

297837

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C分類：

A6
B6

本案已向：

國(地區) 申請專利，申請日期： 案號： ，☐有 ☐無主張優先權

美國 1993 年 4 月 30 日 054226 ☒無主張優先權

有關微生物已寄存於： ，寄存日期： ，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

四、中文發明摘要(發明之名稱：

可減少經沾污之黏性棉之黏度的
酵素組成物，用以製備該酵素組
成物之酵素，以及處理其上有甜
液之棉纖維之方法

本發明揭示一種酵素組成物，其減少摻雜有甜液之棉之粘度之用法。組成物及方法中使用可水解構成甜液之糖之酵素，如轉葡萄糖苷酶及果膠酶，此甜液係衍生自真菌來源，如曲霉屬之真菌。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

英文發明摘要(發明之名稱：

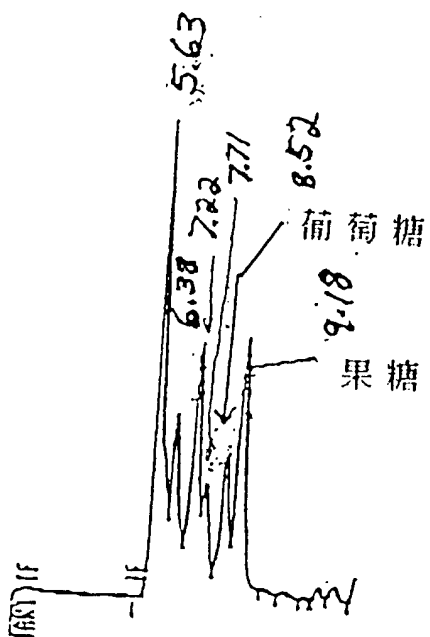
Enzyme composition for reduction in the stickiness of contaminated sticky cotton, enzyme useful for the preparation of said enzyme composition, and method for the treatment of cotton fiber having honeydew thereon

An enzyme composition, use thereof in a method for reducing the stickiness of honeydew contaminated cotton is disclosed. The composition includes, and the method uses, enzymes such as transglucosidases and pectinases capable of hydrolyzing sugars that make-up honeydew, which are derived from fungal sources, such as fungi of the genus Aspergillus.

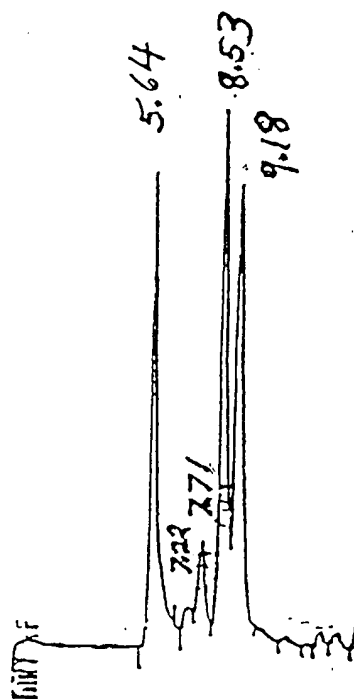
訂

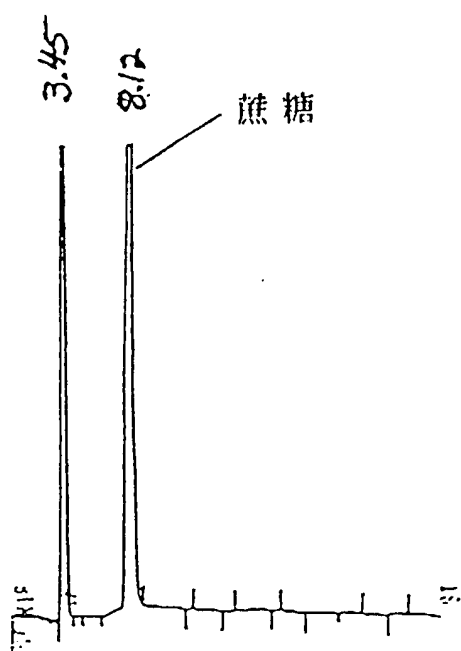
線

第 1A 圖

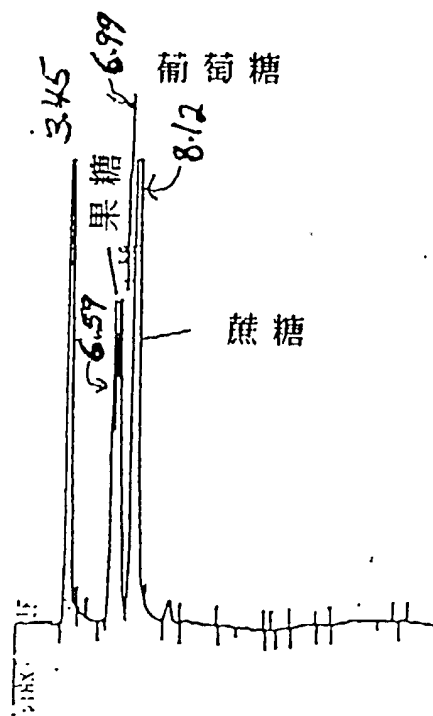


第 1B 圖

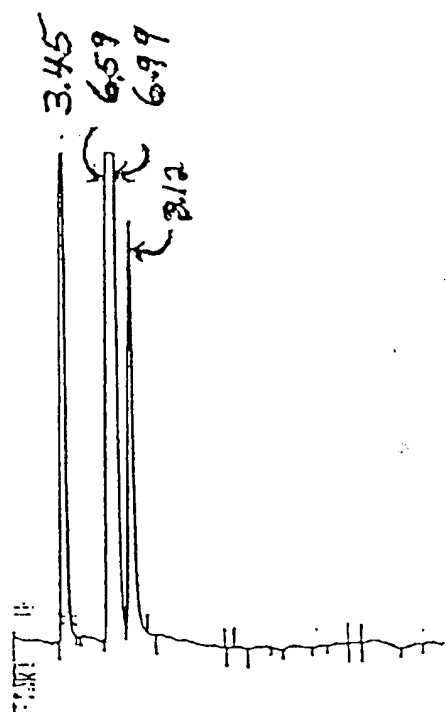




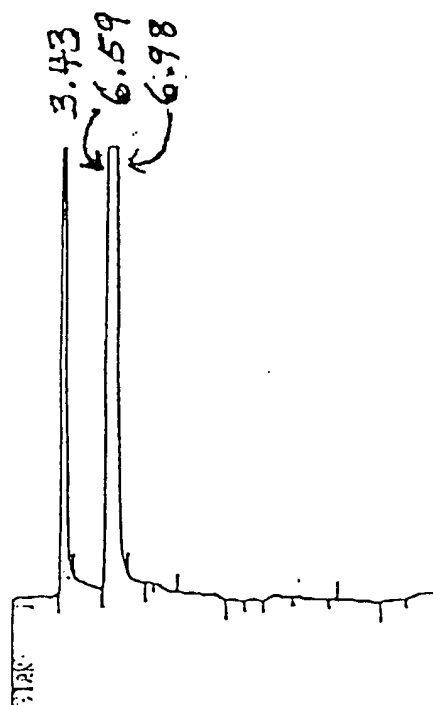
第 2A圖



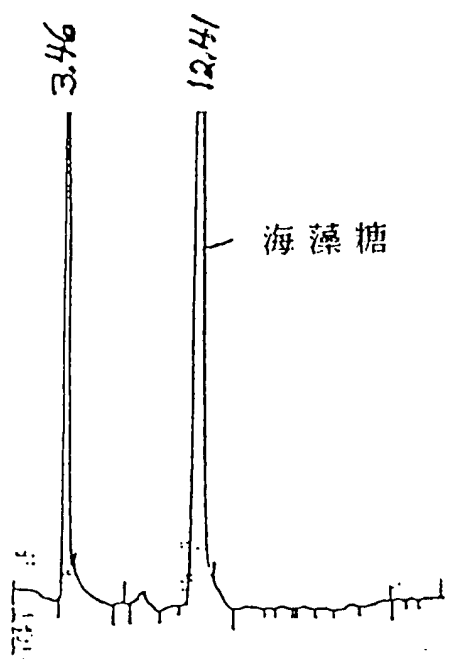
第 2B圖



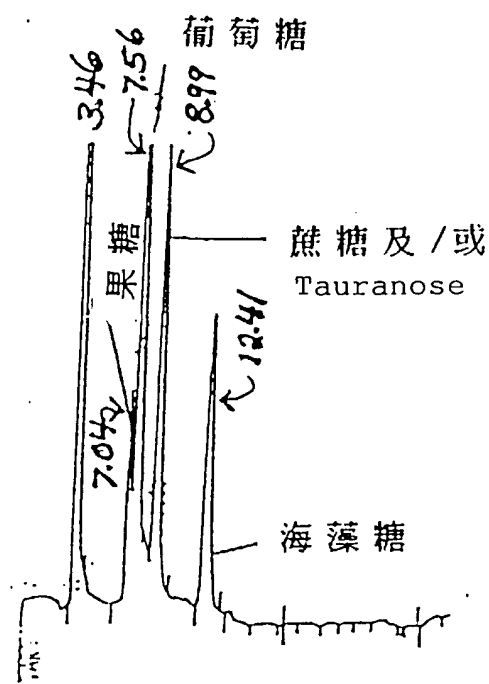
第 2C圖



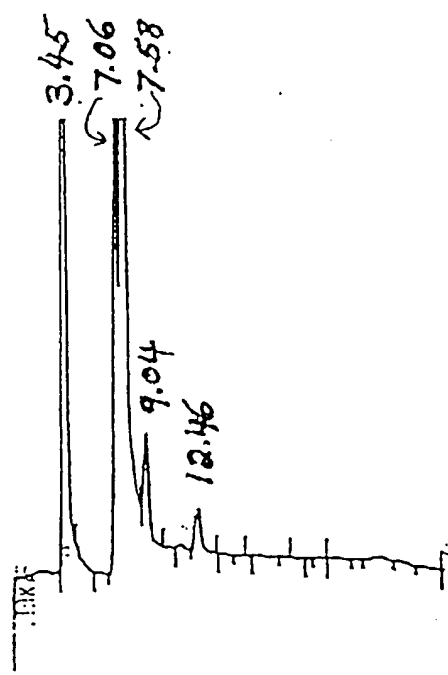
第 2D圖



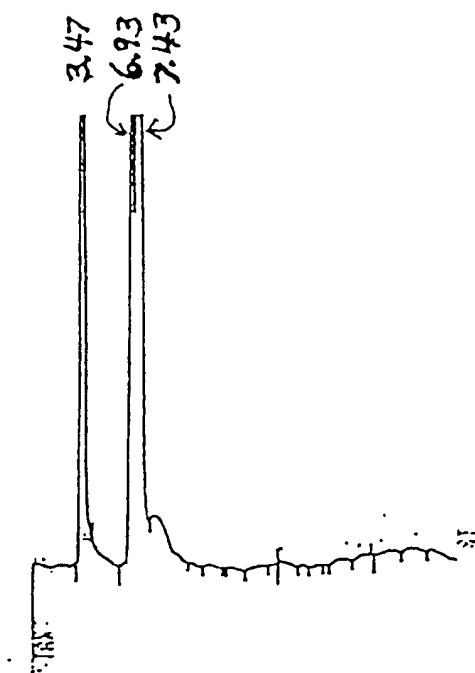
第 3A 圖



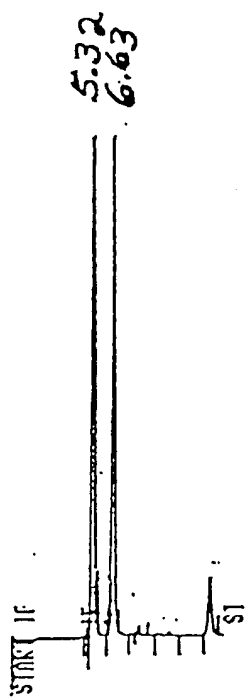
第 3B 圖



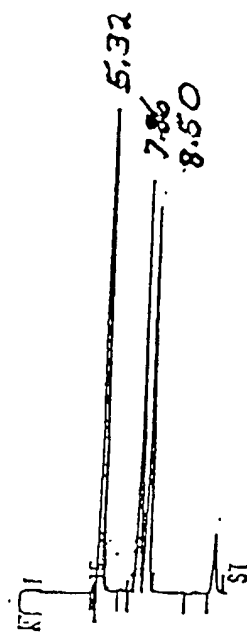
第 3C 圖



第 3D 圖

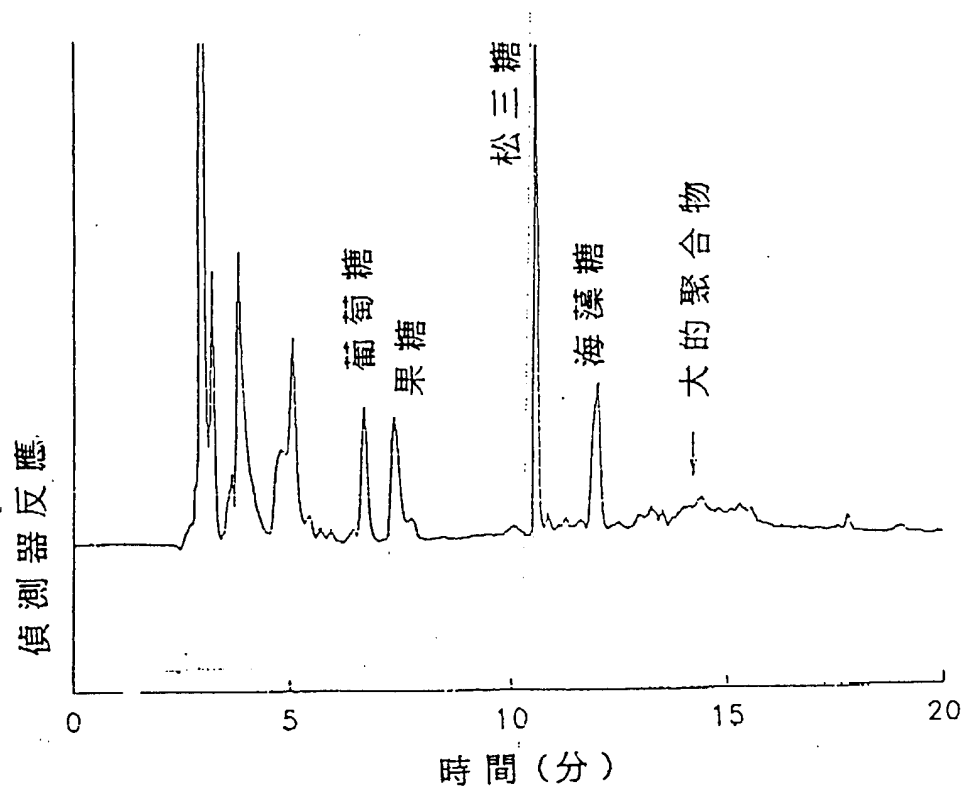


第 4A圖

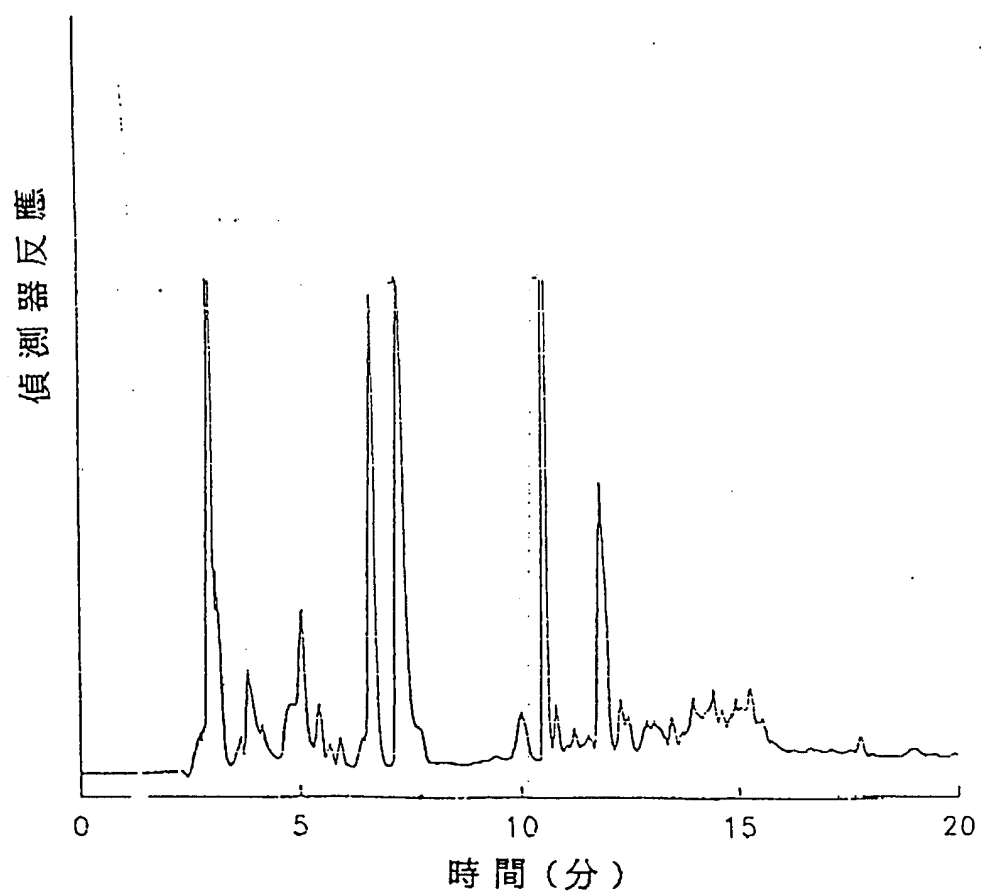


第 4B圖

~~第 5 圖~~

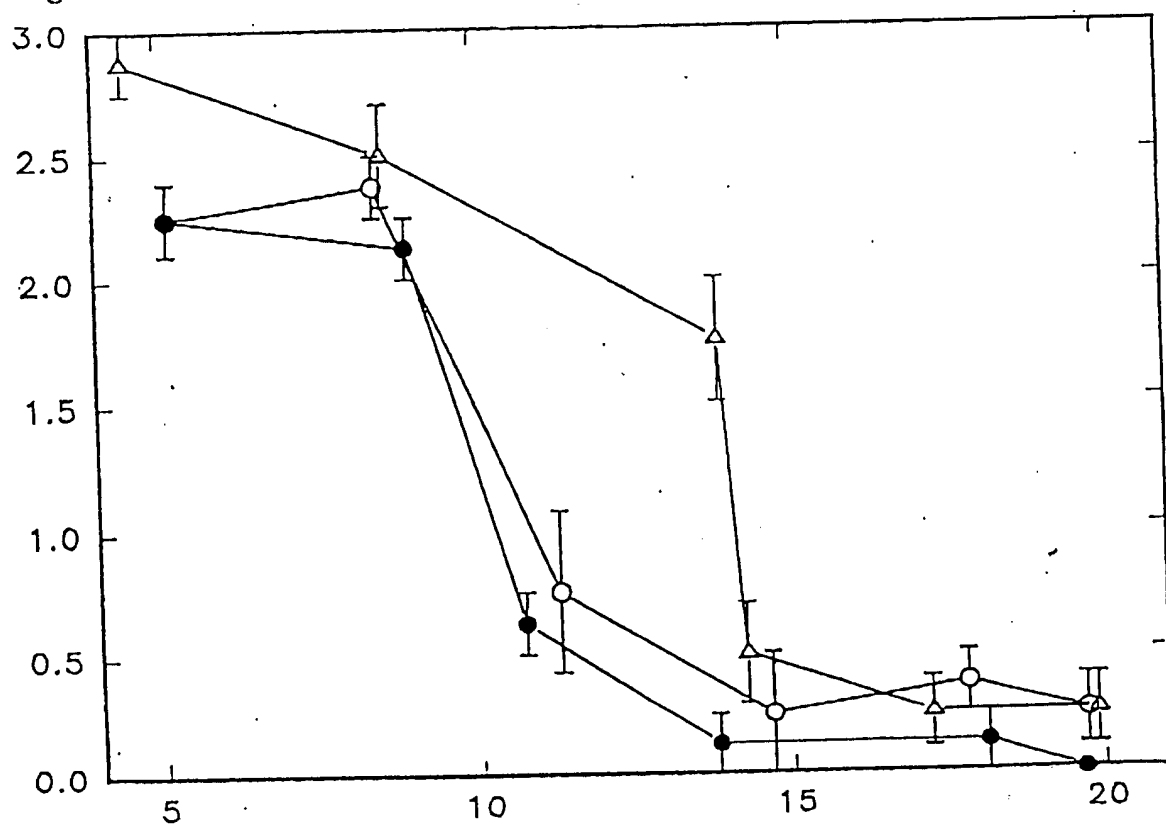
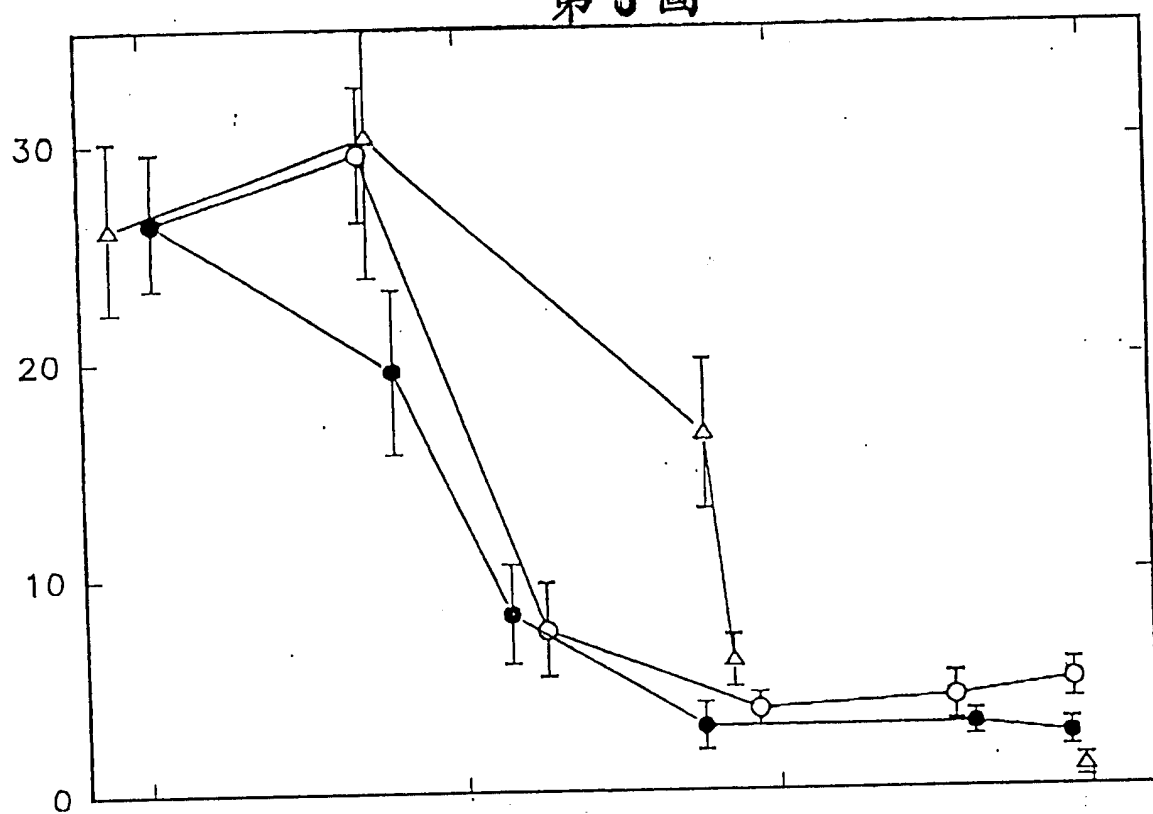


第 5A 圖



第 5B 圖

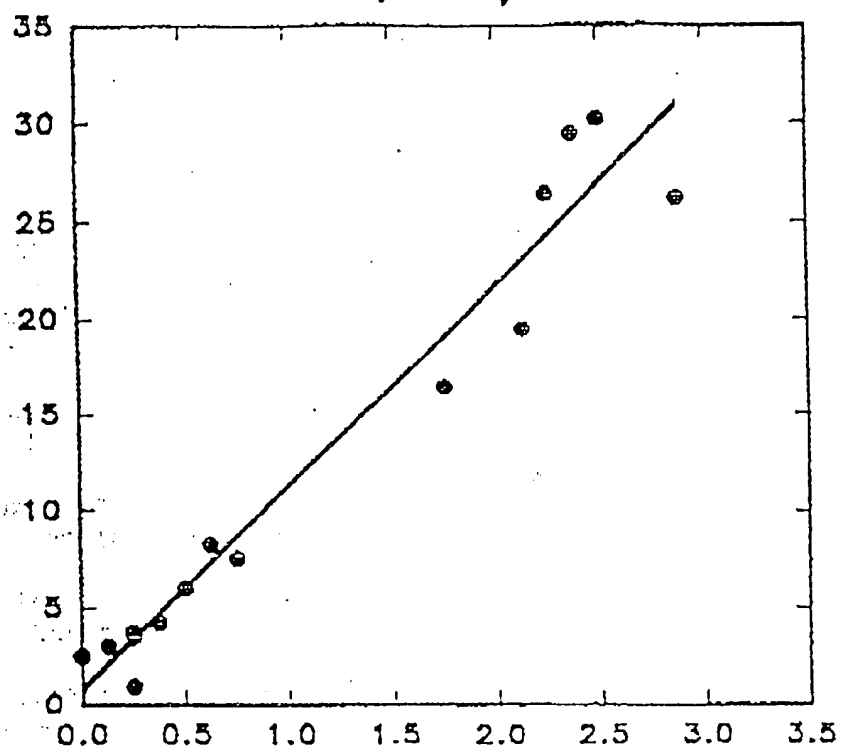
第6圖



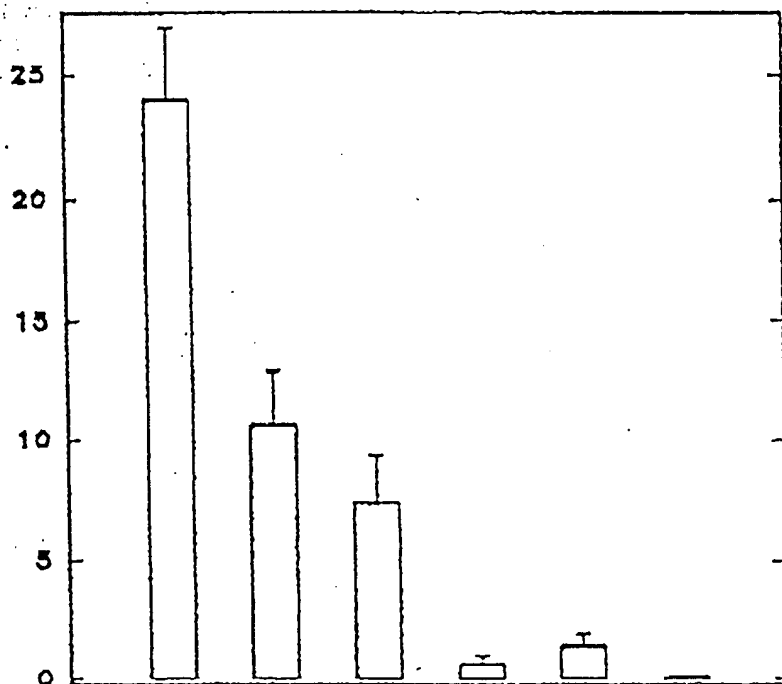
籽棉中水百分率

第7圖

第 8 圖



第 9 圖



公 告 本

附件-A: 第83103758號專利申請案中文說明書修正頁

民國 85 年 3 月 呈

297837

申請日期	83 年 4 月 26 日
案 號	83103758
類 別	C12N 9/10, D01C 1/04, C12S 3/4, D06N 1/4

A4
C4

85年3月20日 修正補充

Int. Cl⁶

297837

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書

一、發明 名稱	中 文 可減少經沾污之黏性棉之黏度的酵素組成物，用以製備該酵素組成物之酵素，以及處理其上有甜液之棉纖維之方法 英 文 Enzyme composition for reduction in the stickiness of contaminated sticky cotton, enzyme useful for the preparation of said enzyme composition, and method for the treatment of cotton fiber having honeydew thereon
二、發明 人	姓 名 (1) 奧斯特·蘭特洛 Lantero, Oreste J. (2) 哈洛瑪·西提 Shetty, Jayarama 國 籍 (1) 美國 (2) 印度 住、居所 (1) 美國印地安那州·哥森·瑞基伍德路五九七三一號 Ridgewood Drive, 59731, Goshen, IN 46526, U.S.A. (2) 美國印地安那州·俄克哈特·布魯克樹廣場二九一二號 Brooktree Court, 2912, Elkhart, IN 46514, U.S.A.
三、申請人	姓 名 (名稱) (1) 首威酵素股份有限公司 Solvay Enzymes, Inc. 國 籍 (1) 美國 住、居所 (事務所) (1) 美國印地安那州·俄克哈特·工業公園路一〇〇三號 1003, Industrial Parkway, Elkhart, IN 46516, U.S.A. 代 表 人 姓 名 (1) 皮·安東尼 Anthoine, P.

裝

訂

線

五、發明說明¹()

發明領域

本發明是有關「黏性棉」之處理，以減少棉纖維上之黏度，且特別是有關酵素組成物及利用此酵素組成物處理「黏性棉」纖維以減少其黏度之方法。

發明背景

「黏性棉」一詞用以指其上有黏性糖沈積之棉纖維，其係由某種（同翅亞目昆蟲）昆蟲所分泌（主要是甘薯粉虱 Bemisia tabaci（棉粉虱）及棉蚜虫 Aphis gossypii（棉蚜）），其在打開之圓形莢上的棉鈴上生長。在棉軋製中黏性棉會造成嚴重問題。這是全世界棉栽培者面對的問題。

在「黏性棉」之棉纖維上的黏性物質稱為「甜液」。甜液是單一，雙一，三糖以及少量蛋白質及有機酸之複雜混合物（1，2）。由粉虱產生之甜液典型組成爲 29.5% 寡糖（包括松三糖），10.1% 蔗糖，5.3% 葡萄糖，11.7% 果糖及 43.1% 海藻糖（3）。

在棉上之甜液使其難以軋棉機及紡織廠處理。再者，存在有此種甜液可加強沾污在纖維上之真菌之微生物發酵，而大大地破壞棉之纖維品質。在軋棉機中，黏性棉會干擾雜質之移除且軋棉機之翼片需更常清洗，減緩軋棉之操作。如此顯著減少產力。於紡織廠中，甜液干擾主要的處理步驟，包括梳棉、併條、粗紡及細紡操作。由於適應高

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明(2)

速技術，在許多國家中黏性棉是棉產製的主要威脅，且於織品工業中扮演重要的品質考量。

在減少經感染棉之黏度上，似乎少有研究報告。據報告將黏性棉加熱至 $130 - 140^{\circ}\text{C}$ 短時間可焦化甜液中之糖以避免紡紗中之沾黏(4)。應用碳氫化合物及界面活性劑添加物至棉中據報告也可消除紗線製造中之沾黏問題(5)。另一個已有的報告的方式是以稀的氫氧化銨或硝酸銨溶液噴灑在經沾污之棉包上，以加強甜液中糖之微生物瓦解(2)。其他尚有使用殺虫劑來控制棉之黏度(6, 7)。使用稱之為 Tempanil 之物質，據報告含有葡萄糖氧化酶，應用至沾污之棉上頃發現可顯著減少可溶性糖(8)。並未提及經處理的棉，其黏度有何改變。

Tempanil 由二部份組成：一為葡萄糖氧化酶及觸酶之粉末製劑；且另一為非離子及陰離子濕潤劑之液體混合物。

由文獻中可看出，在使用酵素水解甜液之領域中所進行的極少，除了使用葡萄糖氧化酶。然而，葡萄糖氧化酶僅可將葡萄糖轉化成葡萄糖酸，在對已知構成黏性棉之糖並無活性。

存在於甜液中之複雜的低分子量二及三糖，即海藻糖及松三糖，主要構成經沾污棉之黏性。這些糖含單純的糖、葡萄糖及果糖，其由 α 及 β 糖苷鍵結連接，示於下：

(1) 海藻糖

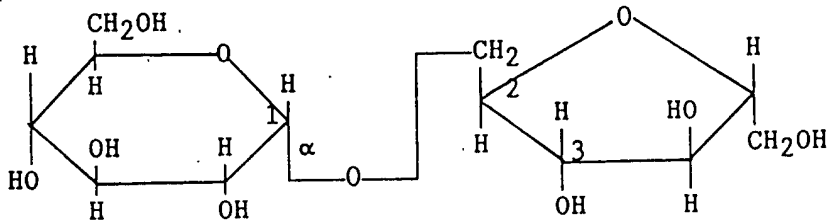
(0 - α - D - 吡喃葡萄糖基 - (1 $\rightarrow$ 1) - D - 呋喃果糖

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

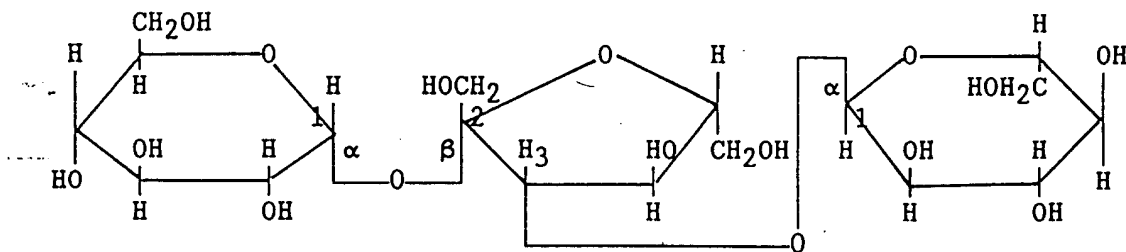
五、發明說明 (3)

苷)



(2) 松三糖

(0 - α - D - 吡喃葡萄糖基 - 0 - (1 - 2) - 0 - β - D - 呋喃果糖基 - (3 - 1) - α - D - 吡喃葡萄糖苷)



不幸的是，存在於甜液中之海藻糖及松三糖均耐受傳統碳水化合物水解酶之水解。因此，使用此種傳統的碳水化合物水解酶不會令人滿意地處理黏性棉，即自其纖維中移去甜液。

因此，可看出仍極需提供一種組成物，且特別是一種酵素組成物，可水解或是減少棉纖維上之甜液。進一步可

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五 發明說明(4)

看出仍需有利用此酵素組成物之方法，以處理黏性棉以達成在其上黏度之減少。

發明要點

本發明主要目的是鑑知及提供一種組成物，且特別是一種酵素組成物，其可水解及／或減少棉纖維上之甜液，以減少此纖維上之黏性。

本發明再一目的是提出處理黏性棉纖維之方法，以達成其上黏性之減低作用。

依據本發明教示，此中揭示一種可水解及／或減少棉纖維上存在之甜液之酵素組成物，由是減低其上之黏性。此酵素組成包括至少一種衍自真菌來源之水解酶。

較好，酵素組成之水解酶衍自曲霉屬之真菌。更好，此種水解酶衍自黑曲霉菌株 (*Aspergillus niger*)。最好，水解酶衍自黑曲霉 (臭的) 之真菌株，其以編號 1 4 9 1 6 貯量於美國標準菌種收集所 (ATCC)。

欲包括於本發明酵素組成物中之衍自真菌來源之較佳的水解酶包括轉葡萄糖酶 ($\alpha - 1, 4$ 及 $\alpha - 1, 6$) 及果膠酶。

進一步依據本發明之教示，此中揭示處理 (酵素性處理) 黏性棉纖維之方法，以達成其上黏性之減低。此方法包括將該棉纖維與酵素組成物接觸，其中包括至少一種由真菌來源衍生之水解酶。

較好，方法中應用具水解酵素之酵素組成物，其衍自

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(5)

曲霉屬真菌。較好，此水解酶衍生自黑曲霉。更好，水解酶衍生自黑曲霉（臭的），其已在 1 4 9 1 0 下貯於 A T C C 中。

本發明酵素組成物中欲包括之衍自真菌之較佳水解酶包括有轉葡萄糖苷酶（ $\alpha - 1, 4$ 及 $\alpha - 1, 6$ ）及果膠酶。

又依據本發明進一步之教示，此中指示至少一種衍自真菌來源的水解酶，其製成可至少部份水解棉纖維上甜液之酵素組成物之用法，由是減低棉纖維上之黏性。

較好，用於上述水解酵素中之酵素組成，係衍自曲霉屬。較好，此水解酶衍生自黑曲霉。更好，此水解酶衍生自黑曲霉（臭的）真菌，其已以 1 4 9 1 6 號貯置於 A T C C 中。

欲包括於本發明酵素組成中，衍自真菌源之較佳的水解酶包括轉葡萄糖苷酶（ $\alpha - 1, 4$ 及 $\alpha - 1, 6$ ）及果膠酶。

本發明這些及進一步的目的及優點由以下說明配合所揭示之附圖可更容易明瞭。

附圖說明

圖 1 A 及 1 B 為在 0 及 1 7 小時時分解水解甜液之 H P L C 層析譜，其依如實例 1 所述，將由黏性（沾污的）棉纖維中萃取之甜液行酵素水解試驗而得。

圖 2 A，2 B，2 C 及 2 D 為如實例 2 所述，分別在

五、發明說明(6)

0、1小時、4小時及20小時時由轉葡萄糖苷酶水解蔗糖之HPLC層析譜。

圖3A，3B，3C及3D為如實例2所述，分別在0、1小時、4小時及20小時時由轉葡萄糖苷酶水解松三糖之HPLC層析譜。

圖4A及4B為如實例2所述，在0及4小時時分別由轉葡萄糖苷酶水解海藻糖之HPLC層析譜。

圖5A及5B為纖維經衍自黑曲霉之果膠酶製劑處理後，所萃取出之糖之HPLC層析譜。‘未處理的’係指於表2中之檢查用樣品。‘Boom + Duct’係指在二說明中相同的複版。

圖6是一圖表以說明本發明酵素組成物之效力，其中X軸是熱偵測器刻度，Y軸是在籽棉中之水百分率，實心（或黑色）點及線將其連接代表使用含1%（v/v）轉葡萄糖苷酶L-1000製劑之酵素組成物所得之結果，空心（或白色）點及線將其連接代表使用含2%（v/v）轉葡萄糖苷酶L-1000製劑之酵素組成物所得的結果，且三角形及線連接代表使用標準品所得之結果。

圖7是一圖表說明本發明酵素組成物之效力，其中X軸是小卡紙的刻度，Y軸是籽棉中水百分率，實心（或黑色）點及線連接表示利用含有1%（v/v）之轉葡萄糖苷酶L-1000製劑之酵素組成物所得的結果，空心（白色）點及線連接代表以含有2%（v/v）轉葡萄糖苷酶L-1000製劑之酵素組成物所得的結果，且三角形及線

五、發明說明(7)

連接表示以標準品所得之結果。

圖 8 是一圖表說明本發明酵素組成物之效力，其中 X 軸是熱偵測器刻度，且 Y 軸為小卡紙之刻度。

圖 9 是橫線圖進一步說明本發明含有轉葡萄糖苷酶 L-1000 製劑之酵素組成物之效力，其已噴灑在各種濕潮水平，並培育 2 週，其中 X 軸是熱偵測器刻度，且進一步其中的最左手測之橫線代表一個乾燥的檢查組（即，檢查樣品既無濕氣也無酵素），其中緊鄰其右之橫線代表有 1% (v/v) H_2O 但無酵素之濕的檢查組，其中緊鄰其右的代表有 10% (v/v) H_2O 及 0.26% (v/v) 轉葡萄糖苷酶 L-1000 製劑之濕的檢查組，其中緊鄰其右的代表具 12% (v/v) H_2O 及 0.25% (v/v) 轉葡萄糖苷酶 L-1000 製劑之濕的檢查組，其中緊鄰其右的代表具有 10% (v/v) H_2O 及 0.5% (v/v) 轉葡萄糖苷酶 L-1000 製劑之濕的檢查組，且其中緊鄰其右的（最右手側之橫線）代表具有 12% (v/v) H_2O 及 0.5% (v/v) 轉葡萄糖苷酶 L-1000 製劑之濕的檢查組。

發明之詳細說明

本發明新穎的酵素製劑（組成物）包括可經由水解甜液中之糖減低棉纖維黏性之酵素，較好是海藻糖及於三糖。再者，如此中所揭示的這些糖類之酵素水解方法，造成的沾污之棉黏性之減低。其對全世界棉栽培者提供對主要

五、發明說明(8)

問題一個簡易、經濟及安全的解決之道。

吾等已鑑知可行此種水解作用之酵素為這些水解酵素，其衍自真菌來源且更特別的是曲霉屬之真菌。最好這些水解酵素衍自黑曲霉，如黑曲霉（臭的）在 A T C C 中以 1 4 9 1 6 號貯置。

本發明的水解酵素，當納入本發明組成物中為可水解糖之酵素（糖指海藻糖及松三糖），包括衍自真菌來源之轉葡萄糖苷酶，果膠酶、 α -半乳糖苷酶及葡萄糖澱粉酶，但亦不限於此。

此種轉葡萄糖苷酶之實例有轉葡萄糖苷酶 α -1, 4, 衍自黑曲霉 A T C C 1 4 9 1 6, 轉葡萄糖苷酶 α -1, 6, 衍自黑曲霉 A T C C 1 4 9 1 6, 及以 Transglucosidase L-1 0 0 0 商品名上市之轉葡萄糖苷酶組成物 (SOLVAY ENZYMES, INC., Elkhart, Ind.)。

此種果膠酶之實例為商品名 PEAREX 5X 及 CLAREX-ML 上市之果膠酶組成物 (SOLVAY ENZYMES, INC., Elkhart, Ind., U.S.A.)。

α -半乳糖苷酶之實例是衍自黑曲霉之 α -半乳糖苷酶（以 BEANO 商品名上市，AK PARMA INC., USA）。

葡萄糖澱粉酶的一個實例是衍自黑曲霉 A T C C 1 4 9 1 6 之葡萄糖澱粉酶。

依據本發明原則，使用水解酵素以製成水解棉纖維上甜液之酵素組成物，由是棉纖維之黏性可減少。基於此，酵素（或酵素製劑）與可接受之載劑混合或調和，其可令

五、發明說明(9)

生成之酵素組成物應用在棉纖維上，如此其上之甜液被水解並自此中移除。

可被利用於本發明酵素組成物中之載劑實例包括水。其他型式之載劑包括沾濕劑，如 TRITON-X-100(UNION CARBIDE)。欲利用之精確載劑可依使用中酵素組成物應用之環境而變化（如欲求之接觸時間，接觸中環境條件，等）。

欲被利用於本發明酵素組成物製備中之酵素或酵素組成物對載劑之精確濃度及比率是決定技藝中技術之內的。

較好，酵素（或酵素製劑）利用方法混合於載劑中，如攪動，此為技藝中為了溶解已知的及／或可充份及實質如均勻拌合組份至實質上均質之組成物中。

在進一步依據本發明原則中，本發明之酵素組成物可用於處理其上有甜液之棉纖維。此處理方法包括將棉纖維與本發明之酵素組成物接觸一段足以至少令甜液部份水解之時間。此處理方法進一步包括接下來自酵素組成物中移去棉纖維，由是經水解之甜液可保留於酵素組成物中。以此方式，可提供棉纖維上甜液之減低作用。

如上示所述，本發明之酵素組成物及其用法，可用手處理仍在田園之棉纖維或已收穫者。

於前一例中，酵素組成物可以經衍施用或其他任何適合的裝置，如噴霧器，其可將液體酵素組成物分佈（較好是實質上均勻之分佈）在棉纖維上。於此一例中，希望棉纖維可再自酵素組成物中移出，可利用造成酵素組成物自

五、發明說明(10)

棉纖維滴下之重力，以蒸發作用以及以自然沈澱作用。若必要時，棉纖維接下來之沾濕或浸泡（在其收穫之前及／或之後）也可採用，以進一步自所處理之棉纖維上移除本發明之酵素組成物。

於後一例中，酵素組成物之施用可將收穫之棉纖維浸於適當的容器中，其中含有本發明之酵素組成物。另外，酵素組成物可經由使用適當的（及一般的）裝置，如氣壓式噴霧鎗，而施用在棉纖維上。同時，將酵素組成物僅採傾倒方式於棉纖維上也足夠。再次地，希望棉纖維可再移出酵素組成物中，利用造成酵素組成物自棉纖維中滴下之重力，蒸發，自然沈澱及／或接下來沾濕或浸泡棉纖維以進一步移去經處理之棉纖維中所含的本發明之酵素組成物。

酵素組成物與其上有甜液之棉纖維接觸停留之時間，依據（尤其是依據）量以及欲求之水解作用完全程度而變化，但此可由精藝者十分容易地決定。此中希望此種接觸可少至10分鐘或長至欲求時間，接觸時間多至數天或數週也是可能。然而，此中希望以18小時之最少接觸時間為較佳。

即已大體上描述本發明之組成物及方法，進行以下實例之參考說明，實例僅供說明不欲予以限制。

實例 1

15克沾污有甜液之棉樣品，以50℃的600毫升

五、發明說明(11)

水萃取。萃取再重覆三次。各次萃取包括沾濕棉並混合15分鐘，以手壓擠出棉內之水。萃取物混合並於旋轉膜蒸發器中以真空方式濃縮成約10毫升。此萃取物再用來篩選可水解甜液之酵素。

為測試水解酶活性，將pH4.5之0.5毫升萃取物在50℃下與0.02毫升轉葡萄糖苷酶L-1000製備共培育18小時，後者由黑曲霉選出之菌株產生，其則以ATCC No. 14916貯於美國標準菌種收集所，Rockville, Maryland, U.S.A(此株有時分類為臭曲霉一員)，且其培養於適合的營養肉汁中。反應中止是移去0.2毫升反應樣品並置沸水浴中歷10分鐘。冷卻後加入0.3毫升的0.01N H₂SO₄。此混合物再於Eppendorf桌上型離心機中離心，且上清液經由0.45微米濾膜過濾證明之。再進行HPLC分離，0.02毫升樣品在60℃之Bio-Rad HPX-87H管柱(Bio-Rad USA)上進行，利用移動相0.01N H₂SO₄，流速0.7毫升/分。以Erma RI偵測器ER-7512機型(Erma CA, Inc. Tokyo, 日本)來偵測糖。甜液萃取物分配至峰中，其中葡萄糖及果糖在最後二峰中。管柱中分離條件，即低pH值及高溫可使蔗糖水解。在HPLC中應用的條件下，對於酵素存在下蔗糖的命運並未十分被了解。由文獻中知道，甜液中寡糖之組成主要是葡萄糖及果糖之聚合物。因此，可水解寡糖的任何酵素，均可達成葡萄糖及/或果糖之增加，在寡糖部份中則相對的減少。

五、發明說明(12)

分離自黑曲霉變種相同選擇株之轉葡萄糖苷酶，如上述般測試，即加20單位的轉葡萄糖苷酶至甜液萃取物中（0.5毫升體積）。1單位轉葡萄糖苷酶定義為，在分析條件下（此中以麥芽糖及受質）每分鐘產生1微莫耳6- α -葡萄糖基麥芽糖所需之酵素量。此分析中HPLC層析譜之影本示於圖1，其中甜液在0時及17小時後水解。圖1清楚地顯示，一旦甜液之寡糖水解，單糖（葡萄糖及果糖）會增加。

實例 2

蔗糖、松三糖及海藻糖之轉葡萄糖苷酶水解作用

甜液據報告含有蔗糖、松三糖及海藻糖（7）。由於以Bio-Rad HPX-87H管柱之HPLC條件可水解蔗糖，發現另一HPLC管柱，其操作條件無法水解蔗糖。頃發現，Bio-Rad Bio Sil 5S管柱可使寡糖及單糖有極佳的分離，但不會水解蔗糖，其中所使用之移動相由68%（v/v）乙腈及32%（v/v）水組成。管柱在25℃下操作，使用移動相及98毫升/分之流速。20微升的4%DS（乾物質）樣品足可有良好的分離。

於酵素水解中，各糖（ACS級或所指示之來源）在0.02M醋酸鹽緩衝溶液，pH5.0製成4%溶液。水解在50℃下進行，利用10毫升受質及50單位的轉葡萄糖苷酶。反應之中止是將水解物置沸水浴中10分鐘。在注入HPLC之前，水解物經由0.45微米濾膜過濾

297837

五、發明說明 (13)

。圖 2 - 4 示出蔗糖、海藻糖 (SIGMA CHEMICALS) 及松三糖 (得自 W. B. MILLER 之禮物, Clemson University) 分別為轉葡萄糖苷酶水解之層析圖。結果清楚地說明, 蔗糖、松三糖及海藻糖及轉葡萄糖苷酶製劑水解成葡萄糖及果糖。

這些觀察是獨特的, 因為通常轉葡萄糖苷酶水解麥芽糖, 並將一個葡萄糖基殘基轉移至另一麥芽糖上形成 1 - 6 連接, 產生 6 - α - 葡萄糖基麥芽糖。使蔗糖、海藻糖及松三糖三種糖水解變得如此不尋常的原因是其均由葡萄糖及果糖組成, 即蔗糖 [gluc-fruc, $\alpha \beta$ (1 $\rightarrow$ 2)], 海藻糖 [α gluc (1 $\rightarrow$ 2)] β fruc (3 $\rightarrow$ 1) α gluc], 及松三糖 [α gluc (1 $\rightarrow$ 1) fruc] 。

實例 3以商品化之果膠酶製劑水解甜液

得自實例 1 所述經沾污 ('黏性的') 之棉之甜液萃取物, 用來測試含有各種真菌酵素活性之各種商品化酵素製劑。如上實例 1 所述之相同步驟, 用來測試這些酵素在甜液上之水解活性。

為檢查由於甜液水解所造成的單糖 (葡萄糖及果糖) 之發展, 以 R T 7 . 2 2 處峰之減少作為甜液水解之指示 (見圖 1) 。

發展品質等級以定訂出甜液及本發明各種酵素組成物酵素水解之效力。等級定為由 0 至 3, 0 (-) 表示約 0

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (14)

- 1 0 % 水解， 1 (+) 表示約 1 0 - 4 0 % 水解， 2 (+ +) 表示約 4 0 - 7 0 % 水解，且 3 (+ + +) 表示約 7 0 - 1 0 0 % 水解。這些分析的結果綜合於表 1。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(15)

表 1

以不同的酵素及酵素製劑處理甜液

酵 素	供應商	微生物來源	水解指數
果膠酶 (CLAREX-ML)	SOLVAY ENZYMES USA	黑曲霉	++
果膠酶 (PEAREX 5X)	SOLVAY ENZYMES USA	黑曲霉	+++
果膠酶 (Sumizyme-AP-11)	SHIN NIHON CHEMICAL 日本	黑曲霉	+++
轉葡萄糖苷酶 L-100	SOLVAY ENZYMES USA	黑曲霉 ATCC 14916	+++
轉葡萄糖苷酶 (Amano)	AMANO INTERNATIONAL 日本	黑曲霉	+++
葡萄糖澱粉酶 (DIAZYME)	SOLVAY ENZYMES USA	黑曲霉 ATCC 14916	+
α -半乳糖苷酶 (BEANO)	AK PARMA INC. USA	黑曲霉	+
轉葡萄糖苷酶 α -1,4	SOLVAY ENZYMES USA	黑曲霉 ATCC 14916	+

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (16)

實例 4

果膠酶酵素組成物之野地應用

呈液體型式之 Sumizyme-AP-II，在使用前稀釋成其原先濃度之 2 % (v / v)，以含 TRITON X-100 (UNION CARBIDE) 0 . 2 5 % (v / v) 之自來水稀釋，其中 p H 值以充份的醋酸降至 4 . 5 。此混合物應用至為棉粉虱甜液沾污之棉上，係在其收穫時以噴嘴噴灑，如此回收之籽棉可為此溶液沾濕。已知棉採拾機之速度，可調整噴灑線上之壓力，使每英畝的棉有約 3 0 加侖 (U S) 的此混合物。進行這些試驗的野地產率為每英畝有約 3 0 0 0 磅籽棉。

採拾機在這些實驗中採用國際收穫機 (International Harvester) 4 2 2 機型，其包括一個小的 (1 4 U S 加侖) 的塑膠桶、壓力調控器、球型的流動閥，及在靠近傳動輪處架上濾器以保持住酵素溶液。由此桶中，混合物可在各種壓力下 (約 4 0 p s i) 泵送至噴嘴，以產生欲求之應用速率。噴灑之噴嘴置在桁上，其再架於 (金屬支持結構) 採拾機頭部前方，如此在進入採拾機 (桁處理) 之前，棉可以細小霧水噴灑。用來試驗果膠製劑的另一應用方法，是經由齊平面架上之噴嘴噴灑在已收穫之棉上，此直接可通至管子，其可將已收穫之籽棉由採拾頭部傳送至位於採拾機上方傳動輪後方之貯存倉 (稱為籃) 之中。

噴灑後，樣品立即自採拾機籃中移出，並置入不透氣

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (17)

容器中以決定所施用之水汽 (且由是可決定所加入之有效酵素，因假設酵素在潮濕狀況下才有效。這些樣品再稱重，於氣動力之 105°C 烘箱中乾燥一夜，並再次稱重以決定其水汽含量。未處理的樣品另外取樣，並決定噴灑添加之效力。

為決定在甜液中糖上之作用及所收獲棉之黏性本質，自採拾機之籃中再採取額外的樣品，置於緊密並包覆之塑膠桶中 (ZIPLOC^R袋)，將之置環境溫度下 (約 $85 - 105^{\circ}\text{F}$) 培育 2 天，之後籽棉自塑膠袋中移出並於熱的，無水空間中乾燥 (無空調的溫室，具溫度範圍為約 $115 - 160^{\circ}\text{F}$ ，且濕度十分低)，直到為恆重為止。樣品再以實驗室規模的小的棉軋棉機軋壓，並取 10 克線頭 (即棉纖維) 以 H P L C 分析糖。其餘的線頭送至實驗室 (Dr. Henry H. PERKINS, Jr. in Clemson, S. C.) 以分析還原糖及黏度，利用 Minicard 試驗分析。後一試驗如在美國所應用的，具有 0 至 3 之等級，0 代表無黏性之棉，且 3 表示最黏的棉。應用果膠酶酵素組成物可使黏性等級由在析應用時之 2.75 ± 0.29 (平均值 $\pm$ S E M) 減至 0.5 ± 0.29 等級。當噴灑至輸送管，黏度降至 0.25 ± 0.00 之 Minicard 等級，且當噴灑二處時，黏度等級為 0.00 ± 0.00 。這些結果綜合於表 2 中。

於表 2 及圖說明之實驗中以未經噴灑的棉為對照組，其反映在複品之相對水含量上 (表 2)。

五、發明說明 (18)

表 2

處 理	Minicard 等 級	糖 百 分 率	水 汽 百 分 率
檢 查	2.75 ± 0.29	0.76 ± 0.06	0.15 ± 0.07
得 自 析	0.50 ± 0.29	1.1 ± 0.11	5.60 ± 0.08
得 自 輸 送 管	0.25 ± 0.00	0.87 ± 0.02	12.65 ± 0.03
析 + 輸 送 管	0.00 ± 0.00	0.57 ± 0.01	12.43 ± 0.33

數據為 4 次重覆樣品之平均值 ± S . E 。挑出處理之經標記檢查，並不加酵素，其他處理則在收獲時以溶液噴灑，此溶液含有 2 % (v / v) 酵素製劑，0 . 2 5 % (v / v) 界面活性劑，於醋酸之弱溶液中 (p H 約 4 . 5) 。

實例 5轉葡萄糖苷酶酵素組成物之野地應用

轉葡萄糖苷酶 L - 1 0 0 0 ，得自 SOLVAY ENZYMES, INC, (Elkhart, IN) ，呈液體狀而於使用前才用水稀釋至 0 . 2 5 至 1 % (v / v) 各濃度，此稀釋之水含有 0 . 2 5 % (v / v) Triton X-100 (UNION CARBIDE) ，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (19)

其 pH 值並以充份的醋酸降至 4 . 5 。此混合物應用於為棉粉虱甜液的沾污之棉上，係在其收穫時以噴嘴噴灑，如此回收之籽棉可為此溶液沾濕。已知棉採拾機之速度，可調整噴灑線上之壓力，使每英畝的棉有約 3 0 加侖 (U S) 的此混合物。進行這些試驗的野地產率為每英畝有約 1 , 6 0 0 至 3 , 4 0 0 磅籽棉。

在此實驗中採用機型為 4 2 2 及 7 8 2 之國際收穫機。I H 4 2 2 機型有一個小的 (1 4 U S 加侖) 的塑膠桶、壓力調控器、球型流動閥，及在靠近傳動輪處架上之濾器以保持住酵素溶液。由此桶中，混合物可在各種壓力下 (約 4 0 p s i) 泵送至噴嘴，以產生欲求之應用速率。I H 7 8 2 機型使用採拾機之水供應槽 (約 5 0 U S 加侖) 為噴灑之水源。在二種採拾機中，噴灑之噴嘴置在桁上，其再架於 (金屬支持結構) 採拾機頭部前方，如此棉在進入採拾機之前 (桁處理) 可以細小霧水噴灑。用來試驗轉葡萄糖苷酶 L - 1 0 0 0 製劑的另一應用方法，是經由齊平面架上之噴嘴噴灑在已收穫之棉上，此直接可通至輸送管，其可將已收穫之籽棉由採拾機頭部傳送至位於拾機上方傳動輪後方之貯存倉 (稱為籃) 之中。

噴灑後，重覆樣品立即自採拾機籃中移出，並置入不透氣容器中 (雙重的唇封四分之一加侖之漆罐) 以決定所施用之水汽 (且由是可決定所加入之有效酵素，因假設酵素在潮濕狀況下才有效) 。這些樣品再稱重，於氣動力之 1 0 5 ° C 烘箱中乾燥一夜 (至少 8 小時) ，移出，再冷卻

五、發明說明(20)

於大的充滿乾燥劑之金屬盒中，且再稱重以決定其水汽含量。此水百分率估計以 A S T M 試驗方法進行，利用濕重為分母。未處理的樣品另外取樣，且以等量水加上醋酸及三通 X - 1 0 0 噴灑者也取樣，並決定噴灑添加之效力。

為決定轉葡萄糖苷酶對甜液中糖之作用，及所收穫棉之黏性本質，自採拾機之籃中再採拾額外的樣品，置於緊密包覆之金屬桶中，其可在環境溫度下（約 8 5 - 1 0 5 °F）培育各種時間，由 2 4 小時至 5 週，之後籽棉自金屬桶中移出並於熱的，無水空間中乾燥（無空調之溫室，且溫度範圍為約 1 1 5 - 1 0 6 °F，且濕度十分低），直到恆重為止。樣品再以實驗室規模的小的軋棉機軋壓，並取 1 0 克線頭（即棉纖維）以 H P L C 分析糖。其餘的線頭送至實驗室（Dr. Henry H. PERKINS, Jr., USDA-ARS, Clemson, S. C.）以分析還原糖及黏度，利用 Minicard 試驗及 Thermodetector 試驗。注意到 Minicard 試驗，如美國中應用的有 0 至 3 之等級，其中 0 代表無黏性棉，且 3 為最黏著，且 Thermodetector 試驗有約 1 0 倍更高之等級（即，3 . 0 之 Minicard 等級極接近 3 0 Thermodetector 等級）。雖然這些試驗得相當的結果，然而後者多少快些可以極黏樣品供應，且如此以致在 1 9 9 3 之手冊中大部份用來評估黏度。

額外的籽棉批次可在野地經轉葡萄糖苷酶 L - 1 0 0 0 溶液，或等量的含醋酸及三通 X - 1 0 0 之水，以和酵素溶液相同速率下噴後處理成棉“單位”。這些單位貯於環

五、發明說明 (21)

境溫度下 (約 70 - 105 °F) 約 1 週，再行商品化軋壓以移去籽。樣品在這些商品化單位製備中，軋製前及移去籽後在軋棉機中之線頭側取樣。這些樣品之黏度，在軋製中為 21.67 ± 1.20 (平均 $\pm$ S E M)，是自單位中移出之單以水處理之樣品，一其並在實驗室規模之軋棉機中軋製； 0.00 ± 0.00 為經轉葡萄糖苷酶 L - 1000 處理之籽棉； 4.10 ± 0.79 為以水處理自軋棉機線頭側取出之籽棉 (於籽移去後立即取出) ；及 0.25 ± 0.16 為轉葡萄糖苷酶 L - 1000 處理且取自線頭側之籽棉。

很明顯的，只要不破壞本發明精神可進行許多變化。因此，精藝者應明白，在所附申請專利範圍之內，本發明可在此中所將示之外實行。

參考文獻

- 1 - BATES, R. B., D. N. BYRNE, V. V. KANE, W. B. MILLER and S. R. TAYLOR, Carbohydrate Res. (201), 342-345(1990).
- 2- HEUER B., Z. PLANT, Text. Res. J. 55(5), 263-6(1985).
- 3-TARCZYNSKI, N. C., Dn. N. BYRNE, and W. B. MILLER, Plant Physicol. 98 753-756(1992).
- 4-MILNERA, S. M., S. SISMAN., Melliancl Textilber., 70(11) E348-E349(1989)。

五、發明說明 (22)

5-PERKINS, H. H., Jr., Text Res. J., 53(8) 508-12(1983).

6-GRAY, A., N. C. NORTH, and A. N. WRIGHT.,
Cotton Fibers Trop. 40(2) 105-11(1985).

7-BRUNO, G. P., Industrial Cottonier 35 227-230 (1982).

8-HENDRIX, D. L., Y. WIS., Proceedings of the
Beltwide Cotton Production Conference, 2 671-673
(1992).

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍

附件二 A

第 83103758 號專利申請案

中文申請專利範圍修正本

民國 85 年 3 月呈

1. 一種可減少經沾污之黏性棉之黏度的酵素組成物，其中含有至少一種來自曲霉屬之真菌的酵素，其可水解經沾污的黏性棉中至少一種甜液糖，且提供其黏性之減低作用。

2. 如申請專利範圍第 1 項之酵素組成物，其中的真菌來源是黑曲霉之真菌。

3. 如申請專利範圍第 1 項之酵素組成物，其中的酵素包括轉葡萄糖苷酶。

4. 根據如申請專利範圍第 1 項之酵素組成物，其中的酵素包括果膠酶。

5. 一種能水解經沾污之黏性棉上至少一種甜液糖之酵素，其可用於製成酵素組成物以減少經沾污之黏性棉之黏性，其中該酵素係來自曲霉屬之真菌。

6. 如申請專利範圍第 5 項之酵素，其中真菌來源是黑曲霉之真菌。

7. 如申請專利範圍第 5 項之酵素，其為轉葡萄糖苷酶。

8. 如申請專利範圍第 5 項之酵素，其為果膠酶。

9. 一種處理其上有甜液之棉纖維之方法，此方法包

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

六、申請專利範圍

括將該棉纖維與酵素組成物接觸，後者包括有至少一種可水解經沾污之黏性棉上至少一種甜液糖之酵素，由是甜液可至少被部份水解，且減少在沾污棉上之甜液。

1 0 . 如申請專利範圍第 9 項之方法，其中酵素包括衍生物自真菌來源之酵素。

1 1 . 如申請專利範圍第 1 0 項之方法，其中真菌來源是曲霉屬之真菌。

1 2 . 如申請專利範圍第 1 1 項之方法，其中真菌來源是黑曲霉屬之真菌。

1 3 . 如申請專利範圍第 9 項之方法，其中酵素包括轉葡萄糖苷酶。

1 4 . 如申請專利範圍第 9 項之方法，其中酵素包括果膠酶。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

訂