにより得た高生産株FLD011をスターチペプトン(SP)培地(可溶性デンプン2%、ポリペプトン1%、KH₂PO₄0.5%、NaNO₃0.1%、MgSO₄0.05%)

*1 尾張繊維技術センター 加工技術室 *2 食品工業技術センター 応用技術室

*3 食品工業技術センター 発酵技術室

中で 30、100 時間培養して得られた培養上清を、Q-SepharoseFF を用いて精製し、諸性質を調べた。

2.3 PET 繊維の組換え酵素加工条件

20 × 20cm (約 10g) の PET 布を 5 mM の 1-Hydroxybenzotriazole を添加した組換えリパーゼ、ラッカーゼ混合溶液 (リパーゼ 0.5U/ml, ラッカーゼ 50U/ml) 200ml 中で、緩やかに振とうしつつ 40、5 時間反応させた。反応終了後、温浴中で数回洗浄した後 90、10 分間の加熱により酵素を失活させ、蒸留水で十分に洗浄し、乾燥させた。

2.4 PET 繊維のアルカリ処理、界面活性剤系吸水処理加工条件

アルカリ処理は次の方法で行った。5%の水酸化ナトリウム溶液に試験布を投入し、100、30 分処理した後水洗した。十分水洗を行った後、1%酢酸溶液に浸漬することにより中和処理を行った。洗浄液が中性になるまで蒸留水で十分に洗浄し乾燥させた。

吸水加工処理は次の方法で行った。吸水加工剤 (メイカフィニッシュ SRM-65: 明成化学工業株式会社製) 5% 溶液に試験布を浸漬し、ピックアップ率 100% になるように絞った。100 で 3 分間予備乾燥した後、180 で 30 秒熱セットした。温浴中で十分に洗浄を行い、固着しなかった加工剤を洗い流した。その後蒸留水で十分水洗し、乾燥させた。

2.5 各種加工処理された PET 繊維の特性評価方法

各種加工処理した PET 布の表面観察は、イオンスパッタリング装置 JFC-1100E (日本電子(株)製) により白金コーティングした後、走査型電子顕微鏡 JSM-820 (日本電子(株)製) を用いて加速電圧 10kV で行った。

吸水特性は、JIS L 1907 の滴下法とパイレック法で評価した。速乾性は、プラスチックプレート上に 1ml の蒸留水を置き、約 10 × 10cm の PET 布をその上にのせ、時間の経過とともに水分が蒸発し重量が減少してゆくの測定することにより水分保持率を算出した。測定は 30 の恒温室で行った。

処理した PET 系の強伸度評価は、引張試験機 AG-500A (島津製作所製) を用いて標準状態 (温度 20、相対湿度 65%) で破断強度と伸度を測定した。チャック間距離は 50mm、引張速度は 50mm/min で行った。

3. 実験結果及び考察

3.1 バイオポリッシング酵素生産菌スクリーニング

県内各所で採取した土壌試料からバイオポリッシング酵素生産菌を分離した。

最良の結果を示した菌株は、18S リボソーム DNA の部分領域の塩基配列解析と生理的形態的同定により、*Paraphaeoshaeria* sp. KL112 株 (ラッカーゼ生産菌)、

Fusarium solani 5112 株 (リパーゼ生産菌) と同定された (図 1)。

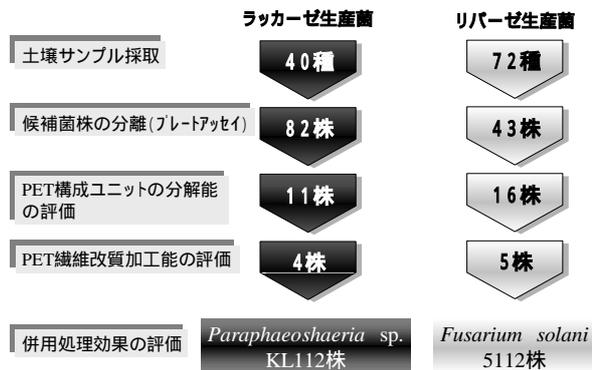


図 1 バイオポリッシング酵素生産菌のスクリーニング

3.2 組換え酵素の諸性質と PET 繊維改質加工条件の検討

選択した菌株からラッカーゼ、リパーゼ遺伝子をクローニングして、遺伝子構造を解析し、組換え麹菌を用いた有用たんぱく質の大量生産システムを利用して組換えラッカーゼとリパーゼを生産した。この組換え酵素の諸性質を評価した結果を表 1 に示す。

表 1 組換え酵素の諸性質

	組換えラッカーゼ	組換えリパーゼ
至適pH	6.0	6.0~9.0
至適温度	55	35
熱安定性	50	35
pH安定性	6.0~9.0	4.0~11.0

PET 繊維の吸水性変化、電子顕微鏡による外観変化観察、酵素の諸性質の測定結果、残存活性の測定などを指標として、反応温度、反応時間、酵素量などの最適反応条件を決定した。

ラッカーゼの反応温度と時間については、40 では 5 時間、50 では 2 時間ほどが適当であった。反応後の残存活性を測定したところ、40 の場合は 5 ~ 6 時間で、50 の場合は約 2 ~ 3 時間でほとんど活性がなくなった。作用時の pH は pH5.0 ~ 6.0 が適当であった。酵素量については PET 繊維 1 g に対して 500U 以上反応させることにより吸水性が顕著に改良されることがわかった (図 2)。

組換えリパーゼはラッカーゼよりも処理効果の温度依存性が小さかった。酵素の安定性などを考慮して反応は 40 以下で行うことが適当であった。また酵素量に

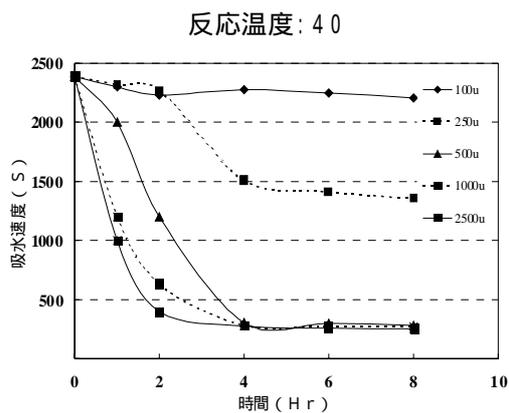


図2 組換えラッカーゼの反応条件の検討

についてはPET繊維1gに対して10U以上で顕著に吸水性が改良されることがわかった(図3)。これらの結果を表2にまとめた。

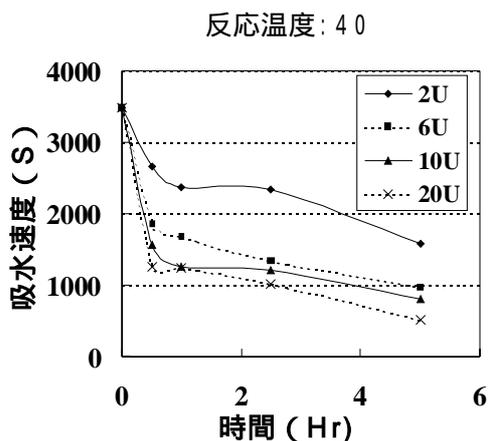


図3 組換えリパーゼの反応条件の検討

表2 組換え酵素の作用条件

	組換えラッカーゼ	組換えリパーゼ
反応温度と時間	40~50、 5~2時間 (40、5時間**)	40、5時間
反応pH	5.0~6.0 (5.0~7.0**)	7.0~8.0
酵素量*	500U	10U

* 酵素量: PET繊維1gに作用させる酵素量

** カッコ内の数字は併用処理する場合の条件

次に、リパーゼとラッカーゼを同時にPET繊維に作用させる一浴処理の反応条件について検討を行った。反応温度は酵素の安定性等を考慮して40とした。最適pHはpH5.0~7.0であった。pH7.0以上になると吸水性の改質効果が極端に低下した。吸水性改質に大きなウエイトを占めるラッカーゼがこの条件では作用しないことが原因と考えられる。ラッカーゼとリパーゼを一浴で処理する方法は、それぞれの酵素を二浴で別々に処理する方法よりもPET繊維の吸水性改質効果は若干劣るものの、実用上問題のないレベルまで吸水性を改良できることがわかった。

3.3 組換え酵素で処理したPET繊維の特性評価

従来からPET繊維の吸水性付与加工に使用されている界面活性剤系市販吸水加工剤との性能比較を行うことにより、バイオポリッシング酵素の吸水性付与加工剤としての適用可能性を検討した。また、標準的なアルカリ処理との性能比較も行った。

バイレック法と滴下法で種々の加工を施したPET布の吸水性を評価した結果を図4に示す。バイオポリッシング酵素処理したPET布は、界面活性剤系吸水加工剤を施したものと同等の吸水・拡散性を示した。一方、アルカリ処理を行ったPET布は拡散性に劣っていた。

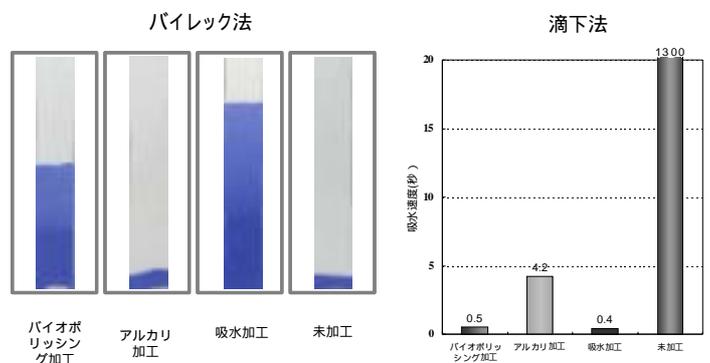


図4 各種加工処理を施したPET布の吸水性

速乾性を評価した結果を図5に示す。バイオポリッシング加工を施したPET布はすばやく水を拡散させ、水の蒸発を促し、乾燥を速めることがわかった。一方、吸水・拡散性に劣るアルカリ加工を施したPET布は、乾燥性が悪かった。バイオポリッシング加工により吸水性が改良された理由は、バイオポリッシング酵素処理によりPET繊維表面に微小なクラックが発生し(図6)、毛細管現象により水滴の拡散性が良くなったためと考えられる。

PETと羊毛混紡生地についても同様に試験したところ、バイオポリッシング加工によって生地に吸水性が付与できることがわかった。

4. 結び

本研究では、ラッカーゼなどの酸化還元酵素とリパーゼなどのエステル分解酵素がPET繊維の分解及び改質に有効であること、さらに両酵素を併用することにより、従来の単独処理では得られなかった著しい表面変化が生じることが見出された。それと同時に、繊維に吸水・拡散性の向上といった優れた特性が付与されることを確認した。

リパーゼ、ラッカーゼを用いたバイオポリッシング加工で、PET100%の織編物のみでなく基質特異性という酵素の特長を生かして羊毛とPET混紡織編物の吸水性、拡散性、速乾性を改良できることがわかった。これは従来のアルカリ処理で成し得なかったものである。また、スポーツウェア、ポロシャツ用生地などにこの加工を適用することにより、実工程で使用実績のある界面活性剤系吸水加工剤と遜色ない性能を示すことがわかった。

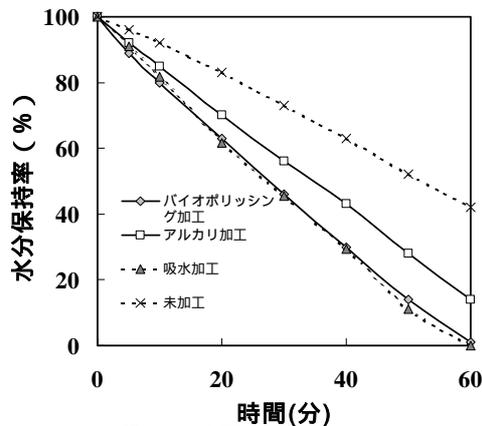
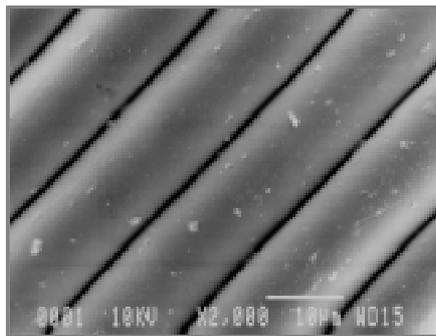
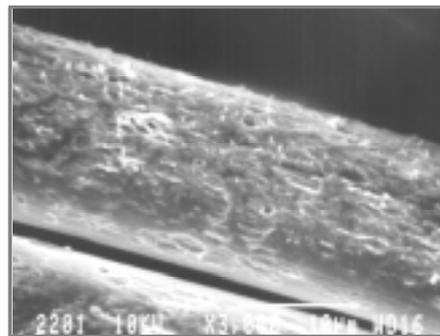


図5 各種加工処理を施したPET布の速乾性



未加工



バイオポリッシング加工

図6 酵素で処理されたPET繊維の外観変化

処理後の繊維強度変化の測定結果より、バイオポリッシング加工によって極端な強伸度低下は起こらないことが確認でき、酵素反応が表面のみにとどまっていることが示唆された。PETと羊毛混紡生地についても同様に試験したところ、バイオポリッシング加工によって繊維強度は低下しなかった。

これらのことからバイオポリッシング酵素は、吸水性付与加工剤として適用可能であることが判明した。

文献

- 1) P. H. Nielsen: Novo Nordisk Enzyme Symposium, 32(1997)
- 2) L. Hsieh, L. A. Cram: *Textile Res. J.*, **68**, 311(1998)
- 3) 藤田早苗, 高橋優子, 末信一郎, 榎原三樹男: 日本生物工学会平成14年度大会講演要旨集, p.165(2002)
- 4) M. Y. Yoon, J. Kellis, A. J. Poulou: *AATCC REVIEW*, **6**, 33(2002)
- 5) J. Borneman, R. J. Hartin: *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 4356(2000)