

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
D06P 3/02 C11D 3/386

[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 95195210.2

[45] 授权公告日 2002 年 10 月 9 日

[11] 授权公告号 CN 1092267C

[22] 申请日 1995.10.18 [21] 申请号 95195210.2

[30] 优先权

[32] 1994.10.20 [33] DK [31] 1217/94

[86] 国际申请 PCT/DK95/00417 1995.10.18

[87] 国际公布 W096/12845 英 1996.5.2

[85] 进入国家阶段日期 1997.3.21

[73] 专利权人 诺沃奇梅兹有限公司

地址 丹麦巴格司瓦德

[72] 发明人 A·H·普德森 J·V·凯鲁夫

[56] 参考文献

W09105839 1991.2.5 _

审查员 高德洪

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

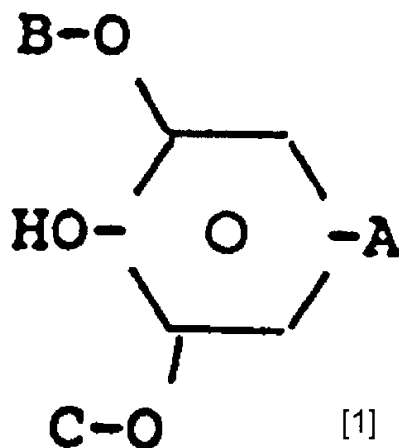
代理人 李 瑛

权利要求书 2 页 说明书 14 页 附图 0 页

[54] 发明名称 为染色织物表面的色密度提供漂白外观
的方法

[57] 摘要

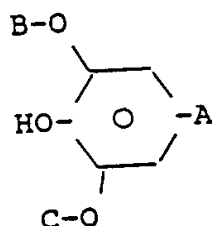
本发明涉及为染色织物表面、特别是诸如粗斜纹棉布的纤维素织物表面的色密度提供漂白外观的方法,该方法包括使用过氧化物酶或漆酶之类的酚氧化酶、过氧化氢源和以式(I)代表的增强剂。



ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 一种为染色织物表面的色密度提供漂白外观的方法，该方法包括在水介质中同时或者单独地使染色织物与酚氧化酶体系，其中酚氧化酶浓度相当于每克粗斜纹棉布 $0.001 - 10000 \mu\text{g}$ 酶蛋白质和下式的增强剂接触的步骤：



式中 A 是诸如 $-D$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-D$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-D$ 、 $-\text{CH}=\text{N}-D$ 、 $-\text{N}=\text{N}-D$ 或 $-\text{N}=\text{CH}-D$ 的基团，其中 D 选自 $-\text{CO}-E$ 、 $-\text{SO}_2-E$ 、 $-\text{N}-\text{XY}$ 和 $-\text{N}^+-\text{XYZ}$ ，其中 E 可以是 $-\text{H}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{R}$ 或 $-\text{OR}$ ，X 和 Y 和 Z 可以相同或不相同并选自 $-\text{H}$ 和 $-\text{R}$ ；R 是 C_{1-16} 烷基，优选 C_{1-8} 烷基，该烷基可以是饱和或不饱和的、支化或非支化链的，并可选择性地以羧基、碘基或氨基取代；B 和 C 可以相同或不相同并选自 $\text{C}_m\text{H}_{2m+1}$ ， $1 \leq m \leq 5$ ，其中水介质中增强剂的浓度为每克粗斜纹棉布 $0.005-1000 \mu\text{mol}$ 。

2. 权利要求 1 所述的方法，其中织物是用诸如靛蓝或硫靛蓝的瓮染料染色的。

3. 权利要求 1 或 2 所述的方法，其中织物是纤维素织物或纤维素纤维混合物或纤维素纤维与合成纤维的混合物。

4. 权利要求 1 所述的方法，其中织物是粗斜纹棉布，优选用靛蓝或硫靛蓝染色的粗斜纹棉布。

5. 权利要求 1 所述的方法，其中酚氧化酶体系是过氧化物酶和过氧化氢源。

6. 权利要求 5 所述的方法，其中过氧化物酶是辣根过氧化物酶、大豆过氧化物酶或衍生自鬼伞属，例如灰盖鬼伞或长根鬼伞；或者衍生自芽孢杆菌属，例如短小芽孢杆菌；或衍生自粘球菌属，例如变绿粘球菌的过氧化物酶。

7. 权利要求 5 或 6 所述的方法，其中过氧化氢源是过氧化氢或过氧化氢前体，例如过硼酸盐或过碳酸盐或产生过氧化氢的酶体系，例如氧化酶和其底物或过氧羧酸或其盐。

8. 权利要求 1 所述的方法，其中水介质含 H_2O_2 或浓度相当于 0.001-25mM H_2O_2 的 H_2O_2 前体。

9. 权利要求 1 所述的方法，其中酚氧化酶体系是漆酶或漆酶相关酶和氧。

10. 权利要求 9 所述的方法，其中漆酶衍生自栓菌属、例如 *Trametes villosa*；或鬼伞属，例如灰盖鬼伞；或毁丝霉属，例如 *M. thermophila*。

11. 权利要求 1 所述的方法，其中增强剂属于乙酰基丁香酮、丁香酸甲酯、丁香酸乙酯、丁香酸丙酯、丁香酸丁酯、丁香酸己酯和丁香酸辛酯。

为染色织物表面的色密度提供漂白外观的方法

发明领域

本发明涉及为染色的织物表面，特别是诸如粗斜纹布之类的纤维素织物表面的色密度提供漂白外观的方法。

背景技术

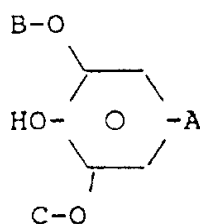
在粗斜纹布或工装衣着上提供漂白的石洗外观最常用的方法是在浮石存在下洗涤粗斜纹布或由这种织物制成的工装衣着，以提供织物颜色所需的局部增亮。洗涤后再经一漂白的过程，即在 60℃ 和 pH11-12 条件下用次氯酸钠处理织物达 20 分钟，然后中和并清洗。使用次氯酸盐是不理想的，因为次氯酸盐本身不理想，而且中和的结果产生了大量的盐，造成了盐的处置和污染的问题。

用作漂白染色纺织品的诸如过氧化物酶与过氧化氢或氧化酶与氧之类的漂白酶，不论是单独使用或与酚(诸如对羟基肉桂酸、2, 4-二氯苯酚、对羟基苯磺酸酯、香草醛或对羟基苯甲酸)一起使用，均已有人建议(参见 WO 92/18683)。由本发明的实施例 1 可见，该公开的方法的效率是不高的。

因此，仍然有必要给染色的织物提供漂白的外观。需要解决的问题是不容易的，因为许多染料，特别是靛蓝，它们不溶于水，并且在纤维表面有非常紧密的结构，使酶的攻击产生困难。

发明概述

现已惊人地发现，建立一个非常有效的方法以给染色织物表面的色密度提供漂白外观是可能的。该方法包括在水介质中使染色织物与酚氧化酶体系和下式的增强剂接触：



式中 A 是诸如 $-D$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-D$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-D$ 、 $-\text{CH}=\text{N}-D$ 、 $-\text{N}=\text{N}-D$ 或 $-\text{N}=\text{CH}-D$ 的基团，其中 D 选自 $-\text{CO}-E$ 、 $-\text{SO}_2-E$ 、 $-\text{N}-\text{XY}$ 和 $-\text{N}^+-\text{XYZ}$ ，其中的 E 可以是 $-\text{H}$ 、 $-\text{OH}-R$ 或 $-\text{OR}$ ，X、Y 和 Z 可以相同或不相同，并选自 $-\text{H}$ 和 $-\text{R}$ ；R 是 C_1-16 烷基，优选 C_1-8 烷基，该烷基可以是饱和的或非饱和的、支化的或非支化的，并可选择性地用羧基、磺基或氨基取代；B 和 C 可以相同或不相同并选自 $\text{C}_m\text{H}_{2m+1}$ ； $1 \leq m \leq 5$ 。

发明详述

染色的织物

本发明的方法最适合用于含纤维素的织物，诸如棉、粘胶、人造纤维、亚麻、Tencel 织物或它们的混合物，或任何这些纤维的混合物，或任何这些纤维与合成纤维的混合物，诸如棉和斯潘德克斯的混合物（弹性粗斜纹棉布）。特别适合的织物是粗斜纹棉布。本发明的方法也可应用于诸如丝之类的其它天然材料。

织物可以用瓮染料（诸如靛蓝）或靛蓝相关染料（诸如硫靛蓝）染色的。

在本发明方法的一最佳具体实施方案中，织物是用靛蓝染色的粗斜纹棉布，包括用它制作的服装衣着品等。

酚氧化酶体系

“酚氧化酶体系”一词之意是，使用过氧化氢或分子氧使体系中的酶能够氧化含酚基的有机化合物的体系。这种酶的实例是过氧化物酶和氧化酶。

如果酚氧化酶体系要求过氧化氢源，则过氧化氢源可以是过氧化氢或就地产生过氧化氢的过氧化氢前体，例如过碳酸盐或过硼酸盐；或是产生过氧化氢的酶体系，例如氧化酶和氧化酶底物或氨基酸氧化酶和适合的氨基酸，或过氧羧酸或其盐。过氧化氢可以例如以相当于 $0.001 - 25\text{mM H}_2\text{O}_2$ 的溶度在工艺开始时或在工艺之中加入。

如果酚氧化酶体系要求分子氧，则大气分子氧通常可以足量供给。

酚氧化酶体系中的酶可以是如下所述的呈现过氧化物酶活性的酶或漆酶或漆酶相关酶。

根据本发明，染色织物表面色密度发生局部变化的水介质中酚氧化酶的浓度可以是每克粗斜纹棉布 0.001 - 10000 μ g 酶蛋白质，优选每克粗斜纹棉布 0.1 - 1000 μ g 酶蛋白质，更优选每克粗斜纹棉布 1 - 100 μ g 酶蛋白质。

过氧化物酶和具有过氧化物酶活性的化合物

具有过氧化物酶活性的化合物可以是任何包括在酶分类 (EC1.11.1.7) 中的过氧化物酶或任由它们衍生的呈现过氧化物酶活性的片段，或是它们的合成或半合成衍生物 (例如卟啉环体系或微过氧化物酶，参见例如 US 4, 077, 768 , EP537, 381 , WO 91/05858 和 WO 92/16634) 。

本发明方法中采用的过氧化物酶最好是可由植物产生的 (例如辣根或大豆过氧化物酶) ，或是可由诸如真菌或细菌的微生物产生的。一些优选的真菌包括属于半知菌亚门丝孢纲的菌株，例如链孢属、腐质霉属、木霉属、漆斑菌属、轮枝孢属、 *Arthromyces* 、卡尔黑霉属、 *Ulocladium* 、 *Embellisia* 、枝孢属、或 *Dreschlera* ，特别是尖镰孢 (DSM 2672) 、溶菌霉素、 *Trichoderma reesei* 、鹿孢漆斑菌 (IFO 6113) 、黄萎轮枝孢、大丽花轮枝孢、 *Arthromyces ramosus* (FERM P - 7754) 、 *Caldariomyces fumago* 、 *Ulocladium chartarum* 、 *Embellisia alli* 或 *Dreschlera halodes* 。

其它优选的真菌包括属于担子菌亚门担子菌纲的菌株，例如鬼伞属、 *phanerochaete* 、革盖菌属或栓菌属的菌株，特别是 *Coprinus cinereus* f. *microsporus* (IFO 8371) 、长根鬼伞、 *phanerochaete* 、 *chrysosporium* (例如 NA - 12) 或栓菌属 (前称多孔菌属) ，例如 *T.versicolor* (例如 PR4 28 - A) 。

进一步优选的真菌包括属于结合菌亚门 *Mycoraceae* 纲的菌株，例如根霉属或毛霉属，特别是冻土毛霉。

一些优选的细菌包括放线菌目的菌株，例如浑球链霉菌 (ATTC

23965)、热紫链霉菌 (IFO 12382) 或 *Streptoverticillium verticillium* ssp. *Verticillium*。

其它优选的细菌包括短小芽孢杆菌 (ATCC 12905)、嗜热脂肪芽孢杆菌、*Rhodobacter sphaeroides*、*Rhodomonas palustri*、乳链球菌、*Pseudomonas purrocinia* (ATCC 15158) 或荧光假单胞菌 (NRRL B - 11)。

进一步优选的细菌包括属于粘球菌属的菌株, 例如变绿粘球菌。

过氧化物酶还可以是用下述方法生产的酶, 该方法包括在培养基中, 在使过氧化物酶得以表达的条件下, 培养用带有编码所说过氧化物酶的 DNA 序列和使编码过氧化物酶的 DNA 序列得以表达的编码功能 DNA 序列的重组 DNA 载体转化的宿主细胞, 并从培养液中回收过氧化物酶。

特别是, 重组生产的过氧化物酶是 WO 92/16634 中衍生自鬼伞菌种, 特别是长根鬼伞或灰盖鬼伞的过氧化物酶或其变种, 例如 WO 94/12621 中所述的变种。

在本发明中, 起过氧化物酶作用的化合物包括衍生自细胞色素、血红蛋白或过氧化物酶的过氧化物酶活性片段以及其合成的或半合成的化合物, 例如铁卟吩、铁卟啉、铁酞菁和其衍生物。

过氧化物酶的活性测定: 1 过氧化物酶单位 (PODU) 是在 0.88mM 过氧化氢、1.67mM 2,2'-连氮基双 (3-乙苯并噻唑啉-6-磷酸酯)、0.1M 磷酸盐缓冲液 (pH7)、培养温度为 30℃、光度分析波长 418nm 的条件下, 每分钟催化 1 μ mol 过氧化氢转化的酶量。

漆酶和漆酶相关酶

在本发明中, 漆酶和漆酶相关酶涉及任何包括在酶分类 (EC 1.10.3.2) 中的漆酶, 包括在酶分类 (EC 1.10.3.1) 中的任何 Chatechol 氧化酶, 包括在酶分类 (EC 1.3.3.5) 中的任何胆红素氧化酶或包括在酶分类 (EC 1.14.99.1) 中的任何一元酚单氧化酶。

微生物源和植物源的漆酶是已知的。微生物源的漆酶可衍生自细菌或真菌 (包括丝状真菌和酵母), 适合的例子包括衍生自曲霉属、脉孢菌属 (例如粗糙脉孢菌)、柄孢壳属、葡萄孢属、金线菌属、层孔菌属、

香菇属、侧耳属、栓菌属（前称多孔菌属）（例如 *T.viollosa* 和变色多孔菌）、丝核菌属（例如立粘丝核菌）、鬼伞属（例如褶皱鬼伞属和灰盖鬼伞属）、小脆柄菇属、毁丝霉属（例如 *M.thermophila*）、*Schytalidium*、射脉攻属（例如射脉菌（WO 92/01046））或革盖菌属（例如毛革盖菌（JP 2 - 238885））的漆酶。

漆酶或漆酶相关酶还可以是用下述方法生产的酶，该方法包括在培养基中，在使漆酶得以表达的条件下，培养带有编码所说漆酶的 DNA 序列和使编码漆酶的 DNA 序列得以表达的编码功能 DNA 序列的重组 DNA 载体转化的宿主细胞，并从培养液中回收漆酶。

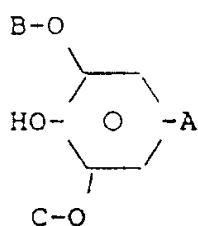
漆酶活性（LACU）的测定

漆酶活性是在需氧条件下自丁香醛连氮的氧化测定的。产生的紫色用 530nm 波长进行光度测定。分析条件是：19 μ M 丁香醛连氮，23.2mM 乙酸盐缓冲液（pH 5.5），30℃，反应时间 1 分钟。

1 漆酶单位（LACU）是在上述条件下每分钟催化 1.0 μ mol 丁香醛连氮转化的酶量。

增强剂

在本发明中使用的增强剂可用下面的化学式描述：



式中 A 是诸如 -D、-CH=CH-D、-CH=CH-CH=CH-D、-CH=N-D、-N=N-D 或 -N=CH-D 的基团，其中 D 选自 -CO-E、-SO₂-E、-N-XY 和 -N⁺-XYZ，其中的 E 可以是 -H、-OH-R 或 -OR，X、Y 和 Z 可以相同或不相同，并选自 -H 和 -R；R 是 C₁₋₁₆ 烷基，优选 C₁₋₈ 烷基，该烷基可以是饱和的或非饱和的、支化的或非支化的，并可选择性地用羧基、磺基或氨基取代；B 和 C 可以相同或不相同并选自 C_mH_{2m+1}；1≤m≤5。

在一最佳具体实施方案中，上述化学式中的 A 是 -CO-E，其中 E 可以是 -H、-OH、-R 或 -OR；R 是 C₁₋₁₆ 烷基，优选 C₁₋₈

烷基，该烷基可以是饱和的或非饱和的，支化的或非支化的，并可选择性地用羧基、磺基或氨基取代；B 和 C 可以是相同或不相同的并选自 C_mH_{2m+1} ； $1 \leq m \leq 5$ 。

在上述化学式中，A 可以处于羟基的间位，而不是如所示的对位。

在特定的具体实施方案中，增强剂是乙酰丁香酮、甲基丁香酸酯、乙基丁香酸酯、丙基丁香酸酯、丁基丁香酸酯、己基丁香酸酯或辛基丁香酸酯。

本发明的增强剂浓度可为每克粗斜纹棉布 $0.005 - 1000 \mu\text{mole}$ ，优选 $0.05 - 500 \mu\text{mole}$ ，更优选 $0.5 - 100 \mu\text{mole}$ 。

增强剂的基团稳定性

如不被任何理论所限制，现考虑认为，在有关水介质中增强剂所形成的基团的半衰期与其和酚氧化酶体系一起对染色织物表面色密度提供的漂白外观的效率之间存在着正的相互关系，而且此半衰期远长于选自下列任何物质的半衰期：对羟基肉桂酸，2，4-二氯苯酚，对羟基苯磺酸酯，香草醛和对羟基苯甲酸（即 WO 92/18683 中公开的增强剂）。

因此，本发明进一步涉及给织物表面的色密度提供漂白外观的方法，该方法包括在水介质中使染色织物与酚氧化酶体系和增强剂接触，其中所说的增强剂在所说水介质中能形成一基团，其半衰期比选自对羟基肉桂酸、2，4-二氯苯酚、对羟基苯磺酸酯、香草醛和对羟基苯甲酸的任何物质的基团在相同的水介质中试验的半衰期至少长 10 倍，特别是其中所说的增强剂在所说的水介质中能形成一基团，其半衰期比选自对羟基肉桂酸、2，4-二氯苯酚、对羟基苯磺酸酯、香草醛和对羟基苯甲酸的任何物质的基团在相同水介质中试验的半衰期至少长 100 倍。

基团的半衰期还取决于水介质的 pH、温度和缓冲剂。当比较各种增强剂的基团半衰期时，所有这些因素应是相同的，这是很重要的。

工业应用

本发明的方法一般是使织物成为有漂白外观的在工业机器中使用的。在正常情况下，本发明方法是在已石洗后的织物上进行的，但也可用于事先没有经过石洗工艺的织物。最常用的方法是按照生产厂家的说明根据机器的容量将织物投入机器。织物可在加水之前投入或在加水之

后投入。酚氧化酶体系和本发明的增强剂可在投入织物以前加入或在织物已经湿润后加入。酚氧化酶体系可与增强剂同时加入或者分别加入。在织物已与酚氧化酶体系和本发明的增强剂接触以后，应当在机器中搅拌足够长的时间，以保证织物完全湿润，并保证酶体系和增强剂的作用。

吸收的有机卤素 (AOX)

当本发明方法用于与常规次氯酸盐为基础的方法相比较时，作为无氯漂白方法的结果，预料 AOX 是相当低的。

强度损失

本发明的酶/增强剂漂白方法得的是非常专一的对靛蓝的攻击，因此被认为该方法对棉无损害，特别是没有强度损失。

本发明现以下面的实施例做进一步说明，但无论如何不意味着是对本发明所要求保护的范围的限制。

实施例 1

粗斜纹棉布漂白试验步骤的进行如下所述：

增强剂：甲基丁香酸酯得自 Lancaster 公司；乙酰基丁香酮、对羟基苯甲酸、对羟基苯磺酸酯、2, 4-二氯苯酚、香草醛和对羟基肉桂酸得自 Aldrich 公司。

酶：使用衍生自 *Trametes viollose* 的漆酶 (SP 504, 由 Novo Nordisk A/S 提供)。

步骤：在 50ml 锥形瓶中加入 18ml 0.01M B&R (Britt & Robinson) 缓冲液 (pH 4, 6 或 8)。在瓶中加入一磁性棒 (4cm) 和一块圆的石洗粗斜纹棉布 (3.5cm 直径 ~ 0.4g)，并一起加入 1ml 要试验的增强剂储备液和 1ml 酶，得到的粗斜纹棉布/液体比 (W/W) 为 1:50，增强剂和酶的最终浓度示于下表 1 - 5 中。

将烧瓶在水浴上用磁性搅拌器搅拌 (50 °C 和约 200rpm) 保温 3 小时。在用酶漂白后，粗斜纹棉布样片用蒸馏水清洗，然后空气干燥，此后进行漂白程度评价。评价使用 Minolta 色度计 CR200，用视觉进行。

评价：使用 Minolta (美能达) 色度计 CR200 (得自 Minolta 公司)，按制造厂商的说明评价漂白程度，并用色空间座标值 $L^*a^*b^*$ (CIELAB (国际照明委员会色差测标) 系统) 的改变估计任何的褪色： L^* 给出从

0 至 100 等级的白/黑改变； a 给出绿 ($-a^*$) / 红 ($+a^*$) 的改变； b 给出蓝 ($-b^*$) / 黄 ($+b^*$) 的改变。 L^* 降低即黑色增加 (白色减少)， L^* 增加即白色增加 (黑色减少)； a^* 降低即绿色增加 (红色减少)， a^* 增加即红色增加 (绿色减少)； b^* 降低即蓝色增加 (黄色减少)， b^* 增加即黄色增加 (蓝色减少)。

将漂白石洗粗斜纹棉布样片与未处理的石洗样片进行比较。

美能达色度计是在 $L^*a^*b^*$ 座标系下进行操作的。光源使用 CIE (国际照明委员会) 光标准 C。每一测定值是三次测定的平均值。仪器的校准是用美能达校正板 (白色)。测定 10 个未处理的粗斜纹棉布样片，每个测定 2 次，计算座标 $L^*a^*b^*$ 的平均值并输入作为参比，然后以座标 $L^*a^*b^*$ 的参比值与每个样片 3 次测定的平均值之差 (Δ) 计算样品的座标值。

表 1

表 1 说明在 pH4 用试验体系 (不同浓度的漆酶和 1000 μ M 乙酰基丁香酮 - 每克粗斜纹棉布 50 μ mole) 处理的样片与未处理样片之间的 Δ ($L^*/a^*/b^*$)

	0 μ M (0 μ mole/g)	10 μ M (0.5 μ mole/g)	100 μ M (5 μ mole/g)	1000 μ M (50 μ mole/g)
0 LACU/ml				2.9/-0.5/0.4
0.1 LACU/ml(78 μ g/g)				
1 LACU/ml(780 μ g/g)				5.8/-1.1/2.0
5 LACU/ml(3900 μ g/g)				6.3/-1.3/2.4

表 2

表 2 说明在 pH6 用试验体系（不同浓度的漆酶和乙酰基丁香酮）处理的样片与未处理样片之间的 Δ （ $L^*/a^*/b^*$ ）

	0 μ M (0 μ mole/g)	10 μ M (0.5 μ mole/g)	100 μ M (5 μ mole/g)	1000 μ M (50 μ mole/g)
0 LACU/ml				2.9/-0.5/-0.3 0.5/0.1/0.0
0.1 LACU/ml(78 μ g/g)		0.3/0.3/0.1	7.0/-1.0/1.7	11.7/-2.3/4.0
1 LACU/ml(780 μ g/g)		0.5/0.2/0.2	7.8/-1.0/1.7	15.3/-2.7/5.5 16.0/-2.7/5.9
5 LACU/ml(3900 μ g/g)				19.2/-3.4/6.5

表 3

表 3 说明在 pH8 用试验体系（不同浓度的漆酶和乙酰基丁香酮）处理的样片与未处理样片之间的 Δ （ $L^*/a^*/b^*$ ）

	0 μ M	10 μ M (0.5 μ mole/g)	100 μ M (5 μ mole/g)	1000 μ M (50 μ mole/g)
0 LACU/ml				1.7/0.0/0.5
0.1 LACU/ml(78 μ g/g)		0.1/0.3/-0.3	-0.5/0.4/-0.3	2.2/0.0/0.4
1 LACU/ml(780 μ g/g)		-1.0/0.5/0.3	4.1/-0.6/2.2	4.1/-0.6/2.2
5 LACU/ml(3900 μ g/g)				

表 4

表 4 说明在 pH4、6 和 8 用 1000 μ M 甲基丁香酸酯(~ 50 μ mole/g) 和漆酶 (1.0LACU/ml ~ 780 μ g/g) 处理的样片与未处理样片之间的 Δ ($L^*/a^*/b^*$)

	pH4	pH6	pH8
甲基丁香酸酯: (1000 μ M~50 μ mole/g) 漆酶: (1.0LACU/ml~780 μ g/g)	8.2/-1.3/1.6	22.2/-3.2/6.6	4.5/-0.8/0.5

表 5

表 5 说明在 pH4、6 和 8 用 WO 92/18683 中所述的增强剂 + 漆酶 (0.1 - 1.0 LACU/ml , 相应于 78 μ g 酶蛋白质/克粗斜纹棉布 - 780 μ g 酶蛋白质/克粗斜纹棉布) 处理的样片与未处理样片之间的 Δ ($L^*/a^*/b^*$)

试验体系	pH4	pH6	pH8
对羟基苯甲酸: (1000 μ M~50 μ mole/g) 漆酶: (0.1 LACU/ml 78 μ g/g)	0.85/ - 0.09/ 0.61	0.91/ -0.19/ -0.14	-0.21/ 0.24/ -0.17
对羟基苯磺酸酯: (1000 μ M~50 μ mole/g) 漆酶: (0.1 LACU/ml 78 μ g/g)	-0.18/ 0.14/ -0.12	0.33/ 0.06/ -0.22	-0.51/ 0.17/ -0.20
2, 4 - 二氯苯酚: (1000 μ M~50 μ mole/g) 漆酶: (0.1 LACU/ml 78 μ g/g)	0.64/ -0.22/ 0.5	-0.19/ -0.19/ 0.57	-0.54/ 0.16/ -0.14
香草醛:			

(1000 μ M~50 μ mole/g)	-0.67/	0.28/	-0.38/
漆酶:	-0.34/	-0.03/	-0.05/
(0.1 LACU/ml 78 μ g/g)	1.41	0.49	0.75
对羟基肉桂酸:			
(1000 μ M~50 μ mole/g)	0.64/	4.47/	2.97/
漆酶:	-0.53/	-0.63/	-0.45/
(0.1 LACU/ml 780 μ g/g)	1.62	3.88	0.79

从表 5 的结果可见，现有技术中所述的增强剂在漂白粗斜纹棉布上均没有任何显著的效果。

实施例 2

在不同缓冲液中的性能比较

在下列三种缓冲液中使用丁香酸甲酯 (MS) 进行粗斜纹棉布漂白的比较三磷酸盐；草酸盐；醋酸盐。由 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (用硫酸调节 pH)、 $\text{Na}_2(\text{CO}_3)_2$ (用硫酸调节 pH)、 $\text{Na-CO}_2\text{CH}_3 \times 3\text{H}_2\text{O}$ (用硫酸调节 pH) 分别制备，均为 0.01M。分别制备 pH4.0、5.0、6.0 和 7.0 的各种缓冲液。

分别将 300ml 的每一种缓冲液和重量约 12g 的一块石洗粗斜纹棉布 (粗斜纹棉布/液体比 = 1:25) 加入 - 1200ml (总容积) 的不锈钢烧杯中；在每一烧杯中加入 1ml 的 15g/l MS (得自 Lancaster) 于 96 % 乙醇中的储备液 (相当于 236 μ M 或 5.9 μ mole MS/g 粗斜纹棉布) 和 0.132 ml 的 114 LACU/ml 漆酶储备液 (相当于 0.05 LACU/ml 或 19.5 μ g 酶蛋白质/g 粗斜纹棉布)。漆酶衍生自 *Trametes villosa* (TVL), 由 Novo Nordisk A/S 提供 (SP 504)。

将烧杯盖好，置于 Atlas Lp2 耐流牢度试验仪中在 60℃ 下处理 30 分钟。处理后，在蒸馏水中漂洗粗斜纹棉布样片，然后空气干燥过夜，并测定漂白液的最终 pH。

干后，测定漂白的粗斜纹棉布的绝对 $L^*a^*b^*$ 座标值 (6 次的平均值) 和开始时材料的 $L^*a^*b^*$ 值，从而计算 $\Delta (L^*a^*b^*)$ 以测定粗斜纹棉布的漂白程度。得到的结果列于表 6。

	pH 开始	pH 结束	ΔL^*	Δa^*	Δb^*
0.01M 磷酸盐缓冲 液	4.0	5.2	4.56	-0.71	1.24
	5.0	5.3	6.11	-0.99	1.07
	6.0	6.1	7.42	-1.37	0.74
	7.0	7.0	0.16	0.04	0.20
0.01M 草酸盐缓冲 液	4.0	4.1	2.43	-0.28	0.44
	5.0	5.3	6.40	-1.06	1.11
	6.0	7.0	2.63	-0.38	0.81
	7.0	7.7	1.44	-0.20	0.56
0.01M 醋酸盐缓冲 液	4.0	4.0	1.32	-0.27	0.46
	5.0	5.0	4.96	-0.83	1.42
	6.0	6.4	6.66	-1.26	0.90
	7.0	7.4	0.89	0.00	0.39

从表 6 可见，除了各缓冲液的 pH 漂移（由于某些缓冲液在所研究的某些 pH 下的缓冲容量很差）产生的效果外，对选择缓冲液的漂白过程没有较大影响。还可见到最佳 pH 范围是在 5.5 - 6.5 之间，这与实施例 1 表 4 中得到的结果是一致的。

实施例 3

改变丁香酸甲酯（MS）和漆酶浓度的效果研究

在 pH5.0 - 6.5 范围用 MS 和 0.01M 磷酸盐缓冲液（用 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 制备，以硫酸调节 pH）比较不同 MS 和漆酶剂量的粗斜纹棉布的漂白作用。

分别将 300ml 缓冲液和一块重约 12g 的石洗粗斜纹棉布（粗斜纹棉布和液体之比为 1:25）加入 1200ml（总容积）的不锈钢烧杯中。在每一烧杯中加入 1 或 2ml 15g/l MS（得自 Lancaster）于 96% 乙醇中的储备液（相当于 $236\mu\text{M} = 5.9\mu\text{mol MS/g}$ 粗斜纹棉布或 $472\mu\text{M} = 11.8\mu\text{mol MS/g}$ 粗斜纹棉布）和 0.132 或 0.264 ml 的 114 LACU/ml 漆酶储备液（相当于 $0.05 \text{ LACU/ml} = 19.5\mu\text{g 酶蛋白质/g}$ 粗斜纹棉布或 0.10 LACU/ml

= 39 μ g 酶蛋白质/g 粗斜纹棉布)。漆酶得自 Trametes villosa (TvL), 由 Novo Nordisk A/S (SP504) 提供。

将烧杯盖好, 置于 Atlas LP-2 耐洗牢度试验仪中在 60 $^{\circ}$ C 下处理 30 分钟。处理后, 在蒸馏水中漂洗粗斜纹棉布样片, 空气干燥过夜, 并测定漂白液最终 pH。

干后, 测定漂白粗斜纹棉布的绝对 $L^*a^*b^*$ 座标值 (6 次的平均) 和开始时材料的 $L^*a^*b^*$ 值, 从而计算 $\Delta (L^*a^*b^*)$ 以测定粗斜纹棉布的漂白程度。得到的结果列于表 7。

	pH 开始	pH 结束	ΔL^*	Δa^*	Δb^*
236 μ M MS=5.9 μ mole MS/g 粗斜纹棉布 0.05 LACU/ml=12.5 μ g 粗斜纹棉布/g 酶蛋白质	5.0	5.6	5.18	-0.88	1.10
	5.5	5.8	5.44	-1.03	0.94
	6.0	6.2	6.24	-1.13	0.78
	6.5	6.6	3.43	-0.67	0.52
47.2 μ M MS=11.8 μ mole MS/g 粗斜纹棉布 0.05 LACU/ml=12.5 μ g 粗斜纹棉布/g 酶蛋白质	5.0	5.7	6.76	-1.20	1.34
	5.5	5.9	6.93	-1.17	1.50
	6.0	6.1	6.92	-1.28	0.97
	6.5	6.6	6.14	-1.07	0.69
236 μ M MS=5.9 μ mole MS/g 粗斜纹棉布 0.1 LACU/ml=25 μ g 粗斜纹棉布/g 酶蛋白质	5.0	5.6	7.87	1.46	1.08
	5.5	5.8	7.56	-1.45	0.90
	6.0	6.1	6.89	-1.35	0.75
	6.5	6.5	6.15	-1.11	0.46
472 μ M MS=11.8 μ mole MS/g 粗斜纹棉布 0.1 LACU/ml=25 μ g 粗斜纹棉布/g 酶蛋白质	5.0	5.6	5.82	-0.96	1.13
	5.5	5.8	7.32	-1.37	1.12
	6.0	6.1	7.04	-1.34	0.83
	6.5	6.6	6.24	-1.07	0.71

从表 7 可见, MS 和漆酶任一种的浓度增加都提高了漂白作用。而且 pH 最佳值在 5.5 - 6.0 范围。

实施例 4

使用各种增强剂的粗斜纹棉布的漂白作用

增强剂: 增强剂得自 Lancaster (丁香酸甲酯) 和 Aldrich (乙酰基丁香酮), 或按 Chem. Ber. 67, 1934, p.67 所述方法进行合成。

酶: 使用漆酶, 得自 *Trametes Villosa* (TvL) (Sp 504, 由 Novo Nordisk A/S 提供。)

步骤:

在 50ml 的锥形烧瓶中加入 18ml 0.01M 13 & R (Britt & Robinson) 缓冲液, pH4.0、6.0 或 8.0。再往烧瓶中放入一磁性棒 (4cm)、一块圆的石洗粗斜纹棉布 (直径 3.5cm = 0.4g 粗斜纹棉布) 和 1ml 受试增强剂 (0.02M 于 96 % 乙醇) 储备液和 1ml 酶储备液 (20LACU/ml)。

所用的条件如下:

粗斜纹棉布/液体比 = 1:50; 1.0 LACU/ml=780 μ g 酶蛋白质/g 粗斜纹棉布; 1000 μ M ~ 50 μ mole 增强剂/g 粗斜纹棉布。

将烧瓶在水浴上以磁性搅拌器搅拌 (50 $^{\circ}$ C, 约 200rpm) 保温 3 小时。经用酶漂白后, 用水漂洗粗斜纹棉布样片, 并在 110 $^{\circ}$ C 的炉中干燥 15 分钟。此后, 评价漂白程度。评定方法按实施例 1 所述的步骤。

表 8

表 8 所示为用试验体系处理的样片与未处理样片之间的 Δ ($L^*a^*b^*$)。条件: 0.01M B&R 缓冲液, pH4.0、6.0 或 8.0, 粗斜纹棉布/液体比 = 1:50, 1.0 LACU/ml=780 μ g 酶蛋白质/g 粗斜纹棉布, 1000 μ M ~ 50 μ mole 增强剂/g 粗斜纹棉布。将烧瓶在水浴上以磁性搅拌器搅拌 (50 $^{\circ}$ C, 约 200rpm) 保温 3 小时。

增强剂	pH4.0	pH6.0	pH8.0
甲基丁香酸酯	3.9/-1.0/2.1	22.4/-4.3/5.7	2.0/-0.3/-0.0
乙基丁香酸酯	7.6/-1.5/2.9	19.1/-3.6/5.8	1.2/0.1/-0.0
丙基丁香酸酯	7.7/-1.7/3.2	20.9/-3.7/6.9	3.5/-0.4/1.2
丁基丁香酸酯	11.1/-2.7/4.7	18.5/-3.6/7.1	1.3/-0.2/0.7
己基丁香酸酯	9.3/-2.2/4.1	7.8/-1.9/3.1	0.3/0.1/0.5
辛基丁香酸酯	8.2/-1.7/4.0	4.5/-1.4/2.9	1.8/-0.3/0.7
乙酰基丁香酮	7.5/-1.8/4.5	17.9/-4.1/5.6	0.4/-0.2/1.1