

繊維状高分子の酵素処理に関する研究

第1報 ナイロンの酵素処理について (其の1)

小 谷 昭 子

増 田 依 子

麓 泉

1. 緒 言

生体高分子に対して酵素が作用する事は言うまでもない。天然の繊維状高分子物質に対しても、例えば“酵素練り”と称して、生糸の Sericin を分解除去する精練方法があり、Trypsin, Pepsin, Protease などの酵素が使用できる事は公知とされている。

しかし酵素作用の特異性から考えて、人工的に合成された高分子物質が酵素の作用を受ける為には、合成物質の側に、それに適合する条件を具備する事が必要とされる。古くから言われているように、ある種の酵素によって分解を受け得る基質は、いわゆる“鍵と鍵穴”の関係にあり、構造的に同一か、もしくは極めて酷似の物質でなければならないとされていて、例えば絹タンパクを分解し得た酵素が、同程度に羊毛タンパクを分解できるとは限らない。

天然絹の構造を目標として Calothers らにより開発されたナイロンにしてみても、構造中にアミド結合を有し、蛋白アミノ酸の結合様式に一応似ているとはいえ、その構成単位はアミノ酸ではなく、合成タンパク的構造にほど遠いものである。従って絹を分解し得た酵素がナイロンを分解し得ると思われる確率は、きわめて少ないものと予想せざるを得ない。

しかし、このようになかば定説化された常識論を無視して、仮に実験が試みられた場合に、定説に疑問を与える結果が得られないとも限らない。

我々は既成のポリアミド繊維が、強力なタンパク分解酵素で処理された場合に、どのような変化を受けるかについて実験を試みることにした。

実験方法の段階としては、ポリアミドのトリマー、テトラマー等の低分子物からはじめるのが常法と考えられたが、我々の研究の目的が既存の繊維状合成高分子物に対する酵素作用であるので、かような予備実験が、必ずしも目的への順序に適合するとは限らないと判断し、当初から市販のナイロン織物を試料として、酵素処理を行ない、その加水分解の程度を知る方法としては、試料繊維の酸性染料による染色量を調べることにした。即ちナイロンの末端基の定量には酸滴定による方法があり¹⁾、一般に利用されているようであるが、得られた数値と、酸性染料の吸着量がほぼ相関関係にあるという報告がある。²⁾従って、本報では末端基の増加の程度を、酸性染料による吸着量の増加の程度を以て間接に察知する方法をとった。

2. 実 験

2. 1. 試料布

ナイロンは日本レーヨン製スパンナイロン布 (100%)，平織粗布 23×23/square inch の精練済みのものを使用した。また同一条件下での天然絹に対する作用を検討するために、市販の羽二重を未精練のまま同浴で用いることにした。

2. 2. 酵素

Prozyme (Strepto-mycetes Protease) 協和醸酵工業製 10,000p.u./g^{註)}を使用した。メーカーによればこのものは、放線菌の培養液から得られた強力なタンパク分解酵素であるとされている。

註) p.u.=Proteolytic Unit of Nagase……長瀬産業試験規格による。

2. 3. 酵素処理

酵素処理実験に組み込まれる因子および水準を次のごとく定め、3元配置とした。

酵素の量 (A)	{	A ₁ 0.03% solu.
		A ₂ 0.09% solu.
処理時間 (B)	{	B ₁ 4時間
		B ₂ 8時間
酵素追加時間 (C)	{	C ₁ 1時間
		C ₂ 2時間

註 酵素追加時間は処理中の経時による失効を考慮して、初浴に用いられた量と同量をくり返し追加する時間間隔である。

試料布は 10×5cm に切断し、絹、ナイロン各 3 枚ずつを同浴で処理した。処理浴は PH 7.4 の燐酸緩衝液 200cc (浴比 1:70) とし、安定剤として Ca (CH₃COO)₂ を 0.2% o.w.f. 加え、温度は 50°C とした。

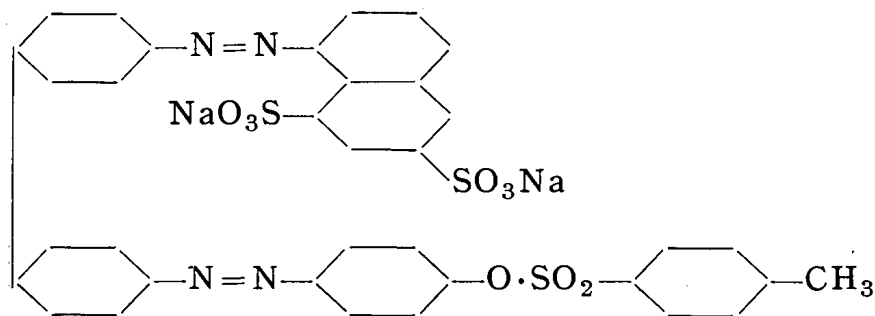
処理後は水洗し、かるく絞って乾かない間に染色工程にうつした。

なお、Control された試料布を得るために、安定剤のみを加え、酵素処理と同じ条件にて、4 および 8 時間の処理をおこなった。

2. 4. 染色

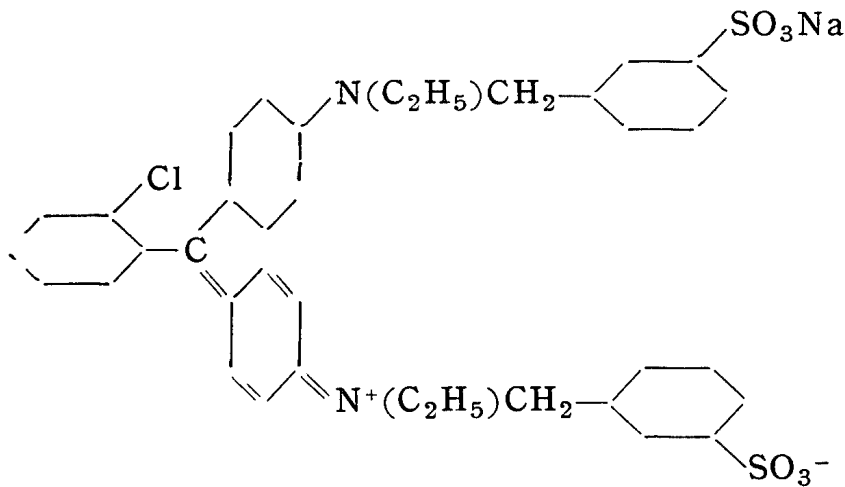
2. 4. 1. 染料

次の 3 種の酸性染料の市販品をそのまま使用した。いずれもミリングタイプである。



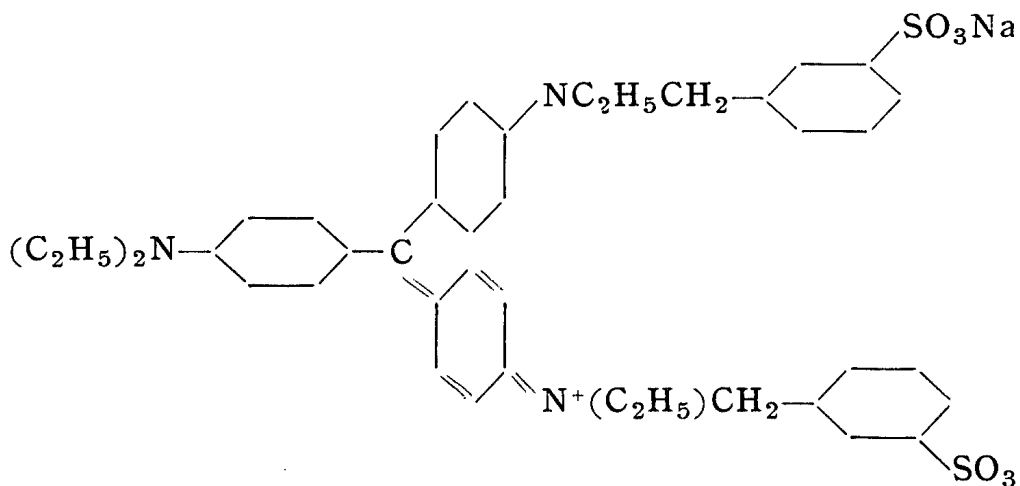
Suminol Milling Red PG

(C.I. Acid Red 85)



Brilliant Milling Green NS

(C.I. Acid Green 9)



Solar Violet 5BN conc.

(C.I. Acid Violet 17)

2. 4. 2. 染色方法

染料 0.02g を 100c.c. にとかし、酵素処理後の絹、ナイロン各 1 枚ずつを入れ、95°C で 3 時間染色し、後水洗いして自然乾燥した。染浴には一切の助剤の使用をさけた。

2. 4. 3. 染着度の測定

染色した試料布の表面を東芝精密型光電色沢計により、表面色の補色又はそれに近い色のフィルターを使用して反射率を測定し、染着度をあらわす数値と

した。すなわち反射率が低いほど染着度が高くなるものと見做した。測定は布の位置を90度まわして2回測定し、平均値を求めた。

3. 結 果

前節の方法により反射率を測定した結果をそれぞれの染料について第1表(a)(b)(c)に示した。

第1表 (a)
Suminol Milling Red PGにて染色した布の反射率
(フィルターGの透過光による反射)

酵素処理条件	絹	ナイロン
A ₁ B ₁ C ₁	28.4%	7.3%
A ₁ B ₁ C ₂	24.9	7.2
A ₁ B ₂ C ₁	23.8	6.4
A ₁ B ₂ C ₂	25.8	6.9
A ₂ B ₁ C ₁	23.1	6.5
A ₂ B ₁ C ₂	25.0	6.7
A ₂ B ₂ C ₁	19.6	6.0
A ₂ B ₂ C ₂	26.1	6.7
control (4 hr.)	27.6	7.1
control (8 hr.)	25.7	7.3

第2表 (b)
Brilliant Milling Green NSにて染色した布の反射率
(フィルターRの透過光による反射)

酵素処理条件	絹	ナイロン
A ₁ B ₁ C ₁	8.0%	11.2%
A ₁ B ₁ C ₂	8.9	12.1
A ₁ B ₂ C ₁	7.1	10.5
A ₁ B ₂ C ₂	7.4	11.2
A ₂ B ₁ C ₁	5.7	8.7
A ₂ B ₁ C ₂	5.7	9.5
A ₂ B ₂ C ₁	5.1	7.1
A ₂ B ₂ C ₂	8.2	10.8
control (4 hr.)	8.0	12.9
control (8 hr.)	8.1	12.8

第1表 (c) Solar Violet 5BN conc にて染色した布の反射率
(フィルターRの透過光による反射)

酵素処理条件	絹	ナイロン
A ₁ B ₁ C ₁	11.5%	7.9%
A ₁ B ₁ C ₂	11.4	9.2
A ₁ B ₂ C ₁	9.5	7.3
A ₁ B ₂ C ₂	9.6	8.6
A ₂ B ₁ C ₁	9.6	7.8
A ₂ B ₁ C ₂	9.6	8.3
A ₂ B ₂ C ₁	9.4	7.0
A ₂ B ₂ C ₂	11.6	9.5
control (4 hr.)	11.6	9.5
control (8 hr.)	11.3	9.5

これらの結果を解析するためにあたって、先ず control との反射率の差から、次式により酵素処理による染着増加度を求め、その結果を第2表(a)(b)(c)に示した。

$$\frac{\text{control 布の反射率} - \text{酵素処理布の反射率}}{\text{control 布の反射率}} \times 100 = \text{染着増加度}$$

第2表 (a) Suminol Milling Red PG による染着増加度

(絹)

		A ₁	A ₂
B ₁	C ₁	-2.9	10.1
	C ₂	9.8	2.7
B ₂	C ₁	13.8	23.8
	C ₂	6.5	-1.6

(ナイロン)

		A ₁	A ₂
B ₁	C ₁	-2.8	11.0
	C ₂	-1.4	8.2
B ₂	C ₁	9.9	17.8
	C ₂	2.8	8.2

第2表 (b) Brilliant Milling Green NS による染着増加度
(絹) (ナイロン)

		A ₁	A ₂			A ₁	A ₂
B ₁	C ₁	0	29.6	B ₁	C ₁	13.2	32.0
	C ₂	-11.3	29.6		C ₂	6.2	25.8
B ₂	C ₁	11.3	37.0	B ₂	C ₁	18.6	44.5
	C ₂	7.5	-1.2		C ₂	13.2	15.6

第2表 (c) Solar Violet 5BN conc による染着増加度
(絹) (ナイロン)

		A ₁	A ₂			A ₁	A ₂
B ₁	C ₁	0.9	15.1	B ₁	C ₁	16.8	17.9
	C ₂	1.7	15.1		C ₂	3.2	12.6
B ₂	C ₁	18.1	16.8	B ₂	C ₁	23.2	26.3
	C ₂	17.2	-2.7		C ₂	9.5	3.2

次にこれら染着増加度の結果から，酵素処理の各因子につき，染着に影響するとみられる有意差の有無を検定するために分散分析をおこない，その結果を第3表～第5表に示した。

第3表 (a) Suminol Milling Red PG による染着増加度の分散分析 (絹)

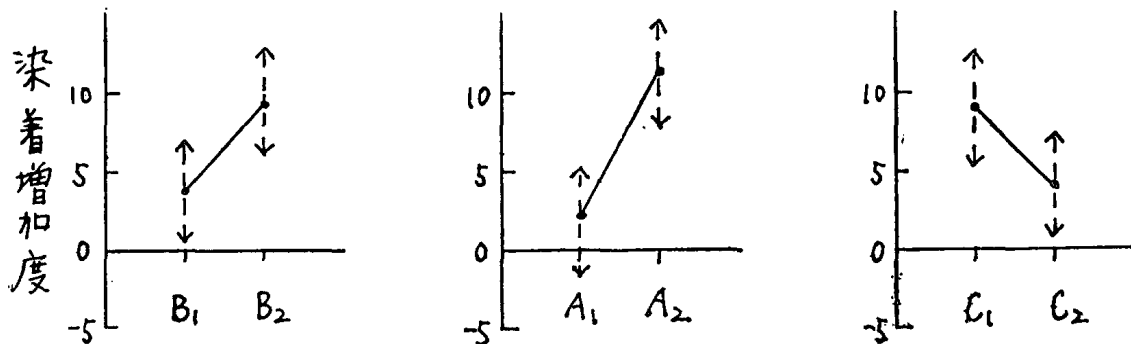
要因	S	ϕ	V	F ₀	F(0.05)
A	5.11	1	5.11		18.5
B	62.49	1	62.49	5.56	
C	111.35	1	111.35	9.9	
A×C	164.90	1	164.90	14.7	
B×C	162.99	1	162.99	14.5	
e(A×B)	22.50	2	11.25		
T	529.34	7			

第3表 (b) Suminol Milling Red PG による染着増加度の分散分析 (ナイロン)

要因	S	ϕ	V	F ₀	F(0.05)	F(0.01)
A	168.32	1	168.32	* 561.1	161	4052
B	70.17	1	70.17	* 233.9		
C	40.91	1	40.91	△ 136.4		
A×B	12.80	1	12.80	42.7		
A×C	5.66	1	5.66	18.9		
B×C	29.31	1	29.31	97.7		
e	0.3	1	0.3			
T	327.47	7				

4. 考 察

第3表(a)によると、Suminol Milling Red PG を用いた場合、絹では染着度に関する酵素処理因子の影響は、いずれも有意ではない。しかし第3表(b)に示すようにナイロンでは、95%信頼度において酵素処理因子のA、Bが、共に染着度に関して有意であり、Cは90%信頼度にて有意である。これらを第1図に示すとAの主効果は、 $A_1 < A_2$ で、Bは、 $B_1 < B_2$ 、Cは、 $C_1 > C_2$ となることがわかり、酵素量を多く、追加時間を短かく、処理時間を長くした方が、染着度を増加させることがわかる。



第1図 Suminol Milling Red PG による染着増加度の要因効果 (ナイロン)

第4表 (a) Brilliant Milling Green NS による
 染着増加度の分散分析 (絹)

要因	S	ϕ	V	Fo	F(0.05)	F(0.10)
A	957.01	1	957.01	3.65	161	39.9
B	5.59	1	5.59			
C	355.09	1	355.09	1.36		
A×B	357.81	1	357.81	1.37		
A×C	66.83	1	66.83			
B×C	117.89	1	117.89			
e	260.87	1	260.87			
T	2121.09	7				

第4表 (b) Brilliant Milling Green NS による
 染着増加度の分散分析 (ナイロン)

要因	S	ϕ	V	Fo	F(0.05)	F(0.01)
A	556.06	1	556.06	*10.77	7.71	21.2
B	27.31	1	27.31			
C	281.98	1	281.98	5.47		
e(A×B, A×C, B×C)	206.38	4	51.6			
T	1071.73	7				

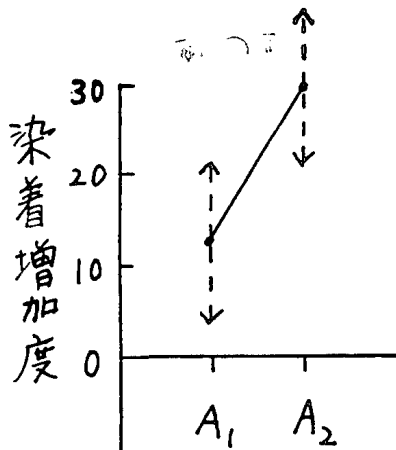
第5表 (a) Solar Violet 5BN conc による
 染着増加度の分散分析 (絹)

要因	S	ϕ	V	Fo	F(0.05)	F(0.10)
A	5.13	1	5.13		161	39.9
B	34.45	1	34.45			
C	48.03	1	48.03	1.21		
A×B	297.67	1	297.67	7.51		
A×C	47.03	1	47.03	1.19		
B×C	56.17	1	56.17	1.42		
e	39.62	1	39.62			
T	582.01	7				

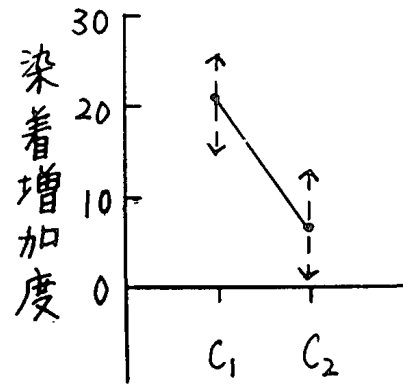
第5表 (b) Solar Violet 5BN conc による
 染着増加度の分散分析 (ナイロン)

要因	S	ϕ	V	Fo	F(0.05)	F(0.01)
A	6.62	1	6.62		7.71	21.2
B	17.07	1	17.07			
B	387.77	1	387.77	* 15.07		
$e\left(\begin{matrix} A \times B, A \times C \\ B \times C \end{matrix}\right)$	102.91	4	25.73			
T	514.37	7				

Brilliant Milling Green NS を用いた場合、第4表(a)に示すとおり、絹はやはり各因子に明確な有意差を与えなかったが、第4表(b)でナイロンは95%



第2図 Brilliant Milling Green NS
 による染着増加度の要因効果
 (ナイロン)



第3図 Solar Violet 5BN conc.
 による染着増加度の要因効果
 (ナイロン)

信頼度でAが有意となった。これを第2図に示すとAの主効果は $A_1 < A_2$ である。

Solar Violet 5 BN conc を用いた場合についても、第5表(a)に示すとおり絹は、各因子について明確な有意差が認められず、第5表(b)でCの有意差を認め、第3図によって、 $C_1 > C_2$ であることがわかった。

かように、ナイロンの方が絹よりもむしろ大きな有意差を染着度の増加にお

いてあらわしている。

以上のような染着度の増加から、酵素の加水分解により、末端アミノ基が増加したと断定するにはなお早計であるが、その可能性は充分考えられる。これを裏付ける末端アミノ基の化学分析は次回にゆずることとする。

また本報の実験では酵素の失効を予想して、1時間ごと、あるいは2時間ごとに酵素を追加したが、結果的に充分失効しないうちに酵素を累加したことも考えられるので、この点についても次回に明らかにしたい。

5. 総 括

既成のポリアミド繊維ナイロン6が、酵素 Prozyme によって、加水分解作用を受けるか否かについてナイロンの被染色性の変化から判断する実験をおこなった。すなわち処理浴の PH, 温度を一定とし、酵素濃度, 処理時間, 酵素追加時間をそれぞれ2水準にとり、天然絹と同浴で処理をおこない、酸性染料(ミリング, タイプ)で染色して、試料布の表面反射率から染着度の増加を推察した。

その結果、1回に添加する酵素量を多くし、(浴濃度 0.03% より 0.09%) 酵素追加時間を短かくし、(2時間ごとよりも1時間ごと)、処理時間を長くした方(4時間よりも8時間)が、染着度の増加を大きくすることがわかり、とくに酵素の量に関係した酵素処理が、ナイロンの被染色性に関連することが明らかである。このことによってナイロンが酵素 Prozyme により加水分解を受け、アミノ末端基を増加するという可能性が考えられる。

絹はむしろその傾向がナイロン程に示されなかった。

文 献

- 1) Waltz, J.E and Taylor, G.B; *Anal. Chem.*, **19**, 448 (1947)
- 2) N.J. Bhatt and E.H.Daruwalla; *Tex. Research J.*, **34**, 435 (1964)