

# バイオ精製処理方法を用いた新規天然繊維の開発

辻坂敏之<sup>\*1)</sup>, 三木靖浩<sup>\*1)</sup>, 首藤明子<sup>\*2)</sup>, 若子倫菜<sup>\*1)</sup>, 山内弘行<sup>\*3)</sup>, 安川祥司<sup>\*4)</sup>

## Development of the New Natural Fiber by Using Biotechnology

TSUJISAKA Toshiyuki<sup>\*1)</sup>, MIKI Yasuhiro<sup>\*1)</sup>, SHUTO Akiko<sup>\*2)</sup>, WAKAKO Rina<sup>\*1)</sup>,  
YAMAUCHI Hiroyuki<sup>\*3)</sup>, YASUKAWA Shoji<sup>\*4)</sup>

本研究では、吉野葛の廃棄葛根から新規天然繊維を得るために、その不用成分であるプロトペクチンを可溶化するプロトペクチナーゼを用いたバイオ精製処理方法を検討した。バチルス菌由来のプロトペクチナーゼを用いて、繊度 9.4~9.8tex、繊維長 35mm 以上の繊維が得られた。また、X線マイクロアナライザー、X線回折装置及び顕微レーザーラマン分光装置を用いて、葛根の表面分析及び結晶化度測定を行った。葛根表面に存在している結晶性物質は、結晶水を有する単斜晶系のシュウ酸カルシウム結晶であることがわかった。

### 1. 緒言

吉野葛は全国的に知られた葛の根より採取される良質な澱粉の最高級品であるが、葛の根（葛根）に含まれる澱粉は10%程度であり、澱粉採取後の根の大半は廃棄されている。奈良県内の葛粉加工企業からは澱粉採取後の葛根が年間約1,000トンも廃棄されている。

このような状況の下、(財)奈良県中小企業支援センターを管理法人として奈良県繊維工業協同組合連合会とその組合員である、D.C.I(株)及び今西靴下(株)、さらに当センターが共同で、経済産業省地域資源活用型研究開発事業の公募研究開発課題に「吉野葛副産物を用いた糸による高機能靴下の研究開発」を提案した。その結果、平成19年度及び20年度に採択されて葛根を利用した研究開発を進めることとなった。

紡績原料を得る精製方法としてこれまでに松本らは葛根原料の化学的処理方法及び繊維集合体を作製するための機械的処理方法について報告している<sup>1)</sup>。本研究では、酵素剤を用いた葛根原料の精製方法、とりわけペクチン質を取り除いて細繊維化するためにペクチナーゼ酵素剤を用いたバイオ精製処理方法について検討した<sup>2)~5)</sup>。

### 2. 実験方法

#### 2.1 ペクチナーゼ酵素剤による処理

pH7.5~8 の中性付近で効果が高いバチルス菌由来のプロトペクチナーゼである XP-534 (工業用製品名プロトペクチナーゼナガセ、ナガセケムテックス(株)製) 及びスクワラーゼ IGA (IGA バイオリサーチ(株)製) を用いてバイオ精製処理に最適な濃度、温度及び処理時間について検討した。 $\alpha$ -アミラーゼ酵素剤を用いて葛根原料に残存している澱粉を除去し、水洗後、pH を約 7.5~8 に調整した。浴比：

1:40 とし、さらに 55°C に加温し、所定のペクチナーゼ酵素剤を加えて浸漬処理した。処理終了後、温度を 75°C に上げ、30 分間放置して酵素の失活を行った。その後、水洗してろ紙上で自然乾燥した。Table 1 に示す 18 条件で実験を行った。

Table 1 Experimental enzyme

NO.	PECTINASE	TIME (MIN.)	CONCENTRATION (%)
1	Protopectinase Nagase	60	0.1
2	Protopectinase Nagase	60	0.2
3	Protopectinase Nagase	60	0.3
4	Protopectinase Nagase	120	0.1
5	Protopectinase Nagase	120	0.2
6	Protopectinase Nagase	120	0.3
7	Protopectinase Nagase	180	0.1
8	Protopectinase Nagase	180	0.2
9	Protopectinase Nagase	180	0.3
10	Protopectinase IGA	60	0.1
11	Protopectinase IGA	60	0.2
12	Protopectinase IGA	60	0.3
13	Protopectinase IGA	120	0.1
14	Protopectinase IGA	120	0.2
15	Protopectinase IGA	120	0.3
16	Protopectinase IGA	180	0.1
17	Protopectinase IGA	180	0.2
18	Protopectinase IGA	180	0.3

#### 2.2 バイオ精製処理後の漂白処理

ペクチナーゼ酵素剤によるバイオ精製処理後の葛根原料に対し、0.2%濃度の次亜塩素酸ナトリウム溶液で漂白処理を行った。pH を 4 及び 11 とし、処理時間を 1 時間、2 時間及び 3 時間として漂白処理を行った。

#### 2.3 繊維の分析

S-2380N 走査型電子顕微鏡 ((株)日立製作所製) 付属の EDS 検出器 EMAX-7000 型 ((株)堀場製作所製) を用いて葛根原料表面の元素分析を行った。また、ブルカー・エイエックス株式会社製 M18XCE 型 X 線回折装置を用いて、

\*1) 繊維・高分子技術チーム、\*2) 企画・交流支援チーム、\*3) 奈良県繊維工業協同組合連合会、\*4) D.C.I 株式会社

粉碎した葛根原料に存在する結晶性物質の同定及び各精製過程における葛根の繊維の結晶化度の変化について調査した。さらに、(株)堀場製作所において同社製 LabRAM ARAMIS 型顕微レーザーラマン分光装置を用いて、励起波長 633nm で葛根原料のラマン分光測定を行った。

## 2.4 平均繊維長及び織度の測定

JIS L 1095 あるいは L 1019 に準拠し、葛根の単繊維 500 本について繊維長の測定を行い、その平均値 (平均繊維長) を算出するとともに、単繊維 500 本分の重量を測定し、織度を算出した。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 ペクチナーゼ酵素剤を用いたバイオ精製処理結果

プロトペクチナーゼナガセ酵素剤及びスクワラーゼ IGA 酵素剤を用いて、所定の濃度及び時間でバイオ精製処理した際の葛根の平均繊維長及び織度の測定結果を、Fig.1～Fig.6 に示す。Fig.1 及び Fig.2 からわかるように、いずれのペクチナーゼ酵素剤においても、濃度 0.1% 以上のペクチナーゼ酵素剤を用いて 1 時間以上のバイオ精製処理を行うことによって平均繊維長が僅かながら減少している。しかしながら、酵素剤の濃度及び処理時間による平均繊維長の違いはほとんど認められないことがわかる。また、Fig.3 及び Fig.4 からわかるように、プロトペクチナーゼナガセ酵素剤を用いたバイオ精製処理の場合、2 時間までの精製処理では葛根の織度は減少しているが、それ以上の長時間での精製処理では織度に変化はほとんど認められない。一方、スクワラーゼ IGA 酵素剤を用いたバイオ精製処理の場合、1 時間までの処理時間で葛根の織度は減少し、それ以上の長時間での精製処理では織度に変化は認められないことがわかる。したがって、葛根のバイオ精製処理において、プロトペクチナーゼナガセ酵素剤よりもスクワラーゼ IGA 酵素剤の方が、ペクチン除去の反応が速いものと考えられる。一方、Fig.5 及び Fig.6 からわかるように、葛根原料のバイオ精製処理において、プロトペクチナーゼナガセ酵素剤よりもスクワラーゼ IGA 酵素剤を用いた方が、葛根の平均繊維長及び織度がともに小さくなっている。しかしながら、平均繊維長は 35mm 以上確保できており、織度はスクワラーゼ IGA 酵素剤の濃度を 0.3% にすることによって、9.4tex～9.8tex を示している。 $\alpha$ -アミラーゼ酵素剤で残留澱粉を除去した後の葛根原料、及び上記 2 種類のペクチナーゼ酵素剤 (プロトペクチナーゼナガセ及びスクワラーゼ IGA) でバイオ精製処理した後の葛根原料の表面性状 (SEM 像) を観察した。その結果を、Fig.7～Fig.11 に示す。いずれのペクチナーゼ酵素剤を用いた場合でも残留澱粉を除去した後の葛根の繊維よりも細くなっている様子がうかがえる。

バイオ精製処理した後に残留しているリグニン成分を除去するため、プロトペクチナーゼナガセ酵素剤を用いてバイオ精製処理した後の葛根原料を、濃度 0.2% の次亜塩素酸ナトリウム溶液中で 1～3 時間の漂白処理を行った。漂白処理時間に対する平均繊維長及び織度を、それぞれ Fig.12 及び Fig.13 に示す。ペクチナーゼ酵素剤を用いたバイオ精製処理後に漂白処理を行うことによって、平均繊維長及び織度は減少している。pH4 の酸性状態で漂白処理した場合、漂白時間の増加とともにほぼ直線的に平均繊維長及び織度が減少していることがわかる。一方、pH4 の酸性状態よりも pH11 のアルカリ性状態で漂白処理した場合の方が、平均繊維長及び織度が小さくなっており、プロトペクチナーゼナガセ酵素剤を用いて平均繊維長を確保しつつ、pH11 のアルカリ状態で次亜塩素酸による 1 時間の漂白処理を付加することによって、織度を 10tex 以下にできることがわかった。

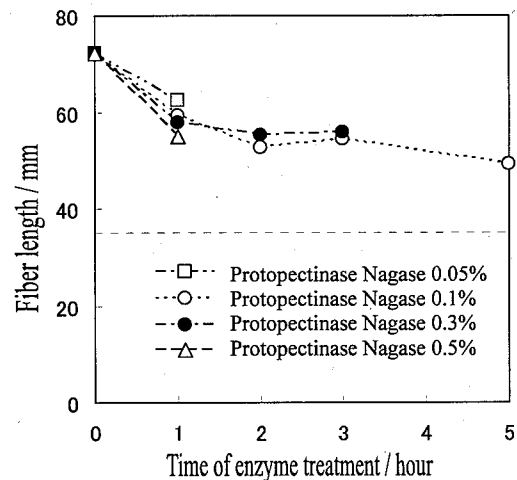


Fig.1 Relationship between treatment time and mean length of kudzu fiber.

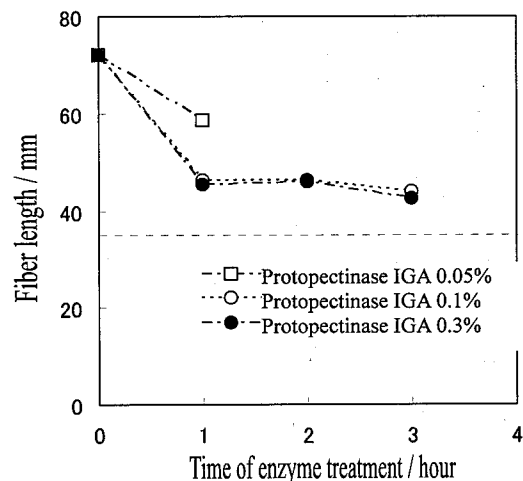


Fig.2 Relationship between treatment time and mean length of kudzu fiber.

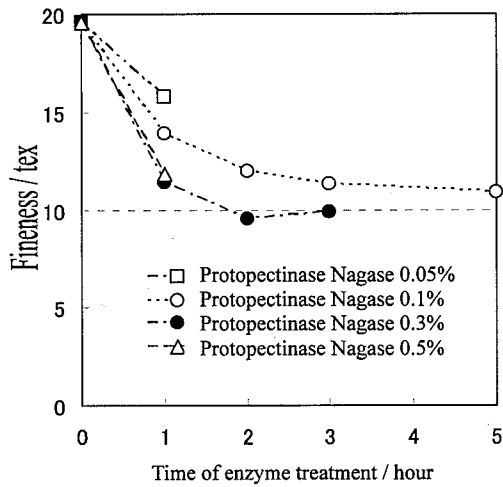


Fig.3 Relationship between treatment time and mean fineness of kudzu fiber.

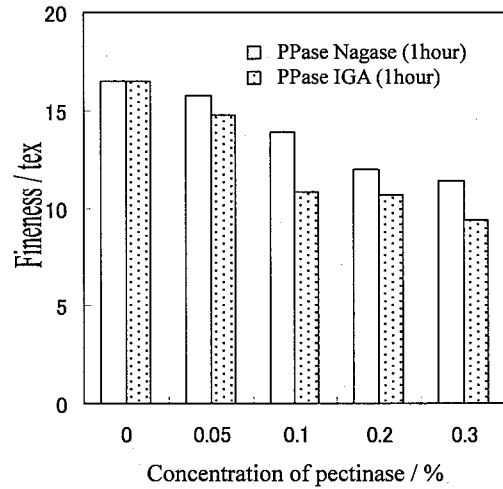


Fig.6 Relationship between concentration of pectinase and mean fineness of kudzu fiber.

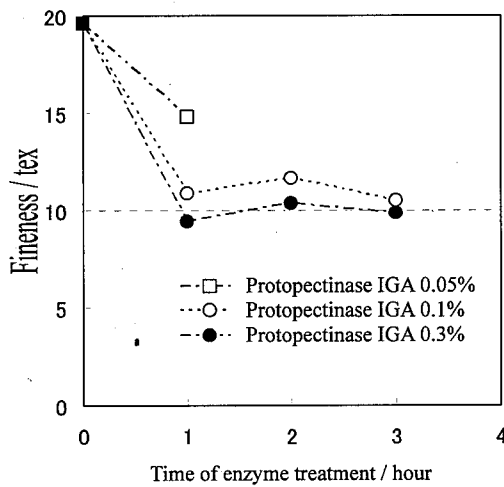


Fig.4 Relationship between treatment time and mean fineness of kudzu fiber.

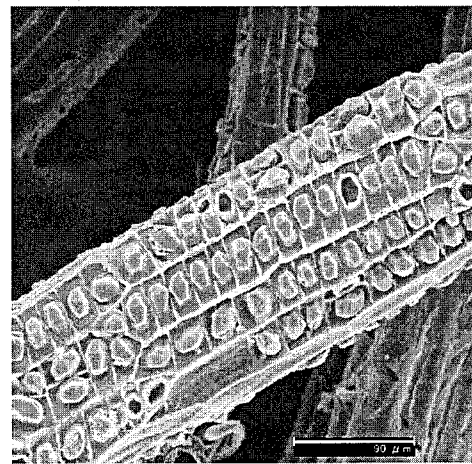


Fig.7 SEM micrograph of root of Kudzu, showing features of the surface which was removed starch by amylase.

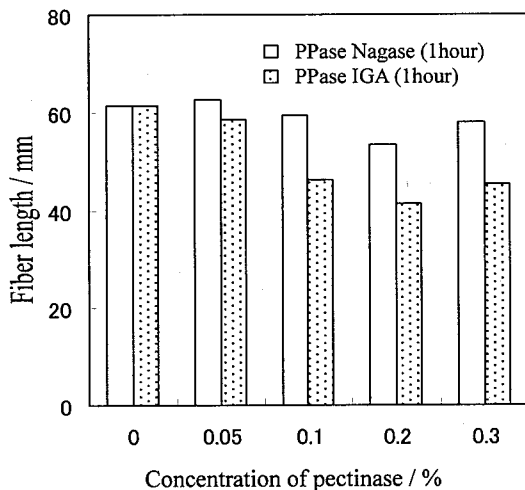


Fig.5 Relationship between concentration of pectinase and Mean length of kudzu fiber.

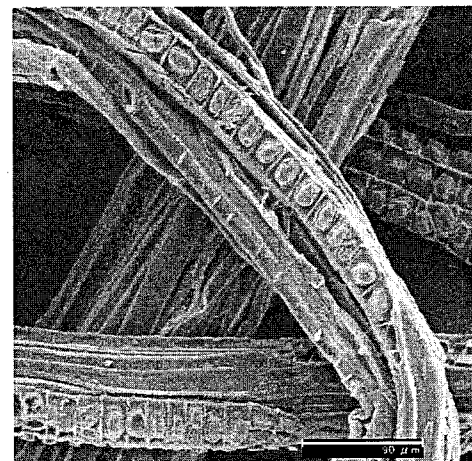


Fig.8 SEM micrograph of root of Kudzu, showing features of the surface which was removed pectin by 0.1% Protopectinase Nagase.

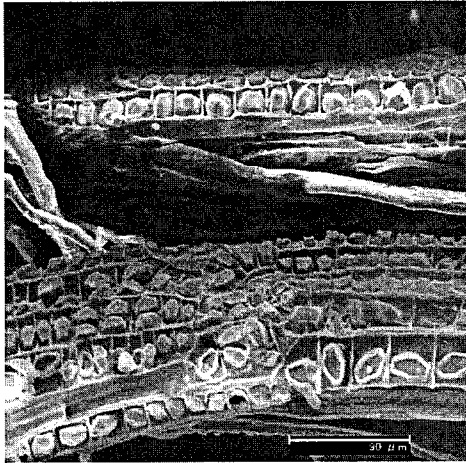


Fig.9 SEM micrograph of root of Kudzu, showing features of the surface which was removed pectin by 0.1% Protopectinase IGA.

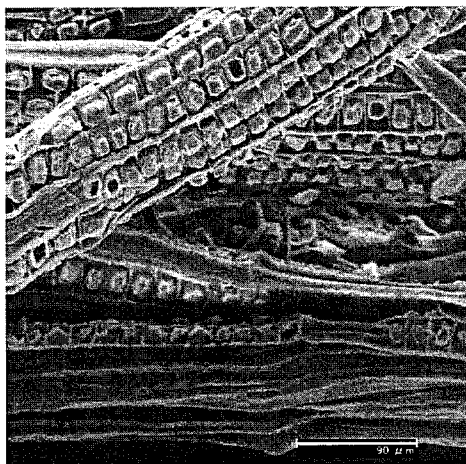


Fig.10 SEM micrograph of root of Kudzu, showing features of the surface which was removed pectin by 0.3% Protopectinase Nagase.

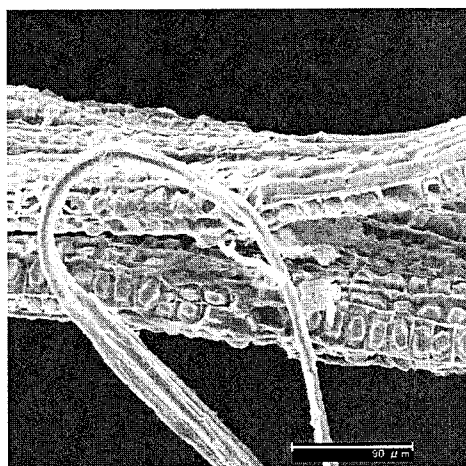


Fig.11 SEM micrograph of root of Kudzu, showing features of the surface which was removed pectin by 0.3% Protopectinase IGA.

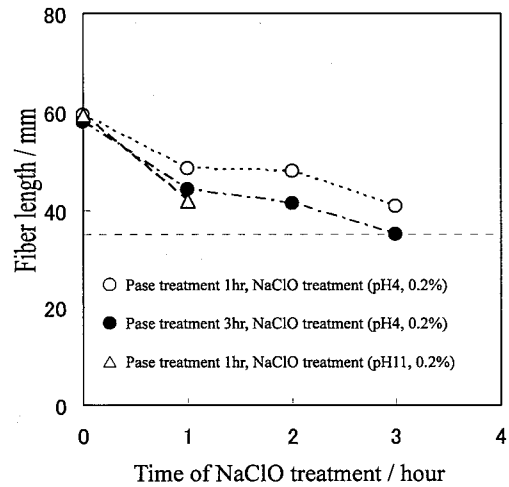


Fig.12 Relationship between treatment time and mean length of kudzu fiber.

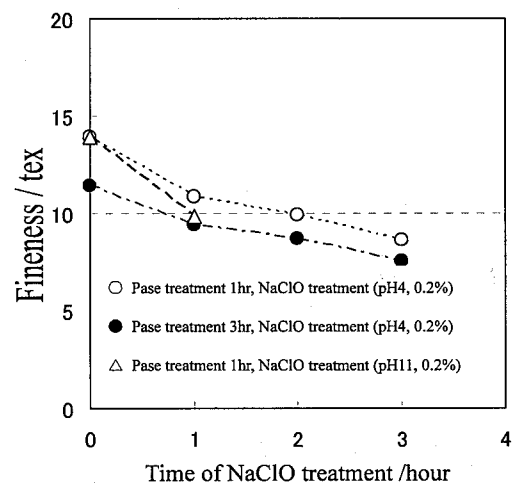


Fig.13 Relationship between treatment time and mean fineness of kudzu fiber.

### 3.2 繊維の表面分析

バイオ精製処理前後の葛根表面には多面体状の結晶性物質が存在している。(株)堀場製作所製 EMAX-7000 型 EDS 検出器 (X 線マイクロアナライザー) 及び(株)島津製作所製 XRF-1700 型蛍光 X 線分析装置を用いてプロトペクチナーゼナガセ酵素剤でバイオ精製処理した後の葛根表面に存在している結晶性物質の元素分析を行った。その結果を、それぞれ Fig.14 及び Table 2 に示す。葛根表面に存在している結晶性物質は主として、C, O, Ca, Si 元素で構成されているものと考えられる。X 線回折試験及びラマン分光測定の結果、葛根表面に存在している結晶性物質は、結晶水を有する単斜晶系のシュウ酸カルシウム ( $C_2CaO_4 \cdot xH_2O$ ) 結晶であることがわかった。プロトペクチナーゼナガセ酵素剤でバイオ精製処理した後の葛根の X 線回折図を、Fig.15 に示す。X 線回折図には、シュウ酸カルシウム結晶に帰属されるピークが確認できる。このシュウ酸カル

シウム結晶は葛根中のペクチン質と結合しているものと考えられ、ペクチン質をペクチナーゼ酵素剤で除去することによって、シュウ酸カルシウム結晶が葛根の繊維上から脱落し、繊維がより細くなるものと考えられる。

各精製過程において繊維の結晶化度の変化について検討するため、浸け置き後の葛根原料、 $\alpha$ -アミラーゼ酵素剤を用いて残留澱粉を除去した後の葛根原料、ペクチナーゼ酵素剤を用いてペクチン質を除去した後の葛根原料及び次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いて漂白した後の葛根原料を、それぞれ微粉碎機で平均粒径が 0.2mm 以下になるまで粉碎し、X 線回折図を測定した。その結果を、Fig.16 に示す。

Fig.16 には、完全な非晶質物質であるソーダガラス粉末及びシュウ酸カルシウム結晶の回折ピーク位置も X 線回折図を併せて記した。Fig.15 に示した X 線回折図と同様、いずれの回折図においてもシュウ酸カルシウム結晶に帰属される回折ピークが確認できるが、葛根原料の精製過程が進むにつれて、シュウ酸カルシウムに帰属される回折ピークの強度が小さくなっていることがわかる。特に、アルカリ性の状態で漂白処理した葛根原料の回折図においては、シュウ酸カルシウムに帰属される鋭敏な回折ピークを確認できないことがわかる。各回折図からシュウ酸カルシウムに帰属される吸収補正済みの多重回折ピークを取り除いた後、各精製工程における葛根の繊維の結晶化度を算出した。結晶化度の算出にはピーク分離法を用い、葛根の繊維の結晶質分からの積分強度と非晶質分からの積分強度の比率に基づいて結晶化度を算出した。その結果を、Table 3 に示す。浸け置き後の葛根の繊維の結晶化度は約 57% であり、アミラーゼ酵素剤により残留澱粉を除去し、ペクチナーゼ酵素剤によりペクチン質を除去し、漂白処理によってリグニン質を除去するにつれて葛根の繊維の結晶化度が約 68% まで、見掛け上増大していることがわかる。また、いずれの水素イオン濃度の状態で漂白処理した場合でも、葛根の繊維の結晶化度はほぼ同じ 68~69% の値を示していることがわかる。酸性試薬を用いて、アミラーゼ酵素剤により残留澱粉を除去した後の葛根原料中のペクチン質の量及びリグニン質の量を定量した結果、それぞれ約 5% 及び 12% であった。葛根原料中に存在しているペクチン質及びリグニン質が非晶質の形態を有するものと仮定すると、葛根の繊維を構成しているセルロース繊維及びヘミセルロース繊維の結晶化度は 68~69% であるものと考えられる。一般に、天然セルロースは約 70%、再生セルロースは約 40% の結晶化度を有することが知られている。

ペクチナーゼ酵素剤を用いてバイオ精製処理した葛根原料は、約 12% のリグニン成分を含んでいる。本研究では葛根の繊維に存在しているリグニン成分を除去するために次亜塩素酸を用いて漂白処理を行ったが、現状では約 3% のリグニン成分が葛根の繊維に残存している状態である。葛根の繊維に存在しているリグニン成分除去の状態を、顕微

レーザーラマン分光測定法を用いてラマンスペクトルを測定した。その結果を、Fig.17 に示す。1600cm<sup>-1</sup> 付近の芳香族 C=C の伸縮振動によるラマンシフトは、葛根の繊維に存在するリグニン成分に起因するものである。Fig.17 からわかるように、ペクチナーゼ酵素剤を用いてバイオ精製処理した葛根の繊維のラマンスペクトルには、1600cm<sup>-1</sup> 付近に明確なピークを示している。一方、漂白処理後の葛根の繊維のラマンスペクトルの場合、いずれの水素イオン濃度においても 1600cm<sup>-1</sup> 付近に明確なピークを確認することはできない。したがって、顕微ラマン分光測定により数% 以上のリグニン量を有する葛根の繊維のリグニン量を非破壊にて定量できるものと考えられる。

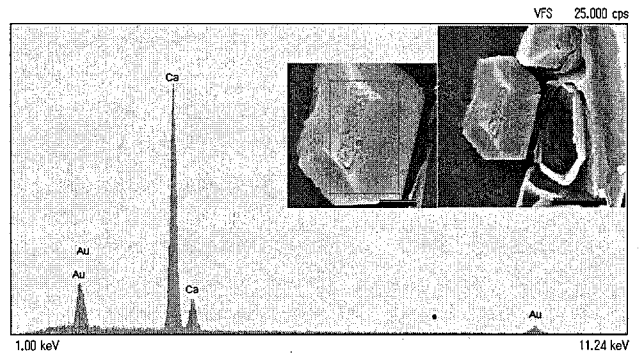


Fig.14 EDS spectrum of crystals of the surface, showing the presence of Ca. ( Au was used for sputtering. )

Table 2 Chemical composition of root of Kudzu (wt%)

C	O	Ca	Si	Al
70.58	27.83	1.32	0.08	0.05
S	Fe	Mg	Ba	K, Sr, Cl, P
0.03	0.03	0.02	0.02	>0.04

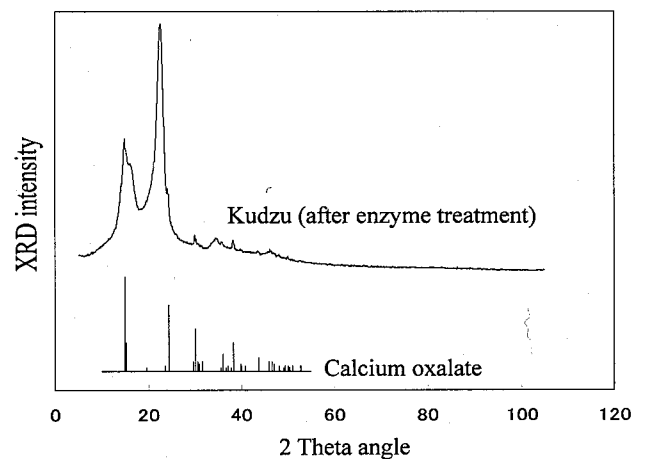


Fig.15 XRD spectrum of root of Kudzu, showing the presence of Calcium oxalate.

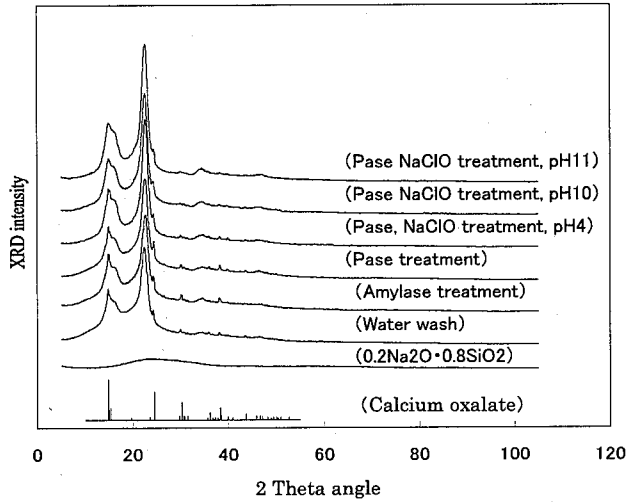


Fig.16 XRD spectrum of root of Kudzu.

Table 3 Degree of crystallinity of root of Kudzu

Sample	Degree of crystallinity / %
①Soaked overnight	57.4
②Amylase treatment	63.6
③Pectinase treatment	67.2
④NaClO treatment (pH4)	68.6
⑤NaClO treatment (pH10)	68.3
⑥NaClO treatment (pH11)	68.6

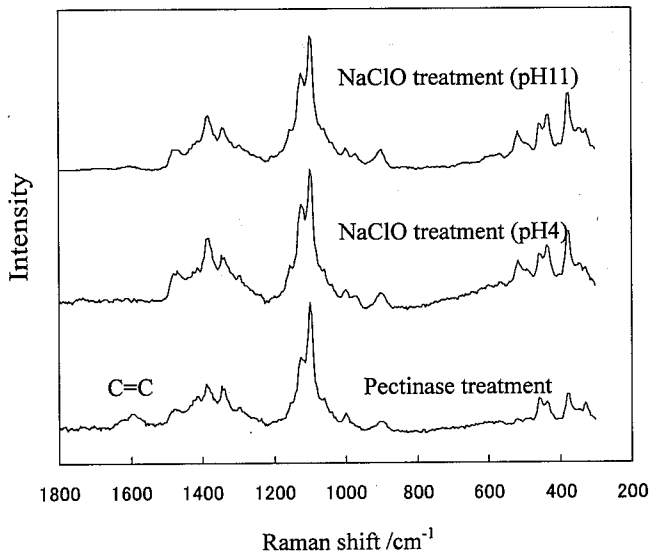


Fig.17 Raman spectrum of root of Kudzu.

#### 4. 結言

本研究では、酵素剤を用いた葛根原料の精製方法、とりわけペクチン質を取り除いて細繊維化するためにペクチナーゼ酵素剤を用いたバイオ精製処理方法について検討した。その結果、ペクチン質の除去により葛根繊維原料を細繊維化するバイオ精製処理において、ペクチナーゼ酵素剤を用いた処理が効果的であることがわかった。また、酵素剤の種類としてはバチルス菌由来のプロトペクチナーゼであるスクワラーゼ IGA の効果が高いことがわかった。本ペクチナーゼ酵素剤を用いた処理条件について検討した結果、ペクチナーゼ酵素剤の濃度が 0.1% から 0.3% まで増加しても葛根繊維の平均繊維長にはほとんど差が認められないが、ペクチナーゼ酵素剤の濃度の増加にともない繊維度がわずかに減少していた。さらに、葛根表面に存在している結晶性物質は、結晶水を有する単斜晶系のシュウ酸カルシウム (C<sub>2</sub>CaO<sub>4</sub> · x H<sub>2</sub>O) 結晶であることがわかった。

なお、本研究は、経済産業省「地域資源活用型研究開発事業」の助成を受けた。

#### 参考文献

- 1) 松本陽一, 西松豊典, 東 義昭, 森 鎮雄, 福嶋一成, *Journal of Textile Engineering*, **53**, 217-223(2007).
- 2) 河原豊, 津田知幸, 遠藤利恵, 南秀明, 西内滋典, *繊維学会予稿集*, **61**, 113(2006).
- 3) 茶谷悦司, 北野道雄, 愛知県産業技術研究所研究報告, **4**, 196-199(2005).
- 4) 佐藤嘉洋, 斉藤秀夫, 丹羽隆治, 愛知県産業技術研究所研究報告, **1**, 214-217(2002).
- 5) 三木靖浩, 首藤明子, 辻坂敏之, 若子倫菜, 奈良県工業技術センター研究報告, **33**, 1-4(2007).