

# Pamutszövetek enzimes előkészítése

K. Losonczy Anita

## 1. Bevezetés

Az előkészítés során el kell távolítani a pamut természetes, nem-cellulóz típusú kísérőanyagait, a viaszokat, zsírokat, pektint, fehérjéket, ásványi anyagokat, lignin tartalmú szennyeződések és színes szerves kísérőanyagokat. Sikeres előkészítés esetén a szövet egyenletesen és jól nedvesedik, ezt követően eredményesen fehéríthető, színezhető, és vegyszeresen kikészíthető. A bioelő-készítés a hagyományos eljárással szemben alacsonyabb hőmérsékleten és semlegeshez közeli pH-n, hidrolitikus enzimek segítségével távolítja el a pamut kísérőanyagait. Az enzimes kezelést követő öblítő lépések száma kevesebb, ezért a vízfelhasználás lényegesen kisebb, mint a hagyományos eljárás során. Az enzimek szubsztrát specifikusak, tehát kizárólag csak a kísérőanyagok degradációját katalizálják, és így a cellulóz degradációja minimális [1-5]. Az utóbbi évek kutatási eredményei azt bizonyítják, hogy a pamut enzimes előkészítése során a pektin degradációja a leglényegesebb folyamat. A pektin enzimes degradációja ugyanis elősegíti a pamut hidrofób karakteréért felelős viaszos anyagok eltávolítását a primer falból. Hátránya a folyamatnak, hogy a bioelőkészített szövetek fehérsége és a maghéjak eltávolítása nem megfelelő [6].

A BME Vegyészmérnöki Karán a kilencvenes évek közepétől foglalkoznak a cellulóz alapú szálanyagok bioelőkészítésével [7-10]. Doktori munkám ehhez a kutatáshoz kapcsolódik [11]. Írtelenített pamutszövet bioelőkészítését különböző, kereskedelmi forgalomban kapható enzim készítményekkel végeztem és vizsgáltam a nedvesedőképeség, a fehérség, a színegyenletesség és a tömegvesztés alakulását. Tanulmányoztam a kezelőfürdőhöz adagolt etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) komplexképző bioelőkészítésre gyakorolt hatását. Az EDTA szerepének felderítése érdekében részletesen vizsgáltam az 'EDTA-enzim' és 'EDTA-szubsztátum' kölcsönhatásokat. Különös figyelmet fordítottam a pamutmagháj degradációjának tanulmányozására. Fontosnak tartottam a bioelőkészített szövetek fehéríthetőségének és színezhetőségének jellemzését. A kapott eredményeket minden esetben a hagyományosan főzött szövet tulajdonságaival hasonlítottam össze.

## 2. Szubsztrátumok, kezelések és vizsgálati módszerek

A bioelőkészítés során szubsztrátumként nyers pamutszövetet és pamutmaghát használtam. Az EDTA pektin-degradációra gyakorolt hatását a pamutmagháj mellett nyers len szöveten is vizsgáltam. Kereskedelmi forgalomban kapható celluláz (Celluclast 1.5L) hemicelluláz-pektináz (Viscozyme 120L), pektináz (Bioprep 3000L) és xilanáz (Pulpzyme HC) enzimeket használtam. Az enzimes kezeléseket megelőzően az

enzimek aktivitását minden esetben nemzetközileg elfogadott módszerekkel határoztam meg.

Az enzimes kezelés során változtattam az enzim koncentrációt és a kezelési időt. A kezelési hőmérséklet minden enzimnél 50 °C volt. A kezeléseket az enzimek optimális működéséhez szükséges pH tartományban, puffer oldatokban végeztem. A komplexképző hatásának és szerepének tanulmányozására EDTA-t adagoltam a kezelőfürdőhöz. A bioelőkészítést követő színezés során heterobifunkciós reaktív színezéket alkalmaztam különböző koncentrációkban, kihúzatásos eljárásban.

Vizsgáltam a szubsztrátumok tömegvesztését, az enzimes kezelés során felszabaduló redukáló cukor mennyiségét és a szövetek nedvesedő képességét. A szövetek színét CIELab skálán mértem, és meghatároztam a színegyenletességet is. A szubsztrátumok fémion tartalmát atomabszorpciós spektroszkópiával (ICP-OES) követtem.

## 3. Eredmények, értékelés

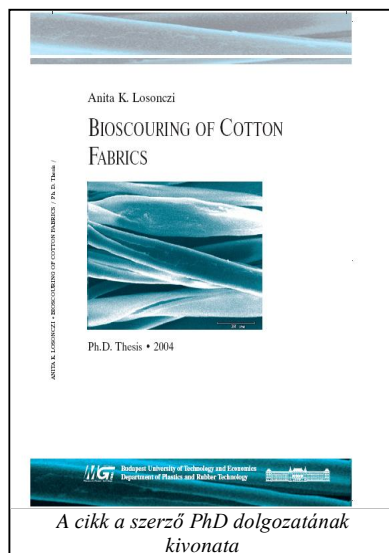
### 3.1. Nedvesedőképeség, fehérség, fehéríthetőség és színezhetőség [12]

A nyers pamutszövet hidrofób felülete pektináz enzimes kezelés hatására hidrofíllé, jól nedvesedővé válik. Pektináz enzimes kezeléseket nem-ionos nedvesítőszer jelenlétében homogén, a további kikészítési műveletek számára megfelelő nedvszívó képességű szövetet eredményeztek. Az enzimes kezelés után a szövetek nedvesedőképesége azonos a hagyományosan nátrium-hidroxiddal főzött szövetek nedvesedőképeségével. A nedvesedési idő minkét előkészítés esetén kisebb, mint 1 s.

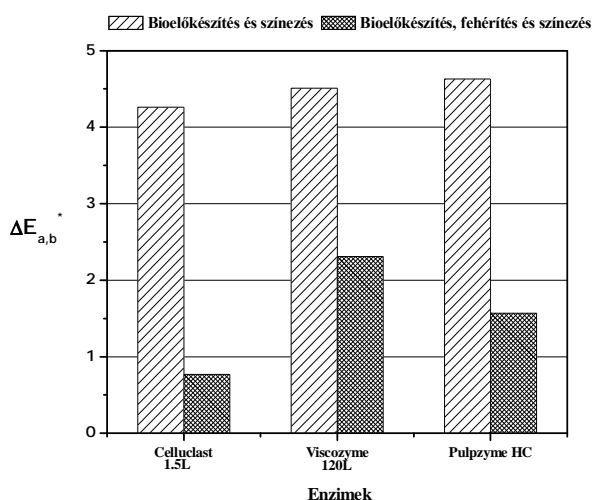
A hagyományos lúgos főzés jelentősen növeli a világosságot és csökkenti a színezetet, az írtelenített szövethez viszonyított  $\Delta E^*_{a,b}$  értéke 8,4. Az enzimes kezelés lényegesen kisebb színekülönbséget eredményez (0,4-1,1), amely a természetes színes szerves anyagok kisebb mértékű eltávolítására utal. A bioelőkészített szövetek fehérsége tehát elmarad a hagyományosan főzött szövet fehérségétől. Enyhe hidrogén-peroxidos fehérítés hatására a bioelőkészített és a hagyományosan főzött szövetek közötti színekülönbség viszont jelentősen csökken (fehérítés előtt  $\Delta E^*_{a,b} \approx 8,0$ , a fehérítés után pedig  $\Delta E^*_{a,b} \approx 2,0$ ).

A színezhetőség jellemzésére reaktív színezést alkalmaztam. Az első kísérletsorozatban a lúgos főzés, illetve a bioelőkészítés után közvetlenül – fehérítés nélkül – színeztem a szöveteket. A második kísérletben a lúgos főzést, illetve a bioelőkészítést fehérítés követte, majd a fehérített szöveteket színeztem. Az 1. ábra a 0,2 %-os színezés után mérhető színekülönbség értékeket mutatja a hagyományosan főzött és az enzimmel kezelt szövetek között. Fehérítés nélkül a színekülönbség lényegesen nagyobb, mint azoknál a szöveteknél, ahol az előkezelést fehérítés is követte.

A színezék koncentráció növelésével a színekülönbség minden szövetnél csökken. Például 2 % színezék-



koncentráció esetén, fehérités nélkül színezve a szöveteket a  $\Delta E_{a,b}$  értéke 2,3-2,9 között van, és szemmel nem érzékelhető a különbség a bioelőkészített és a hagyományosan főzött, majd közvetlenül (fehérités nélkül) színezett szövetek között. Ha a színezést hidrogén-peroxidos fehérités előzi meg, a  $\Delta E_{a,b}$  értéke 0,7-1,1 között van. Szemmel nem érzékelhető a különbség az enzimmel kezelt és hagyományosan főzött, színezett szövetek között. Valamennyi színezett szövet (megelőző fehéritéssel vagy anélkül) színe homogén. A



1. ábra. Színkülönbség a hagyományosan főzött és a bioelőkészített pamutszövetek között 0,2 %-os reaktív színezés után, az alkalmazott enzimektől függően

bioelőkezelés tehát homogén szövetet eredményez, amely további oxidatív fehérités nélkül is színezhető sötét színekre.

### 3.2. Bioelőkészítés EDTA jelenlétében. A komplexképző szerepének tisztázása [13, 15, 16, 17]

A pamut bioelőkészítése, valamint a len enzimes feltárása során egyaránt a pektin degradációja a leglényegesebb folyamat. A pektinben a makromolekulák kalcium-keresztkötésekkel kapcsolódnak össze, és ugyancsak kalcium-keresztkötések létesítenek kapcsolatot a pektin és más poliszacharidok között is. Következésképpen, a kalcium-ionok eltávolításával a pektin degradációja fokozható. Az enzimes lenfeltárás területén végzett kutatások azt bizonyítják, hogy az alkalmazott kelátképzők közül az etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) javította legjobban a feltárás minőségét [14]. Kísérleteim során ezért ezt a komplexképzőt alkalmaztam, és vizsgáltam a bioelőkészítésre és a pamutmaghéj degradációra gyakorolt hatását.

Az írtelenített pamutszövet bioelőkészítésének hatékonyságát jelentősen növeli az enzimdathoz adagolt komplexképző. Az EDTA fokozza a pamutmaghéj degradációját is. Az EDTA hatásának a magyarázatát keresve vizsgáltam az enzim-EDTA, enzim-szubsztrátum, EDTA-szubsztrátum, továbbá az enzim-EDTA-szubsztrátum kölcsönhatásokat. Mértem az enzimek (Viscozyme 120L, Pulpzyme HC) aktivitását EDTA jelenlétében és anélkül, továbbá vizsgáltam a kiválasztott szubsztrátumok (pamutmaghéj, lenszövet) nem-cellulóz

típusú összetevőinek enzimes degradációját EDTA jelenlétében és anélkül.

Az enzim-EDTA kölcsönhatást vizsgálva, az enzimekhez adagolt 0-8,6 mM/ml EDTA nem befolyásolja az enzimek fő aktivitását, mivel sem a Viscozyme 120L enzim pektináz aktivitása, sem a Pulpzyme HC enzim xilanáz aktivitása nem változott számottevő mértékben. Az EDTA tehát nem az enzim-oldalról segíti a bioelőkészítést.

A pamutmaghéj és a nyers lenszövet szubsztrátumok esetén az enzim-szubsztrátum, EDTA-szubsztrátum, valamint az enzim-EDTA-szubsztrátum kölcsönhatásokat vizsgálva következő kezeléseket alkalmaztam: kezelés EDTA-val, kezelés enzimmel, EDTA előkezelés után alkalmazott enzimes kezelés, továbbá enzimes kezelés EDTA jelenlétében. Mértem a tömegvesztiséget, a szubsztrátumok visszamaradó kalcium-ion tartalmát, valamint az enzimes kezelés során felszabaduló redukáló cukor mennyiségét (1. táblázat).

A tömegvesztiség a teljes degradáció mértékét jellemzi. Az enzimes kezelések után mért tömegvesztiség értékek megközelítőleg azonosak. A kalcium-ionok mennyisége viszont a savas közegben végzett pektináz enzimes kezelés hatására jelentősen, a semleges közegben aktív xilanáz Pulpzyme HC esetében pedig kisebb mértékben csökkent. Az EDTA-Pulpzyme HC két lépésű kezelés esetében az EDTA hatása nagyobb, mint az enzimhatás.

Az enzimes kezelő fürdőben mérhető redukáló cukor tartalom az enzim reakciót jellemzi. Az EDTA előkezelés jelentősen csökkentette az enzimes kezelés hidrolizáló hatását. Az EDTA a kétértékű kalcium-ionokat komplexálta, a kalcium-ionok által létesített keresztkötések megszűntek, és – feltételezésünk szerint – egy ideiglenesen nyílt szerkezet jött létre, amely a kezelést követően aztán "összeomlott", és ezáltal kevésbé hozzáférhetővé vált az enzim makromolekula számára.

1. táblázat. Pamutmaghéj degradációja. A tömegvesztiség és a visszamaradó kalcium-ion tartalom alakulása EDTA komplexképző és enzimek alkalmazása esetén.

Kezelések	Tömegvesztiség [%]	Kalcium-ion [ppm]	Redukáló cukor [mg/g szubsztrátum]
- (kezeletlen)	-	34900	-
EDTA <sup>a</sup>	10,6	18500	-
Viscozyme 120L <sup>b</sup>	14,8	17700	38
EDTA + Viscozyme 120L <sup>c</sup>	22,5	13200	13
Viscozyme 120L és EDTA <sup>d</sup>	21,5	11900	64
Pulpzyme HC <sup>b</sup>	14,1	31100	12
EDTA + Pulpzyme HC <sup>c</sup>	25,0	16000	9
Pulpzyme HC és EDTA <sup>d</sup>	22,2	16800	17

<sup>a</sup> Kezelés EDTA-val. <sup>b</sup> Enzimes kezelés. <sup>c</sup> EDTA előkezelés után alkalmazott enzimes kezelés. <sup>d</sup> Enzimes kezelés EDTA jelenlétében.

Ugyanakkor az enzim oldathoz adagolt EDTA jelentősen növelte a hidrolízis mértékét. A hemicellulózok-

ban található kalcium-keresztkötések megszüntetésével szabad és hozzáférhető helyek jöttek létre az enzim számára, ahol a jelenlévő enzim valószínűleg azonnal ki tudja fejteni katalitikus hatását. Az EDTA tehát jelentősen befolyásolja a pektináz és xilánáz enzimek hatékonyságát, mivel a pektin és a xilán polimerek egyaránt tartalmaznak kétértékű ionok által létrehozott kereszt-köteket. Ezek eltávolítása módosítja a polimer szerkezetét és befolyásolja az enzim hozzáférést a szubszt-rátumhoz.

A fenti elmélet igazolására len szöveten is elvégeztük az EDTA-s enzimes kezeléseket. A len tömegének csak 70 %-a cellulóz, magas a pektin és az egyéb, nem-cellulóz típusú kísérőanyag-tartalma. Az eredmények megerősítették a pamut előkészítése során levont következtetéseinket: az EDTA módosítja a szubszt-rátum szerkezetét a pektinben található kalcium-keresztkötések megszüntetése által és ezáltal befolyásolja az enzimes kezelések eredményességét.

#### 4. Összefoglalás

Doktori munkámban a textil biotechnológia egy nagyon ígéretes és érdekes területével, a pamut bioelőkészítésével foglalkoztam. A bioelőkészítés környezetbarát megoldást kínál a hagyományos lúgos főzéssel szemben. Jelentős, akár 50-70 %-os öblítővíz megtakarítás érhető el enzimes előkészítéskor. A bioelőkészített szövetek azonos módon fehéríthetők és színezhetők, mint a hagyományos technológiával előkészített szövetek.

A laboratóriumi munka során számos nyitott kérdésre választ találtam. Eredményeimet szakterületünk legnívósabb nemzetközi folyóirataiban, öt tudományos cikkben foglaltam össze. A doktori munka befejezését követően – egy alkalmazott kutatás-fejlesztés pályázat keretén belül – az enzimes előkészítés ipari megvalósítása is sikeresen megtörtént. 2006-ban a vállalat termékeinek több mint 50 %-át bioelőkészítéssel állította elő [18].

#### 5. Irodalomjegyzék

1. Buchert, J., Pere, J.: Scouring of Cotton with Pectinases, Proteases, and Lipases, *Textile Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter*, **32**(5) 48-52 (2000)
2. Durden, D. K., Etters, J. N., Sarkar, A. K., Henderson, L. A., Hill, J. E.: Advances in Commercial Biopreparation of Cotton with Alkaline Pectinase, *AATCC Review*, **8**, 28-31 (2001)
3. Lin, C-H., Hsieh, Y-L.: Direct Scouring of Greige Cotton Fabrics with Proteases, *Textile Res. J.*, **71**(5) 425-434 (2001)
4. Traore, M. K., Buschle-Diller, G.: Environmentally Friendly Scouring Processes, *Textile Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter*, **32**(12) 40-43 (2000)
5. Tzanov, T., Calafell, M., Guebitz, G. M., Cavaco-Paulo, A.: Bio-preparation of Cotton Fabrics, *Enzyme and Microbial Technology*, **29**, 357-362 (2001)
6. Nierstras, V. A., Warmoeskerken, M. M. C. G.: Process Engineering and Industrial Enzyme Applications. In *Textile processing with enzymes* (Eds. A. Cavaco-Paulo and G. M. Gübitz). Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England, pp. 129-131 (2003)
7. Csiszár, E., Szakács, Gy., Rusznák, I.: Combining Traditional Cotton Scouring with Cellulase Enzymatic Treatment, *Textile Res. J.*, **68**(3) 163-167 (1998)
8. Csiszár, E., Szakács, G., Rusznák, I.: Bioscouring of Cotton Fabrics with Cellulase Enzyme, In *Enzyme Applications for Fiber Processing*, (Eds. K. Eriksson, A. Cavaco-Paulo) ACS Symposium Series 687, Washington, D.C., pp 204-211 (1998)
9. Csiszár, E., Urbánszki, K., Szakács, G.: Biotreatment of desized cotton fabrics by commercial cellulase and xylanase enzymes, *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic* **11** 1065-1072 (2001)
10. Csiszár, E., Szakács, G., Koczka, B.: Biopreparation of Cotton Fabrics with Enzymes Produced by Solid-state Fermentation, *Enzyme and Microbial Technology*, **40** 1765-1771 (2007)
11. K. Losonczy, A.: Bioscouring of Cotton Fabrics, PhD Thesis, Budapest University of Technology and Economics, Department of Plastics and Rubber Technology, (2004)
12. Losonczy, A., Csiszár, E., Szakács, G., Kaarela, O.: Bleachability and Dyeing Properties of Biopretreated and Conventionally Scoured Cotton Fabrics, *Textile Res. J.*, **74**(6) 501-508 (2004)
13. Csiszár, E., Losonczy, A., Szakács, G., Rusznák, I., Bezúr, L., Reicher, J.: Enzymes and Chelating Agent in Cotton Pretreatment, *J. Biotechnol.*, **89**, 271-279 (2001)
14. Adamsen, A. P. S., Akin, D. E., Rigsby, L. L.: Chelating Agent and Enzyme Retting of Flax, *Textile Res. J.*, **72**(4) 296-302 (2002)
15. Losonczy, A., Csiszár, E., Szakács, Gy., Bezúr, L.: Role of EDTA Chelating Agent in Bioscouring of Cotton, *Textile Res. J.*, **75**(5) 411-417 (2005)
16. Csiszár, E., Losonczy, A., Szakács, G., Bezúr, L. and Kusztos, K.: Influence of EDTA Complexing Agent on Biopreparation of Linen Fabric. *Biocatalysis & Biotransformation*, **22**(5/6) 369-374 (2004)
17. Csiszár, E., Losonczy, A., Koczka, B., Szakács, G., Pomlényi, A.: Degradation of lignin-containing materials by xylanase in biopreparation of cotton, *Biotechnology Letters*, **28**(10) 749-753 (2006)
18. Csiszár, E.: Környezetbarát enzimes textiltechnológiák. A kutatási eredmények gyakorlati megvalósítása, *Magyar Textiltechnika*, **LIX**(6) 167-169 (2006)