(昭和 55 年 12 月 18 日受理)

ポリウレタンフィラメントに及ぼす 糸状菌酵素の影響について

(*Aspergillus niger* FERM J-1 及び *Cladosporium
cladosporioides* FERM J-8 菌の酵素による劣化)

京都府立大学女子短期大学部被服科 佐藤 睦子

DETERIORATION OF POLYURETHANE FILAMENTS WITH FUNGAL ENZYMES, *Aspergillus niger* FERM J-1 AND *Cladosporium cladosporioides* FERM J-8

By Mutsuko Sato

(Course of Clothing Science, Women's Junior College Department,
Kyoto Prefectural University, Shimogamo, Sakyo, Kyoto, Japan)

Deterioration of polyurethane yarn was investigated with crude enzyme solution of fungi.

Two types of polyurethane yarns including ether type only or ester type mainly in the part of soft structure were tested. Two fungi, *Aspergillus niger* FERM J-1 and *Cladosporium cladosporioides* FERM J-8 were employed. The test pieces of yarns were immersed in the enzyme solutions from the fungi at given pH (3.5, 4.0, or 6.5). The mixture was shaken at 30°C for two weeks. The incubated yarns were observed by scanning electron micrography and some physical properties of the yarns were examined. Furthermore, the chemical changes of the yarns and the liberations of carboxyl group and ammonia were measured.

The tensile strength, viscoelasticity and extension behavior were remarkably changed. On the enzymatic digestion, various types of degradation were caused by the hydrolysis of several different type bonds in these polymers. Protease and esterase activities were in *Asp. niger* and *Clad. cladosporioides*. Urease was only detected in *Asp. niger*. These enzymes were inducible enzymes. Hydrolysis took place with enzymes of endo type.

(Received December 18, 1980)

1. 緒 言

ポリウレタンの微生物による分解については樹脂では多くの報告^{4)~13)}がある。例えば粟生ら⁴⁾、鈴木ら⁵⁾、および小泉ら⁶⁾の研究があり、カビによるウレタン樹脂の劣化、環境汚染の立場からの廃棄物処理、さらに構成成分である窒素の再利用が論じられている。これらの報告によれば、ウレタン樹脂上に生育するカビは 20 種を越え、大きな損傷を与えるものも多いことがわかっている。しかし、繊維については未だほとんど調査研究されておらず、一般的に繊維は微生物に対して安定であるとされている。

また、ウレタン樹脂の報告の中には強伸度^{6), 9)}について検討したものも若干あるが、主目的は劣化させている

カビの探索とその予防である。

この報告ではポリウレタン繊維を材料に用い、カビの酵素作用が繊維の性質に与える影響を検討し、劣化現象の原因およびその機構を解明することにした。

2. 実 験

2.1 試 料

試料はポリウレタンのジオール成分として代表的なエーテル型とエステル型を比較に選んだ。ポリウレタンマルチ裸糸 420 D/30 FIL (ソフトブロックはエーテル型) と 280 D/44 FIL (主成分エステル型、一部エーテル型) の 2 種、いずれもダル糸である。水分率は JIS L 1036-'77 (アセテートステーブル試験方法) により測定し、いずれも 12% である。精製は JIS L 1030-'77 (混用率試

験方法)により、試料を石油エーテル(試料の50倍量)中で常温で10分間振とうし、これを2回行ない、乾燥、熱水洗い5分間を経て水洗、乾燥した。

2.2 粗酵素液の調製

カビは *Aspergillus niger* FERM J-1(以下ANと記述する)と *Cladosporium cladosporioides* FERM J-8(以下CCと記述する)を用いた。

これらを選んだ理由はいずれもJISでカビ抵抗性試験指定菌にされていること。さらにANについては他の繊維(絹フィブロン、生糸、アセテート、綿、ナイロン6)でも対象に、その酵素作用を検討¹⁻³⁾してきたため、ひきつづき使用した。CCはJISで工業用品にのみ指定されているため、繊維との作用を考えた。

いずれのカビもウレタンホム、塗料および接着剤などに使われているウレタン樹脂から検出され⁴⁻¹³⁾ている。AN、CCの分布は広く、ANは前報で検討¹⁻³⁾したプロテアーゼ、セルラーゼのほかにペクチナーゼ、アミラーゼ、マルターゼ、タンナーゼおよびウレアーゼを分泌するとされ、さらに脂肪酸分解力をも認められている。CCはグルコシダーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ、ペクチナーゼおよびセルラーゼ生産菌として認められている。

これらのカビから抽出液を得た。すなわち、沪紙(Toyo No. 2)約12gを間欠滅菌した後、ブドウ糖6.5%、酵母エキス0.5%、酸性第1リン酸カリウム0.5%、および硫酸マグネシウム0.1%を含む滅菌培養液10mlを均一に散布した培地(pH6.0)に各カビを接種培養(30℃、3週間)し、これをイオン交換水200mlで少量の海砂と共に磨砕抽出し、これをグラスフィルター(No. 3)を用いて濾過し、この濾液を粗酵素抽出液とした。さらに、誘導酵素検討の目的で、同量の同質の沪紙に長さ2~3ミリに切断したウレタン糸1gを混合し、間欠滅菌した後、上記と同じ滅菌培養液を同量散布し、同様に処理し、ウレタン糸無添加の場合と比較した。得られた粗酵素抽出液は減圧濃縮、凍結乾燥し、0.1Mリン酸塩および0.1M酢酸塩緩衝液で1.5%酵素濃度とし、トルエンを1%濃度で添加して、粗酵素液8種を調製した。

水素イオン濃度は培養開始時ではpH6.0であったが、培養後ANはpH3.25、CCはpH2.5にいずれも酸性側へ移行した。そこでANではpH4を、CCではpH3.5を設定した。また、培養当初は酸性度も弱く、ウレアーゼ、エステラーゼに類するものを予測し、pH6.5の場合も設定した。

2.3 酵素処理

比重、重量および粘度測定用には2種の試料を各長さ3、4ミリに切断し、その1gを精秤(無水量)し、それに

各粗酵素液40mlを作用させた(試料の約1/2酵素量)。また、引張試験測定用にはカビ種および水素イオン濃度別に、エステル、エーテル型の2種の試料各50本ずつを、図1に示すようなゴム栓をしたフラスコに共に入れ、粗酵素液40mlを作用させた。このさい、酵素処理部分と糸切断部分の関連性が得られやすいように、束にした試料中央部が作用溶液に少し触れる程度にして、ガラス棒に緩く巻きつけ浸漬させた。いずれも30℃で14日間振とうした。対照区として所定の水素イオン濃度の緩衝液で処理した試料と、所定の水素イオン濃度の粗酵素液を用いた。これらを表1に示す。

Fig. 1. Schematic diagram of enzymic treatment of the sample for tensiometer.

The testing multifilament consist of 50 filaments of E and S-type yarn respectively. The flux was loosely wound on a glass rod, and immersed in the enzymic solution. The flask was shaken at 30℃ for two weeks.

a: Sample b: Enzyme solution

2.4 電子顕微鏡観察

酵素処理した各試料の表面構造について走査型電子顕微鏡(日立S-310型)で観察した。蒸着は金を用い、SEMの加速電圧は4kVである。

2.5 比重、重量ならびに固有粘度測定

基質残さを遠心分離、水洗後、精秤(無水量)し、重量減少率を求め、密度勾配管法(四塩化炭素-n-ヘプタン、30℃)により比重を測定し、さらに試料をm-クレゾールに溶解し、固有粘度を30℃で測定した。

2.6 繰返し引張りによる破断試験

各試料糸を水洗、風乾後、インストロン型引張試験機(島津オートグラフIM-100)を用い、JIS L1080-78(伸縮織物の伸縮性試験方法p.3、5・2A法)に準じて測定し、応力-ひずみ曲線を得た。試験条件を次に示す。

初荷重	1.1g,	試験長	100mm
荷重	500g,	上限荷重	120g

Table 1. Samples and conditions for the incubation.

Code	Main diol* component of yarn used	pH of crude enzyme solution	Origin of** enzyme used	Inducer on*** cultivation
E-AN-4.0-P	E	4.0	AN	PU
E-AN-4.0	E	4.0	AN	—
E-AN-6.5-P	E	6.5	AN	PU
E-AN-6.5	E	6.5	AN	—
E-CC-3.5-P	E	3.5	CC	PU
E-CC-3.5	E	3.5	CC	—
E-CC-6.5-P	E	6.5	CC	PU
E-CC-6.5	E	6.5	CC	—
E-O-3.5	E	3.5	—	—
E-O-4.0	E	4.0	—	—
E-O-6.5	E	6.5	—	—
S-AN-4.0-P	S	4.0	AN	PU
S-AN-4.0	S	4.0	AN	—
S-AN-6.5-P	S	6.5	AN	PU
S-AN-6.5	S	6.5	AN	—
S-CC-3.5-P	S	3.5	CC	PU
S-CC-3.5	S	3.5	CC	—
S-CC-6.5-P	S	6.5	CC	PU
S-CC-6.5	S	6.5	CC	—
S-O-3.5	S	3.5	—	—
S-O-4.0	S	4.0	—	—
S-O-6.5	S	6.5	—	—
AN-4.0-P	—	4.0	AN	PU
AN-6.5-P	—	6.5	AN	PU
CC-3.5-P	—	3.5	CC	PU
CC-6.5-P	—	6.5	CC	PU

* E: Polyurethane yarn containing ether type only in the part of soft structure.

S: Polyurethane yarn containing ester type mainly in the part of soft structure.

** AN: *Aspergillus niger* FERM J-1, CC: *Cladosporium cladosporioides* FERM J-8

*** PU: Polyurethane yarn was added as inducer in the medium on cultivation.

Incubation at pH 6.5: 0.1M phosphate buffer (pH 6.5)

Incubation at pH 4.0 or 3.5: 0.1M acetate buffer (pH 4.0 or 3.5)

Incubated solution contains 1.5% of crude enzyme and 1% of toluene.

下限伸ビ 0%, 繰返し回数 2回
引張速度 100mm/min, 記録速度 20mm/min
(温, 湿度 20±2℃, 60±2% R. H.)

2.7 汚染色素の脱色とその染色

各試料系について過酸化水素法{0.3%過酸化水素, pH 9.6 (アンモニアによる) 80℃, 2時間}により脱色した。これらを酸性染料Acid Orange 56 および反応性染料Reactive Orange Iを用いて常法(いずれも 90℃, 10 分間, Acid Orange では pH 4 付近酸性, Reactive Orange では pH 5.5)に準じて染色した。染料の構造式を図 2 に示す。

2.8 塩素保持性

各試料系について亜塩素酸ソーダ法{0.2%亜塩素酸ソ

Fig. 2.

ーダ水溶液 pH 3.7 (酢酸による), 71°C, 1 時間 } により脱色し, 塩素に対する反応性を検討した。

2.9 反応溶液のアンモニアの検出とカルボキシル基の定量

比重, 重量および粘度測定に使用した各反応溶液について水素イオン濃度を測定した後, 10ml を取り, ネスラー試薬 2ml を添加し, アンモニアの検出を試みた。

一方, 反応溶液 12.5ml に 0.1N 水酸化ナトリウム或いは 0.1N 塩酸溶液を加え, pH 7.0 に調整し, 続いて 5ml の 38% 中性ホルマリン 溶液を加えた混合物を作った。これを 0.01N 水酸化カリウム溶液で中和滴定し, カルボキシル基の定量(ホルモール法)を行なった。

3. 結果ならびに考察

3.1 走査型電子顕微鏡観察

写真 1, 2 はコントロール試料のエーテル型およびエステル型ウレタン糸の表面形態を示す。いずれも乾式紡糸の特徴を示し平滑な表面である。

各試料における酵素による分解浮遊物の発生量は, 表 2~5 に示される性質変化の量と, それぞれがよく対応した。

写真 3~9 は酵素作用を受けて, はくりした傷害繊維の断片である。しかし, これらの形態は傷害程度の差から生じた表面形態の変化であり, 試料, カビ, および水素イオン濃度などの違いにより生じたものではない。写真 5, 6 にみられる繊維内部からの丸い噴出物は強い酵素作用を受けた後, 鱗片状にはくりし, 写真 7 のように表面に付着してくる。このことから, ウレタンの繊維組織に規則的な弱い弱部が存在していることがわかる。前報^{1~3)}におけるような繊維自身の膨潤溶解ではない。写真 7, 8 にみられる多数のタテじわは繊維の直径方向の収縮であり, 分子間で何らかの作用を受けた結果, ラテラルオーダーに変化が生じたものと思われる。タテ方向のクラック, ボイドは応力集中源として働き, 強度低下を来すと考えられる。写真 9 のように繊維の端部では酵素の侵入は容易となり, 複雑な形態を示す。広瀬⁸⁾, 栗生⁴⁾は *Aspergillus* 属によるウレタンホムの劣化を確認したが, これらはその傷害像と一致している。

3.2 引張試験

ウレタン繊維の特異性は基本的には分子構造による。分子構造は複雑であり, 主鎖には芳香環, 尿素結合, ウレイン結合およびウレタン結合のハードブロックと, 部分的にウレタン基で分断されたポリエステルまたはポリエーテル部分からなるソフトブロックが交互に配列している。分子間にはウレタンまたは尿素とイソシアナート基とから強固な水素結合ができ, アロファナート, ビュ

1. control (Ether type. E-O-3.5)

2. control (Ester type. S-O-3.5)

3: E-AN-4.0-P

4 : E-AN-6.5

7 : S-AN-6.5

5 : E-CC-3.5-P

8 : S-CC-3.5-P

6 : S-AN-4.0-P

9 : S-CC-6.5

Fig. 3. Scanning electron micrographs of incubated yarns.

ーレット結合が生成されている。これらの含窒素結合部の橋かけが完全な網状構造やラメラ組織を形成し、大きな分子間凝集力の原因となっている。また、ソフトブロック間にも水素結合の可能性が認められている。

ポリウレタンを構成している化学結合が加水分解を受ける場合、その分解力は、一般的にエステル>アロファナート>ウレタン>ビュレット>尿素の順に減少すると言われ¹⁴⁾ている。この傾向は表2~5に、よく示されている。

さらに、本実験の場合は各酵素の基質特異性がポリウレタン分子のコンフォーメーション、比湿度、酸触媒の濃度ならびにポリマー中の官能基の自触作用などの条件とよく合致した。その結果、応力-ひずみ曲線は図4~9に示すように総体的には非フック的挙動を示したが、この内容は試料、カビ、水素イオン濃度の違いによって大きく変化している。これらの諸特性を表2に示した。

この結果から、ANでは前報^{1,2)}で検討した酸性と中性のプロテアーゼとウレアーゼおよびエステラーゼに類するもの、また、CCでは酸性と中性のプロテアーゼおよびエステラーゼに類するものが関与していることが認められる。また、ANおよびCCいずれも酸性でプロテアーゼ力が強く認められた。

ANおよびCCの酵素のうち、ANの酸性プロテアーゼ(Aspergillopeptidase A, pH 1.5~6.0)の分子量は35000であり、ほかの酵素は不明であるが、本実験では、いずれもポリウレタンの分子間に入ることが可能であったと考えられる。だから、分子間のビュレットおよびアロファナート結合と主鎖のウレタンおよびウレイン結合にあるアミドはプロテアーゼにより加水分解され、主鎖のウレア結合と分子間のビュレット結合はウレアーゼによって加水分解されると推察する。また、主鎖の脂肪族エステル構造やウレタンおよびアロファナート構造部のなかにある部分的なエステル結合はエステラーゼによって加水分解を受けることが可能と思われる。

その結果、繊維の主鎖分子の性質が変化し、粘弾性、可撓性、伸ビ機作は大きく変ってくる。最も強い作用を受けたS-CC-6.5は分子間だけでなく、主鎖の切断が起こっている。だから、表2に示したように強度とタフネスは半減し、ヤング率も試料のうちで最も低くなった。化学的処理と比較すると、16時間の熱水処理および30分間の2%水酸化ナトリウム水溶液処理¹⁵⁾に相当する。糸のゴム弾性は低下し、セット性は大きくなり、永久変形した量はE, S-CC-3.5に次いで大きい。図5はこれらの典型的な曲線で、いずれも少しひずみ量の大きい方

Table 2. Cyclic load-extension test of enzyme-digested fibers.

Sample (Code)	Relative breaking strength (g/D) (%)	Relative breaking elongation (%)	Relative* elastic recovery (%)	Relative** permanent deformation (%)	Relative*** area of hysteresis loop (%)	Relative**** toughness (%)	Relative***** young's modulus (%)
E-AN-4.0-P	-3.0	-4.7	-2.7	+7.5	+0.2	0	-2.0
E-AN-4.0	-1.0	-1.6	-2.6	+5.1	+0.1	-3.0	0
E-AN-6.5-P	-5.0	-14.5	-1.1	+1.5	-8.0	-7.1	0
E-AN-6.5	-3.0	-13.0	0	0	-3.8	-3.4	0
E-CC-3.5-P	+1.0	+3.1	-4.0	+40.0	+12.3	-2.1	-8.6
E-CC-3.5	0	+2.3	-1.8	+28.1	+5.4	0	-6.3
E-CC-6.5-P	-5.1	-11.5	-1.2	+3.8	-8.9	-10.1	0
E-CC-6.5	-2.8	-9.9	-0.1	+3.0	-8.1	-7.3	0
S-AN-4.0-P	-1.1	0	-2.0	+26.5	+10.1	-2.0	-4.3
S-AN-4.0	-2.2	0	-1.0	+21.0	+8.0	-1.0	-3.9
S-AN-6.5-P	-13.1	-6.2	-2.3	+13.5	+6.1	-13.8	-12.0
S-AN-6.5	-6.6	-4.7	-1.8	+8.5	+3.1	-10.0	-8.0
S-CC-3.5-P	+2.2	+4.9	-6.8	+44.0	+16.6	-6.8	-10.0
S-CC-3.5	0	+4.1	-3.5	+28.0	+11.3	-4.1	-9.0
S-CC-6.5-P	-36.3	-16.2	-4.6	+33.0	+10.1	-49.8	-16.0
S-CC-6.5	-18.7	-6.9	-3.6	+23.0	+9.3	-37.9	-8.0

* Elastic recovery at B point on the abscissa in Fig. 4. (shown $\frac{l' - l''}{l' \times 100}$)

** Setting rate to initial length l_0 obtaining after two cycle of the test. (shown as $\frac{l''}{l_0 \times 100}$)

*** Area of hysteresis loop after one cycle of the test.

**** Toughness from bending point C to breaking point F on the curve in Fig. 4. (=area CDEF)

***** Secondary Young's modulus at A point on the curve in Fig. 4.

+ : Increase, - : Decrease

にシフトしており、伸びやすくなったことを示している。

S-CC-6.5 に次いで強度、タフネスおよびヤング率の低下度の大きいものは、表2に示すようにS-AN-6.5である。

このようなエステル型の低下順位の傾向はエーテル型でもみられたが、その変化はエステル型に比べ軽微であった。これはウレタンホムの研究ですでに知られており、カビによる分解を受けるためには、エーテル結合の間には少なくとも2~3の分岐のないメチレン基の存在が必要であり¹²⁾。また、*Penicillium*属や市販のリパーゼおよびエステラーゼによって脂肪族ポリエステルや脂環ポリエステルが容易に分解するという報告⁵⁾とも一致する。

図6~8にみられるS-AN-4およびS, E-CC-3.5の曲線は、S-CC-6.5やS-AN-6.5の曲線と比べると、エントロピー弾性に特徴がある。表2に示すように、CCはいずれのジオール成分でも履歴面積に現われるエネルギー損失が大きいのに反し、切断強度はほとんど低下せず、対照区より上昇したものもあった。曲線はひずみ量の大きい方へシフトしている。この原因として、S-AN-4とS, E-CC-3.5における酵素作用(酸性プロテアーゼ)はS-CC-6.5における酵素作用(中性プロテアーゼ、エステラーゼ)よりも弱く分子間に作用し、主鎖には影響を与えなかったからと考える(とくにS-CC-3.5において)その結果、弾性の低下に対し、強伸度は低下せず、S, E-CC-3.5において、かえって上昇したのは、酵素作用による橋かけ密度の低下が主鎖の流動を可能にし、よく伸びたためである。また、S-CC-3.5のタフネス減少の原因は、同じエステル型に対しても、酸性条件でCCの酵素力(酸性プロテアーゼ)の方がANの力(酸性プロテアーゼ)よりも強かったこと、さらに、水素イオン濃度の違いによる酸の自蝕作用が誘因と推測される。

表2にみられるように、同程度の強度低下を示したANとCCのE6.5(図9)では、曲線は全体に応力増加、ひずみ減少の方向にシフトしており、伸度とタフネスの低下が生じている。この原因として、ANおよびCCのプロテアーゼ活性は、いずれも中性においてマイルドであり、これ(中性プロテアーゼ)とエステラーゼのあまり強くない作用(エーテル型に対しては)によって、分子間が部分的に切断される。その切断された分子鎖は引き伸ばし変形によって配向しやすくなり、セグメント間の相互作用は強くなり、糸は硬化し、伸びにくくなったと考える。この程度の酵素作用はいわゆるMC(メカニカルコンディション)を受けやすい構造に変化していく。従って、表3に示すように固有粘度はあまり低下せず、分

Fig. 4. Strain-Stress curves of sample yarns.

The conditions of the test by a tensiometer (Shimadzu IM-100), (See footnotes of Table 2 for symbols, A, B, C, D, E and F)

Initial tension	1.1g
Initial length	100mm
Load	500g
Upper limit of load	120g
Lower limit of extension	0%
Cycle times	2
Cross head speed	100mm/min.
Chart speed	20mm/min.
Temperature	20 ± 2°C
Relative humidity	60 ± 2%

These tests were carried out by the modified method of JIS L 1080-1978, p. 3, 5-2.

Fig. 5. Load-elongation curves of sample yarns.

Fig. 6. Load-elongation curves of sample yarns.

Fig. 8. Load-elongation curves of sample yarns.

Fig. 7. Load-elongation curves of sample yarns.

Fig. 9. Load-elongation curves of sample yarns.

子量低下による伸度低下ではない。硬化を現わす履歴面積は減少し、スティフネスは大きくなっている。上述したように、分子間にはあまり作用を受けなかったため、弾性低下には対応しなかった。タフネス低下の原因は伸びにくくなったためのものであり、主鎖切断の結果ではない。

さらに、表2に示したように、ポリウレタン添加培地から得た粗酵素液の方が、無添加培地よりも酵素力は大きく、これら諸酵素はいずれも誘導的に生成されるもの

と考えられた。

エステル型対照系の強伸度が低下したが、これはエーテル型に比べ、加水分解を受けやすいことを暗示している。

3.3 比重、重量ならびに固有粘度

表3に示したように、酵素作用を受けた後の試料残さの比重、重量および固有粘度変化は引張り試験結果とよく対応した。S-AN-6.5およびS-CC-6.5では分子量低下を予測させる。

Table 3. Changes in physical properties of polyurethane yarn by enzymic digestion.

Sample (Code)	Reduction rate of* specific gravity (%)	Reduction rate of net weight (%)	Reduction rate of** intrinsic viscosity (%)
E-AN-4.0-P	5.1	1.6	1.0
E-AN-6.5-P	6.6	3.0	2.6
E-CC-3.5-P	6.2	2.6	2.1
E-CC-6.5-P	7.5	2.0	2.0
S-AN-4.0-P	7.0	4.1	3.4
S-AN-6.5-P	12.0	6.9	11.1
S-CC-3.5-P	9.1	5.7	5.1
S-CC-6.5-P	20.5	8.3	16.2

* Specific gravity was determined by density gradient method (CCl_4 -*n*-heptane) at 30°C.

** Intrinsic viscosity was determined after dissolving the sample with *m*-cresol at 30°C.

これらの酵素はランダムに作用するエンド型酵素のようである。

3.4 汚染色素とその脱色

表4は酵素作用を受けた後の試料残さの汚染結果である。AN作用のものでは、前報¹⁾で検討した絹フィブロインやポリカプロアミド²⁾に対するように、AN色素 {Anthraquinone 系の Asperxanthone (=Flavasperone) 1-hydroxy dimethoxymethylxantone $\text{C}_{13}\text{H}_6\text{O}_3$ (OMe)₂Me} によって、30°CでpH 6.5のようなアミノ基造塩効果の低い条件でも、ANに含まれている鉄の媒染性でよく染着した。CC色素 (Anthraquinone 系の Emodine 1・6・8 Trioxy 3-Methyl Anthraquinone $\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{O}_8$) はAN色素と異なり、水素イオン濃度により変色した。ANおよびCCによる汚染が酸性側で強いのは当然であるが、エーテル型が強いのはエステル型と成分が違うためと思われる。

汚染の強いものは過酸化水素による脱色性も不良であった。

3.5 脱色試料の染色

図2のような2種の染料を用いて脱色試料を染色した。表4に示したように、対照系において酸性染料ではエーテル型がわずかに濃く染まった。これは汚染色素の場合と同様に、エステル型との成分の違いによるものと考えられる。

傷害系では、反応性染料に対してS-CC-6.5の染着性が大きかったのみで、ほかは変らなかった。これはCCのエステラーゼ作用によりカルボキシル基が生成し、この水酸基がアゾ系塩化シアヌル誘導体である染料の塩素と置換し、共有結合したのであろう。酸性染料の染着性の違いがみられなかったことは、培地の栄養物の分解をとまなう酵素作用の複雑性を示している。酵素による

加水分解の結果、生じたアミノ基も直ちに橋かけを形成したのかも知れない。

3.6 塩素保持性

表4に示したように、亜塩素酸ソーダはすべての試料を黄化し、塩素の酸化による有色のクロロミンの生成が認められた。これは使用した試料のウレタン部が脂肪族でなく、芳香族イソシアナートであったことを示している。MDI (*p,p'*-ジフェニルメタンジイソシアナート) 中のメチレン基が酸化を受けやすい結果である。しかし、酵素作用によるアミノ基の増加を示すほどの色差は得られず、ここでも考察5における推測が成り立つ。

対照系において、エーテル型の方がエステル型よりも黄化度がやや大きく、汚染性や酸性染料による染着性の違いと同傾向であった。

3.7 ホルモール法ならびにネスラー試薬による試験結果

表5に示したように、pH 6.5において反応溶液の水素イオン濃度はいずれも塩基性側に移行した。この原因として、対照区(粗酵素液のみ)では培地成分の相乗的变化が考えられる。このこととさらに、酵素による加水分解で生じたカルボキシル基はアミノ基より脱離しやすいものであるため、水素イオン濃度が塩基性側に移行したと考えられる。

しかし、本実験において、ホルモール法により滴定したカルボキシル基数の違いは判然としており、S-CC-6.5およびS-AN-6.5においてエステラーゼの関与が明らかになった。

また、ネスラー試薬による NH_3 の検出能力は鉄(ANの菌絲体を含む)により妨害されたり、ウレアーゼ作用はカリウム、ナトリウム(培地を含む)などの陽イオンで阻害されるが、本実験では、これらが強い阻害剤として

Table 4. Alternation in the colour of enzyme solutions and incubated samples.

Sample (Code)	Color of enzyme solution	Color of incubated sample after conta- mination with pigment	Conservation* ability for chlorine	Decolorizing ability** for contaminating pigment	Dyeability	
					for Acid Orange 56***	for Reactive Orange 1****
E-AN-4.0-P E-AN-4.0	Dark brown	Dark brown	++	—	+	+
E-AN-6.5-P E-AN-6.5	Dark brown	Olive green	++	+	+	+
E-CC-3.5-P E-CC-3.5	Sepia	Sepia	++	—	+	+
E-CC-6.5-P E-CC-6.5	Olive green	Olive green	++	+	+	+
E-O-3.5 E-O-4.0 E-O-6.5			++		++ ++ +	 +
S-AN-4.0-P S-AN-4.0	Dark brown	Brown	+	+	+	+
S-AN-6.5-P S-AN-6.5	Dark brown	Olive green	+	+	+	+
S-CC-3.5-P S-CC-3.5	Sepia	Pare sepia	+	+	+	+
S-CC-6.5-P S-CC-6.5	Olive green	Pare olive green	+	+	+	+++
S-O-3.5 S-O-4.0 S-O-6.5			+		+	+

* Method using 0.2% solution of sodium chlorous at pH 3.7 on 71 °C for 60 minutes.

** Method using 0.3% solution of hydrogen peroxide at pH 9.6 on 80 °C for 120 minutes.

*** Dyeing at pH 4.0 on 90 °C for 10 minutes.

**** Dyeing at pH 5.5 on 90 °C for 10 minutes.

+++ : very strong, ++ : strong, + : slightly strong, — : weak

Table 5. Chemical changes by enzymic digestion.

Sample (Code)	Final pH of incubated solution	Chemical parameter of incubated solution	
		Formol titer* ml	Detection of** ammonia
E-AN-4.0-P	4.0	0	—
E-AN-6.5-P	6.8	0.3	+
E-CC-3.5-P	3.5	0	—
E-CC-6.5-P	6.7	0.1	—
S-AN-4.0-P	4.0	1.7	—
S-AN-6.5-P	6.7	3.8	+
S-CC-3.5-P	3.5	1.6	—
S-CC-6.5-P	6.6	4.5	—
Enzyme solution			
AN-4.0-P	4.0	2.3	—
AN-6.5-P	6.7	1.1	—
CC-3.5-P	3.5	2.6	—
CC-6.5-P	6.7	1.1	—

* Formol titration for determination of free carboxyl group.

** Detection with Nessler's reagent.

働くほどの量ではなかった。S, E-AN-6.5では橙赤色の錯体の沈殿物は顕著であった。このようなアンモニアの生成からみて、ウレアーゼの存在と、ウレタン系に対するその作用が充分推察された。

なお、試料に混入していた酸化チタンは、酵素作用には無関係であった。

3.8 その他

現在、工業材料に使われているポリウレタン樹脂劣化予防のキャラクターゼーションの一つとして、耐菌性効果には、オルガノシリコン第4級アンモニウム塩¹⁶⁾、ベンゾイミダゾール系^{9, 14, 17)}、スルファミド系¹⁷⁾物質が添加されている。また、エステル型に対する耐加水分解性効果には、自己触媒作用による酸の捕そく剤に、カルボジイミド^{9, 14)}などが添加されている。これらはそれなりの効果をあげている。

ところで、ポリウレタン繊維を被服材料として用いる場合、主な用途はファンデーション衣料である。これらは生産、流通、消費の過程で空気中の生菌に接する。生菌はウレタン繊維中の炭素、窒素、酸素原子を栄養源として生育を続け、酵素作用を及ぼす。また、人体からの汗成分中の乳酸、アミノ酸、アンモニアなどは、それ自身ウレタン繊維に対し加水分解剤として作用するだけでなく、生菌の栄養源となり生育を助ける。しかし、ファンデーション衣料であるために、防カビ剤の使用は人体への影響を考えると好ましくない。従って、洗浄、湿度などの面で適切な被服管理を行なうことが必要である。

本実験の結果から、従来より言われて来たカビに対するウレタン繊維の抵抗性説を再検討し、また、JISにおける繊維に対するカビ抵抗性試験指定菌に、CCを追加することが望ましい。

4. 結 論

ジオール成分の異なるポリウレタン系の性質に対するANおよびCCの酵素作用の影響を傷害像観察、繰返し荷重引張り一破断試験、汚染色素脱色性、染色性、塩素保持性、重量、比重、固有粘度、アンモニア検出およびカルボキシル基定量により検討した。

1) 検鏡結果から、ポリウレタン繊維組織には規則的なぜい弱部が存在するため、酵素による溶解機構は絹フィブロイン⁴⁾やナイロン^{6²⁾}。また、綿セルロースやアセテート⁸⁾などの場合のような膨潤溶解ではない。

2) 繊維、カビおよび作用条件などの違いで酵素作用を受ける部分や程度に差が生じ、各物性値の変化によく現われた。糸の強伸度、粘弾性、伸び機作、比重、固有粘度、染色性および塩素保持性の性状が変化し、微生物の酵素作用による劣化が認められた。いずれもエンド型酵素であり、誘導酵素の生成も認められた。

本文に関し、種々御指摘いただいた京都薬科大学、今原廣次教授、ならびに京都工芸繊維大学、小西孝助教授に深謝いたします。

なお、本文は日本家政学会第31回総会(1979, 10, 7, 名古屋)において発表した。

文 献

- 1) 佐藤睦子; 京府大学報(理, 生), 27, 59 (1976)
- 2) 佐藤睦子; 京府大学報(理, 生), 28, 51 (1977)
- 3) 佐藤睦子; 京府大学報(理, 生), 29, 49 (1978)
- 4) T. Awao, K. Komagata, I. Yoshimura and K. Mitsugi; *J. Ferment. Technol.*, **49**, 188 (1971)
- 5) Y. Tokiwa, T. Ando and T. Suzuki; *Nature*, **270**, 76 (1977)
- 6) 小泉幸道, 村上久雄, 柳田藤治, 相沢孝亮, 広瀬正尚; 昭和49年度日本農芸化学大会講演要旨集, 105 (1974), (東京)
- 7) 小泉幸道, 村瀬晃, 柳田藤治, 相沢孝亮, 広瀬正尚; 昭和50年度日本農芸化学大会講演要旨集, 45 (1975), (札幌)
- 8) 広瀬正尚; 工業材料, **23**, 91 (1975)
- 9) 井上真由美; 「統応用微生物の方向」, 横書店, p. 42 (1972)
- 10) H. G. Hedrick; *Develop. Ind. Microbiol.*, **10**, 222 (1968)
- 11) D. M. Evans and I. Levisohn; *Int. Biodeterior. Bull.*, **4**, 89 (1968)
- 12) R. T. Darby and A. M. Kaplan; *Appl. Microbiol.*, **16**, 900 (1968)
- 13) P. Edmonds and J. J. Cooney; *Appl. Microbiol.*, **16**, 426 (1968)
- 14) 風間清治; 化学と工業, **32**, 165 (1979)
- 15) H. F. Mark and S. M. Atlas (松崎 啓, 温品謙二共訳); 「化学繊維Ⅲ」, 丸善, p. 259 (1971)
- 16) 堀田 博; 繊維加工, **30**, 428 (1978)
- 17) 小泉幸道, 柳田藤治, 相沢孝亮, 広瀬正尚; 第23回合成樹脂工業技術発表講演会講演要録, 33 (1977, 3, 15), (東京)