羊毛の酵素処理における界面活性剤前処理の酵素反応促進効果

大阪市立工業研究所 吉村由利香・大江 猛・安部郁夫
京都工芸繊維大学 澤田和也

Promoting Effect of Surfactants on Enzyme Treatment of Wool

Yurika Yoshimura^{*1}, Takeru Ohe^{*1}, Ikuo Abe^{*1}, and Kazuya Sawada^{*2}

^{*1}Department of Organic Chemistry, Osaka Municipal Technical Research Institute,
1-6-50, Morinomiya, Joto-ku, Osaka 536-8553, Japan

^{*2}Department of Chemistry & Materials Technology, Kyoto Institute of Technology,
Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto 606-0962, Japan

Abstract: In order to develop new shrink-resistance finishing by using enzyme, the promoting effect of surfactants on enzyme treatment of wool was studied. Wool fabric was pretreated with anionic surfactants. This pretreatment accelerates the following enzyme treatment remarkably, and high weight loss values over 30% were obtained within 3 hours. The typical anionic surfactants, fatty acid sodium salts and sodium dodecyl sulfate (SDS) show the different promoting effects, respectively. Oleic acid sodium salt works in the center of wool fiber, and hydrolyzes the cell membrane complex in cortex. The other hand, SDS works in the scale on the wool surface. The SDS depresses the fibrillation of wool fiber and improves fiber strength.

(Received 7 January, 2002; Accepted 15 July, 2002)

1. 緒 言

羊毛は、綿と並ぶ代表的な天然繊維であり、保温性、はっ水性、通気性などに優れ、衣料、インテリアなど種々の分野で多用されている。しかし、羊毛は形態安定性が極めて悪く、濡れた状態で繊維に機械的な作用が加わると簡単にフェルト化や収縮を起こす。したがって、羊毛の洗浄は、繊維の収縮を防ぐために、有機溶剤系のドライクリーニングで行わなければならない。しかし、近年、ドライクリーニング溶剤の環境への負荷が問題となり、洗浄力の高い溶剤の使用規制が世界的に進められ、また、消費者の衛生志向の高まりによって、ドライクリーニングにおける水溶性汚れの洗浄力が新たに問題視されるなど、ドライクリーニングをめぐる状況は厳しい [1-3]。

このような状況を受け、近年、有機溶剤系（非水系）洗浄であるドライクリーニングを水系洗浄へ移行させる試みがなされ、水洗いに耐える羊毛の防縮加工技術の研究開発が積極的に進められている。現在、工業的に実用化されている羊毛の代表的な防縮加工は、塩素酸化によって収縮の原因となるスケールを処理する塩素酸化法と、羊毛表面を樹脂で被覆する樹脂法などがあるが[4,5]、これらの方法は、廃液に含まれる有機塩素（AOX）の問題や残留塩素による羊毛繊維の黄変、あるいは、繊維表面に樹脂皮膜を形

成させることによる風合いの問題を有している。

そこで、本研究では、これらの問題を解決するため、羊毛の防縮加工に酵素を応用する可能性について検討を行った。酵素による羊毛繊維の処理は、環境への負荷やエネルギー消費、安全性などの面から極めて優れた方法といえるが、実用化には解決しなければならない問題がある。まず、羊毛の酵素処理には非常に長い処理時間が必要である[6]。また、羊毛の防縮性に深く関わるスケール組織（エピクチクル、エキソクチクル）は、シスチン結合含有率が高く、酵素によって分解されにくい。したがって、長時間をかけて高度な酵素処理を行った場合、スケールよりも易分解性のコルテックス（繊維本体部）の加水分解がより進行し、繊維のフィブリル化による著しい強度低下が生じる。

本研究では、酵素を用いた羊毛の防縮加工技術を開発することを目的に、まず、酵素の羊毛基質に対する反応性を高め、酵素処理を促進させる反応系を探し、さらに、酵素反応を羊毛繊維表面に集中させ、繊維の強度低下を抑制する方法について検討を行った。その結果、羊毛の酵素処理において、羊毛基質をあらかじめ界面活性剤処理することによって、酵素反応を著しく促進させ、繊維表面のスケール組織を優先的に酵素処理する新規な酵素反応促進方法を見出した。

2. 実験

酵素は、*Bacillus subtilis* 由来のプロテアーゼ “Biopraser” (150,000 PUN /g, Nagase Chemtex Ltd.) を使用した。実験に使用した界面活性剤およびその他の試薬は特級を使用した。ウールモスリン (10×10cm²) は、染色堅ろう度試験用添付白布を使用し、所定濃度の界面活性剤溶液 50 ml (浴比; 1:50) 中で、60 分間、90℃で前処理した。界面活性剤前処理を行わない場合は、蒸留水で同様の前処理を行った。前処理後、余分な界面活性剤を除去するため 10 分間流水中ですすぎ処理を行った。酵素は 0.1M-KH₂PO₄ / NaOH 緩衝液 (pH 7) を用いて 4g/l に調整し、50℃で 3 時間、羊毛を酵素処理した (浴比; 1:150)。酵素処理後、酵素触媒反応を停止させるため、沸騰した蒸留水中で 10 分間の煮沸処理を行い、流水中で十分にすすぎ、乾燥させた。

羊毛サンプルは、界面活性剤前処理および酵素処理の前後に、電子水分計 (島津製作所製, moisture balance EB-340MOC) を用いて 110℃における繊維の絶乾重量を測定し、その絶乾重量の変化から下式(1)を用いて、酵素反応の指標である減量率を算出した。

$$WL = [(A - B) / A] \times 100 \quad (1)$$

ただし、WL: 減量率(%), A: 酵素処理前の繊維絶乾重量, B: 酵素処理後の繊維絶乾重量である。

羊毛の引張り強度は、島津製作所製の Shimadzu Autograph S-500-D を用い、温度 25℃、湿度 65% の条件下で測定し、未処理のサンプルの強度 (100%) に対する処理布の引張り強度をパーセントで示した。繊維の表面形態の観察は走査型電子顕微鏡 JSM-5800LVC (JEOL) を用いて行った。

3. 結果および考察

3.1 界面活性剤前処理の酵素反応促進作用

羊毛のプロテアーゼ処理について、オレイン酸ナトリウムおよびドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を用い、90℃、60 分間の前処理を行った後、羊毛を酵素処理した場合の減量率を Fig. 1 に示す。前処理で界面活性剤を使用しない場合、最適条件下で 3 時間以上の酵素処理を行っても、得られる減量率は 5~10% であるが、前処理によって界面活性剤をあらかじめ羊毛に吸着させてから酵素処理を行った場合、酵素による羊毛の加水分解は著しく促進された。界面活性剤 SDS による前処理では、3 時間の酵素処理によって減量率 20% 以上、脂肪酸系界面活性剤オレイン酸ナトリウムの場合には約 15% の非常に高い減量率が得られた。

これまでの研究で、その他の代表的なアニオン性界面活性剤を用いて前処理を行った場合にも、同様の著しい酵素反応の促進が生じることを確認しているが[7]、その要因に

Fig. 1 Effect of pretreatment with surfactants on enzyme treatment for wool fabric.
Pretreatment: ○; SDS, ●; Oleic Acid, □; Water

ついて調べるために、疎水鎖の炭素数が異なる一連の脂肪酸系の界面活性剤について、炭素数を変化させた場合の減量率への影響を検討した。その結果を Fig. 2 に示す。C₆~C₁₂ について、C 数が増加し界面活性剤の疎水性が増大するにしたがって、羊毛表面との親和性が増し、疎水結合による羊毛への付着量が増大する。また、それに伴い減量率も増大する。しかし、C₁₂~C₁₈ では、界面活性剤の付着量は C₁₂ で最大となり、それ以降では減少傾向を示した。減量率は一様に 30% を越す高い値であった。芋川ら[8,9] は、

Fig. 2 Relationship between the amount of adsorption of fatty acid sodium salts (C₆ - C₁₈) on the wool substrate and weight loss of the wool fabric.
○: C₆, ●: C₈, □: C₁₀, ■: C₁₂, △: C₁₄, ▲: C₁₆, ▽: C₁₈

Table 1 Effect of surfactants on the enzyme activity in enzymatic treatment of wool.

Surfactant	Pretreatment with surfactant		Enzyme treatment with surfactant	
	Conc. of surfactant on fabric ($\times 10^{-4}$ mol/g)	Weight loss (%)	Conc. of surfactant in enzyme solution ($\times 10^{-4}$ mol/l)	Weight loss (%)
—	0	4.9	0	4.4
Sodium Dodecyle Sulfate (SDS)	1.5	26.67	9.27	3.7
Myristic Acid Sodium Salt	2.48	32.9	18.68	2
Hexadecylpyridinium Chloride	1.3	-2.48	9.34	-3.2

疎水鎖の炭素数が異なる一連のアニオン性界面活性剤について、ケラチンを含む各種タンパク質に対するその吸着性を調べ、これら界面活性剤の吸着量は、本実験結果と同様に、 C_{12} 付近が最大となること、さらに、 C_{12} 以上の界面活性剤は、強いタンパク変性性能があることを報告している。界面活性剤のタンパク変性作用は、浸透作用の他、界面活性剤ミセルがタンパクに吸着し、タンパクの高次構造を形成している水素結合などを切断することによって、タンパクの分子形状を棒のように長く伸ばす作用（unholding 作用）などに関わっている。本実験の処理手順では、まず界面活性剤で羊毛を前処理していることから、界面活性剤の変性作用は反応基質である羊毛タンパクに対して作用しており、本実験に使用した *Bacillus subtilis* 由来のプロテアーゼは、これら変性したタンパクを特に分解しやすい性質を有している。したがって、Fig. 2 において、 $C_{12} \sim C_{18}$ が高い減量率値を示した理由は、界面活性剤による羊毛基質のタンパク変性と、変性タンパクに対して活性が高い酵素の性質が深く関わっているものと推測される。

上述の界面活性剤のタンパク変性作用は、羊毛に付着した界面活性剤が、後に続く酵素処理時に酵素水溶液中に脱落した場合、酵素タンパクに対しても作用し、酵素反応を変化させる可能性が考えられる。そこで、各種界面活性剤を酵素処理浴に添加し、界面活性剤が酵素処理に及ぼす影響を検討した。その結果を Table 1 に示す。前処理で羊毛に付着したのと同量の界面活性剤を酵素浴に共存させた場合、減量率は界面活性剤非共存系（ブランク）よりも低下し、界面活性剤による酵素反応阻害が示された。（カチオン性界面活性剤である塩化ヘキサデシルピリジニウム処理の減量率が負の値をとるのは、酵素反応の阻害に加え、羊毛に吸着したカチオン性界面活性剤の正電荷によって、負電荷を持つ酵素が静電的に羊毛に固着したためである。）

全有機炭素分析(TOC)を用いて、本実験系において実際に酵素処理浴に脱落した SDS 量を測定したところ、前処理で付着した全界面活性剤の約 40%が酵素処理浴に脱落し、酵素処理浴中に 3.5×10^{-4} mol/l の SDS が共存した。一般的に、SDS による酵素反応阻害は、酵素溶液中の界面活性剤濃度に依存し、 3×10^{-4} mol/l 以上の濃度で、タンパク質に対し、変性を伴う結合をすることが知られている。したが

って、本実験において、界面活性剤は、羊毛を変性させることによって酵素反応を促進させる作用と、酵素浴に脱落し酵素を失活させ酵素反応を阻害する作用の、相反する 2 つの働きを持つことがわかった。そこで、以降、界面活性剤の脱落による酵素反応阻害を防ぐため、界面活性剤前処理後、繊維に過剰に付着した界面活性剤を除去する流水すすぎ処理を 10 分間行った。

以上の結果より、羊毛の酵素処理における界面活性剤の影響は、界面活性剤が羊毛基質に作用した場合には、羊毛基質が変性タンパクとなるため酵素反応を促進させる。一方、界面活性剤が酵素に対して作用した場合には、界面活性剤の吸着によって酵素の高次構造が変化するなど酵素の失活が生じ、界面活性剤が阻害剤として作用することがわかった。

3.2 界面活性剤前処理が酵素処理羊毛の強度に及ぼす影響

界面活性剤前処理によって酵素処理した羊毛の強度について検討した結果を Fig. 3 に示す。通常、酵素による処理は繊維強度の著しい低下を伴う[10]。これは、酵素が羊毛内部に拡散する際、羊毛の基本組織であるコルテクスの間を接着している細胞間接合物質を加水分解しながら侵入するため、繊維をフィブリル化させることが原因であり、わずかな減量でも激しい強度低下が生じる[11]。

オレイン酸ナトリウムによる界面活性剤前処理を行った場合、通常の酵素処理の場合よりも、さらに激しい強度低下が生じた。この結果は、オレイン酸ナトリウムが、繊維強度に深くかかわる細胞間接合物質に対して強く作用することを示唆している。これまでの実験で、オレイン酸ナトリウム、SDS、水でそれぞれ前処理を行った羊毛（酵素処理はしていない）について、比較的分子量の大きな染料（C.I. Acid Blue 1：分子量約 1000）を用い、染料が羊毛内部へ拡散する速度を比較したところ、オレイン酸ナトリウムで前処理を行った場合にのみ、染料の羊毛内部への拡散速度が著しく増大することが明らかとなった[7]。染料や酵素などの羊毛内部への侵入は、細胞間接合物質を拡散経路とすることが知られていることから[10, 12]、オレイン酸ナトリウム処理は、細胞間接合物質の間隙を静電反発によって膨潤させ、また、その強い脱脂力によって細胞間接合物質の脂質やタンパクを損傷、抽出することによって、

Fig.3 Effect of pretreatment with surfactants on strength of wool fabric.

酵素の羊毛内部への拡散を容易にすると考えられる。その結果、酵素が細胞間接合物質を拡散・通過する際の接合物質の酵素による加水分解がより強く進行し、Fig. 3 のような激しい強度低下を生じたものと考えられる。

一方、SDS による処理では、減量初期（減量率 0～10%）の領域で、SDS とブランクに強度差が見られない。この領域における SDS の酵素反応は、ブランク処理と同様に、

エンドスケールと繊維表面近傍の細胞間接合物質、すなわち繊維表面から始まり、徐々に内部に向かって進んでいると考えられる。しかし、酵素処理速度は、SDS 処理は非常に早く、ブランク処理の約 10 倍となっている。これは、界面活性剤処理が引き起こすスケールの膨潤、羊毛基質の変性タンパク化によって酵素が作用しやすくなったことが要因と推測される。

また、SDS 処理された繊維の強度低下は減量率 10% から 15% において、ほぼ一定値をとり、ブランクに比べ緩和される。この要因について検討するために、減量率 14% における各種酵素処理羊毛の表面状態を電子顕微鏡で観察した。その写真を Fig. 4 に示す。オレイン酸ナトリウム処理では細胞間接合物質の損傷および分解に由来すると考えられる繊維のフィブリル化が認められ、繊維強度の低下を裏付けている。一方、SDS 前処理では、繊維のフィブリル化が少なく、酵素の加水分解が繊維内部にあまり進行していない。これにより強度低下が抑制されていると考えられる。

この結果は、この領域の減量が繊維強度に余り関係しない部位、すなわち、スケールなど繊維表面に加水分解が集中していることを示す。SDS 処理した羊毛表面のスケール形状に注目すると、ブランクの酵素処理に比べ、SDS で前処理を行った羊毛ではスケールの厚みが著しく減少し、薄くなったスケールが繊維本体に貼りついた状態が観察される。一般に、スケールを構成する成分のうちエンドクチクル（羊毛全重量の約 3～4%）は酵素易分解性であるため分解されるが、ケラチン質のエピクチクル、エキソクチク

Fig.4 Scanning electron micrographs of the wool fabrics pretreated with surfactant.
(Weight Loss by enzyme treatment: 14%)
Pretreatment: A; Oleic acid sodium salt, B; SDS, C; Water

ル(羊毛全重量の約 6~7%)は酵素難分解性である。しかし、SDS で前処理を行った羊毛では、スケールの薄化や剥離の状態から、ブランクよりもエキソクチクル層の分解が進んでいることが認められる。また、SDS 処理では、部分的にスケールが繊維本体から剥離して、脱スケール化していることが認められ、スケールを繊維本体に接着している接合組織についても分解が進んでいることがわかる。

以上の結果より、Fig. 3 における SDS 処理の減量率 10% から 15%における強度低下の抑制は、繊維表面部のスケール(エンドクチクル、エキソクチクル)及びその接合組織に酵素の作用が集中することによって、相対的に繊維本体の加水分解が軽減されたことが要因と考えられる。しかし、SDS は、強いタンパク変性作用を持つものの、シスチン結合を開裂させる還元作用は持たないため、エキソクチクルの加水分解を進行させるメカニズムの詳細は不明であり、さらなる検討が必要である。

4. 結 論

羊毛の酵素処理は、アニオン性界面活性剤前処理によって、著しく酵素反応が促進され、短時間で高い減量率が得られることが明らかとなった。この酵素反応の促進は、羊毛基質が、あらかじめ界面活性剤によって前処理されることによって変性し、酵素の加水分解作用を受けやすくなることが要因と推測される。また、界面活性剤の種類によって、羊毛への作用部位が異なり、脂肪酸系

の界面活性剤では細胞間接合物質が優先的に分解されるため著しい強度低下を生じるが、SDS の場合にはスケールを含む繊維表面から酵素による加水分解が進行するため、強度の低下が抑制されることが推測された。

文 献

1. I. Hiroshi and E. Teramae, *Sen'i Kakou*, **36**, 215(2001).
2. Y. Tagawa and M. Ueda, *Sen'i Gakkaishi*, **46**, 530(1990).
3. Y. Yoshimura, Y. Kaneda, M. Ueda, and T. Hirashima, *Chemistry Express*, **7**, 81(1992).
4. K. R. Makinson, *Tex. Res. J.*, **44**, 856(1974).
5. K. R. Makinson and J. A. Lead, *Tex. Res. J.*, **43**, 669(1973).
6. H. Zahn, Plenary Lecture in Proc. 6th Int. Wool Text. Conf. Pretoria, 1(1980).
7. Y. Yoshimura, I. Abe, K. Gotoh, M. Ueda, S. Sawada and K. Kajiwarra, *Tex. Res. J.*, submitted.
8. G. Imokawa, and M. Kusumi, *Yukagaku*, **25**, 24(1976).
9. G. Imokawa, K. Sumura and M. Kusumi, *Yukagaku*, **23**, 719(1974).
10. M. Kitano, H. Kato, H. Oho and S. Yokoyama, *Sen'i Kakou*, **43**, 101(1991).
11. K. Joko, *Sensyoku Kogyo*, **40**, 542(1992).
12. V. Sideris, L. A. Hölt and I. H. Leaver, *J. Soc. Dyers. Colour.*, **106**, 131(1990).