



BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM

Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék
Műanyag- és Gumiipari Laboratórium

TEXTIL BIOTECHNOLÓGIA:
ENZIMEK HATÁSA A CELLULÓZ ALAPÚ SZÁLASANYAGOK
TULAJDONSÁGAIRA

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Írta: Koczkané Csiszár Emília

2018

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton mondok köszönetet vezetőimnek és kollégáimnak a Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék Műanyag- és Gumiipari Laboratóriumában, az elmúlt húsz évben nyújtott segítségükért és együttműködésükért. Köszönöm, hogy jó körülmények között és baráti támogatásukat érezve végezhettem a munkámat. Köszönöm Pukánszky Béla akadémikusnak, hogy folyamatosan figyelemmel kísérte és támogatta az oktató- és kutatómunkámat, és értékes tanácsaival, kritikai észrevételeivel és szigorú szakmai elvárásaival segítette azt.

Köszönöm társszerzőimnek a nyitottságot és rugalmasságot, hogy hajlandóak voltak az együttműködésre egy számukra ismeretlen területen, a szálanyagok és textíliák fantasztikus világában. Külön köszönöm Szakács Györgynek, a kémiai tudomány kandidátusának, az enzimes kezelések és a fermentációs kísérletek során nyújtott rendkívül értékes szakmai segítséget. Nagyon köszönöm Tóth Andrásnak, a kémiai tudomány kandidátusának, hogy megismertetett a plazmakezeléssel és segített a felületkémiai vizsgálatokban. Hálás vagyok kolléganőmnek, Fekete Erika tudományos főmunkatársnak, a „vegyész szemléletű” tanácsokért és a sok konzultációért.

Hálával gondolok Rusznák István professzor úrra és köszönöm Reicher Johanna címzetes docensnek, hogy segítettek a kezdeteknél, és folyamatosan érezhettem önzetlen támogatásukat.

Köszönöm a doktoránsaimnak és a több, mint ötven hallgatónak, hogy csatlakoztak hozzám, és egy ideig – a diplomamunka, a szakdolgozat, a TDK dolgozat (vagy mindhárom) elkészítése során – velem együtt dolgoztak ezen a kutatási témán.

Köszönettel tartozom a vállalati szakembereknek és a textilsegédanyag forgalmazó cégek hazai képviselőinek, akik a kutatómunkához szükséges textíliákat, enzimeket és kikészítőszerkeket folyamatosan biztosították számomra. Külön köszönöm Somlai Péternek, a Pannon-Flax Győri Lenzöví Rt. műszaki igazgatójának, és Rosta Zoltánnak az Easton Kft (Hódmezővásárhely) főmérnökének az együttműködést, a nyitottságot és a korrekt szakmai kapcsolatot.

És természetesen köszönöm szűkebb családomnak, férjemnek, lányomnak és fiamnak, valamint nővéreimnek a szerető támogatást.

TARTALOMJEGYZÉK

Gyakran használt jelölések, rövidítések	VI
1 Bevezetés	1
2 Irodalmi áttekintés	3
2.1 Cellulóz alapú szálanyagok.....	3
2.1.1 A cellulóz alapú szálanyagok szerkezeti polimerjei	3
2.1.2 A pamut	6
2.1.3 A len.....	10
2.2 Vegyszeres textiltechnológiák	11
2.2.1 Bevezetés	11
2.2.2 Előkészítés	13
2.2.3 Végkikészítés – fogásjavítás	15
2.2.4 A textilkikészítési technológiák környezeti hatásai.....	15
2.3 Enzimes textiltechnológiák.....	16
2.3.1 Bevezetés	16
2.3.2 Az enzimek általános jellegzetességei	17
2.3.3 Enzimes írtelenítés	18
2.3.4 Bioelőkészítés.....	19
2.3.5 Biofehérítés	23
2.3.6 Biokikészítés	26
2.3.7 Az enzimes textiltechnológiák környezeti hatásai	28
2.3.8 Legújabb kutatási irányok az enzimes textiltechnológiák területén	29
2.4 Kisfrekvenciás ultrahanggal és atmoszférikus hidegplazma kezeléssel segített enzimes folyamatok	30
2.4.1 A kisfrekvenciás ultrahang jellemzői.....	30
2.4.2 Az ultrahang alkalmazása az enzimes textiltechnológiai folyamatokban.....	31
2.4.3 A kisfrekvenciás ultrahang hatása az enzimaktivitásra.....	32
2.4.4 Az atmoszférikus hidegplazma jellemzői	33
2.4.5 Az atmoszférikus hidegplazma textilipari alkalmazásai	34
3 A kutatómunka célja	35
4 Anyagok és módszerek.....	38
4.1 Szálanyagok, pamutmaghév	38
4.2 Enzimek, fermentáció, enzimaktivitás.....	38
4.3 Enzimes és vegyszeres kezelések	39
4.4 Kísérletek ultrahangos besugárzás alkalmazásával.....	40

4.4.1	Az ultrahangos reaktor jellemzői.....	40
4.4.2	Az ultrahangos besugárzás hatása az enzimaktivitásra.....	40
4.4.3	A cellulóz enzimkatalizált hidrolízise ultrahangos térben	40
4.4.4	Az SSF-fel termelt nyers enzimek ultrahanggal segített extrakciója	40
4.4.5	Lenszövet biofehérítése.....	41
4.4.6	A nanokristályos cellulóz előállítása	41
4.5	Kísérletek atmoszférikus hidegplazma alkalmazásával	41
4.5.1	A plazmareaktorok jellemzői és a szövetkezelések végrehajtása	41
4.5.2	A plazmakezelés után alkalmazott enzimes kezelések	41
4.6	Vizsgálati módszerek.....	42
4.6.1	Bevezetés.....	42
4.6.2	Klasszikus textilvizsgálatok	42
4.6.3	Modern anyagtudományi vizsgálatok	43
5	Eredmények, értékelés, következtetések.....	45
5.1	A pamut és a len bioelőkészítése és biofehérítése.....	45
5.1.1	Bevezetés, előzmények	45
5.1.2	Bioelőkészítés hidrolitikus enzimekkel ²²² [T1].....	46
5.1.3	A pamutmaghéj degradációja hidrolitikus enzimekkel ²²⁸ [T1].....	49
5.1.4	Az EDTA komplexképző hatása a bioelőkészítésben ^{223,226,227} [T2]	51
5.1.5	Bioelőkészítés szilárd fázisú fermentációval előállított hidrolitikus és oxidatív enzimekkel ^{229,230,231} [T3]	56
5.1.6	A bioelőkészítés hatása a szálanyagok felületi tulajdonságaira ^{232,233,235,236,243} [T4]	61
5.1.7	A bioelőkészített szövetek fehéríthetősége és színezhetősége ^{224,235} [T5, T6] ...	68
5.2	Biokikészítés: len és len-tartalmú szövetek fogásjavítása	71
5.2.1	Bevezetés.....	71
5.2.2	A lenszövetek kombinált enzimes-vegyszeres kikészítése ²²⁵ [T7].....	71
5.3	Heterogén fázisú enzimes reakciók kisfrekvenciás ultrahanggal besugározva	75
5.3.1	Bevezetés.....	75
5.3.2	Az ultrahang–enzim és az ultrahang–szubsztrátum kölcsönhatás heterogén fázisú enzimes reakciókban ^{237,239,240} [T8]	75
5.3.3	A heterogén fázisú enzimes reakciók eredményessége kisfrekvenciás ultrahanggal besugárzott közegben ^{237,239,244} [T9]	80
5.4	Enzimes reakciók az atmoszférikus hidegplazma kezelést követően.....	87
5.4.1	Bevezetés.....	87

5.4.2	A plazmakezelés hatása a nyers pamut- és lencszövet felületi és tömbi tulajdonságaira ^{234,238,242} [T10]	87
5.4.3	A szárfelület polimer alkotóinak hozzáférhetősége a nyers pamutszövet plazmakezelése (DCSBD) után ²⁴² [T10]	93
5.4.4	A plazma (DCSBD) előkezelés hatása az amiláz enzimés írtelenítésre ²⁴² [T11] ..	95
5.4.5	A plazma (GD) előkezelés hatása a bioelőkészítésre ²³⁴ [T12]	97
5.5	Legújabb kutatási területek	100
5.5.1	Bevezetés	100
5.5.2	A kislekvenciás ultrahang alkalmazása a szilárd fázisú fermentációval termelt enzimek kinyerésére ^{239,240} [T13]	101
5.5.3	A kislekvenciás ultrahang alkalmazása a kristályos nanocellulóz kinyerése és felhasználása során ^{241,245} [T14]	106
6	A kutatási eredmények gyakorlati hasznosítása	109
6.1	Cellulóz alapú kötött kelmék bioelőkészítésének és biokikészítésének üzemi megvalósítása	109
6.2	Len- és len-tartalmú szövetek nagyüzemi biokikészítése	110
7	Összefoglalás	111
8	Tudományos tézisek	115
9	Irodalomjegyzék	119
10	Közlemények	125
11	A tézisekhez kapcsolódó műszaki alkotások jegyzéke	129
	Függelék	130
	F1. Ipari enzimek	130
	F2. Szilárd fázisú fermentáció	131
	F3. Lencszövetek fogásjavítását célzó kísérletek	132
	F4. Ultrahangos besugárzással végzett kísérletek	133
	F5. Atmoszférikus hidegplazmával végzett kísérletek	135
	F6. Inverz gázkromatográfiával végzett kísérletek	136

GYAKRAN HASZNÁLT JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK

CBH	Cellobiohidroláz
CNC	Kristályos nanocellulóz
DCSBD	Diffúz koplanáris felületi akadálykísülés (plazma)
EDTA	Etilén-diamin-tetra-ecetsav
EG	Endo-glükanáz
EXyl	Endo-xilanáz
FPA	Szűrőpapír lebontó aktivitás
GD	Parázskísülés (plazma)
HG	Homogalakturonán
HM	Nagy metoxilezettségű (pektin)
ICP-OES	Induktív csatolású plazma-optikai emissziós spektroszkópia
IGC	Inverz gázkromatográfia
K_A	A szilárd felület savasságát jellemző konstans
K_D	A szilárd felület bázicitását jellemző konstans
L^*	Világossági tényező
Lac	Lakkáz
LiP	Lignin-peroxidáz
LM	Kis metoxilezettségű (pektin)
MnP	Mangán-peroxidáz
PE	Pektin-észteráz
PGal	Poli-galakturonáz
PGL	Pektát-liáz
PL	Pektin-liáz
PMG	Poli-metil-galakturonáz
RG	Ramnogalakturonán
SSF	Szilárd fázisú fermentáció
UH	Kisfrekvenciás ultrahang
WI	Fehérségi mérőszám
XPS	Röntgen fotoelektron spektroszkópiái
Xyl	Xilanáz
YI	Sárgasági mérőszám
β Gluc	β -glükózidáz
γ_s^d	Felületi szabadenergia diszperziós komponense
γ_s^{total}	Felületi szabadenergia
ΔC_{ab}^*	Krómakülönbség
ΔE_{ab}^*	Színkülönbség
$\overline{\Delta E_{ab}^*}$	Színegyenletesség
ΔG^{ab}	Szabadenergia változás
ΔH_{ab}^*	Színezetbeli különbség
ΔL_{ab}^*	Világosság különbség

1 BEVEZETÉS

A természetes szálanyagokból – a kedvező használati és egyedülálló viselési tulajdonságaiknak köszönhetően – ma is főként ruházati termékeket és lakástextíliát gyártanak. Legfontosabb természetes szál a pamut, ami 2017-ben a világ szálanyag fogyasztásának (105,8 Mt) a 24,1 %-át tette ki. Más cellulóz alapú szálanyagok (pl. len, kender) részesedése 1 %-nál kisebb^{w1,w2}. A szálak és rostok kinyerésére és feldolgozására szolgáló folyamatok jelentősen változtak az elmúlt korokban. Az utóbbi időben a hagyományos, víz-, vegyszer- és energia-intenzív technológiákat új, hatékony és környezetbarát folyamatok váltották fel, amelyek a végtermékek tulajdonságait is jelentősen javították. Az elmúlt két évtizedben a textilipari kutatás legdinamikusabban fejlődő területe a textil biotechnológia volt, amely a vegyszeres textilkikészítési folyamatok helyettesítésére alkalmas enzimkatalizált folyamatokat vizsgálja. A kutatások hajtóereje főként a környezetvédelmi előírások szigorodása, az energia és a víz árának folyamatos növekedése, valamint az új és szokatlan tulajdonságú textíliák iránt megnövekedett fogyasztói igény volt.

A cellulóz alapú szálanyagok polimer alkotói és kismolekulás természetes kísérőanyagai ideális szubsztrátumok az enzimek számára. A kilencvenes évek második felében a világon az elsők között kezdtük vizsgálni a pamut és a len enzimes előkészítését, ami a nem-cellulóz kísérőanyagok (viaszok, pektinek, színes összetevők, lignin-tartalmú maghéjmaradványok, stb.) enzimekkel segített eltávolítását, és ennek révén a hidofil szálfelület kialakítását jelenti. A bioelőkészítés új szemléletet kínált az addig alkalmazott forró lúgos kezeléssel szemben, hiszen az enzimek enyhe körülmények között alkalmazhatók és a kísérőanyagokra specifikusan hatnak. A kutatómunka során főként kereskedelmi forgalomban kapható hidrolitikus enzimeket (pektináz, xilanáz, celluláz) alkalmaztunk, továbbá szilárd fázisú fermentációval nyers enzimkészítményeket állítottunk elő egy adott cél megvalósítására. Egyedülálló megoldásnak bizonyult, hogy a fermentáció során a szénforrás, valamint az enzimkatalizált reakció szubsztrátuma azonos volt. A pamut és a len lignin-tartalmú kísérőanyagainak a hatékony degradációjához ugyanis pamutmaghéj hulladékon, illetve nyers lenroston, mint szénforráson állítottunk elő hidrolitikus és oxidatív aktivitással rendelkező enzimkomplexekeket. A kétezres évek elejére a bioelőkészítés területén az alapkutatástól eljutottunk az ipari megvalósításig.

A biofehérítés a szálanyagok színes természetes kísérőanyagainak enzimkatalizált degradációját jelenti. Xilanáz enzimes előfehérítéssel segítettük a lignin eltávolítását, a szilárd fázisú fermentációval előállított oxidatív enzimekkel (lignin-peroxidáz, mangán-

peroxidáz, lakkáz) pedig a pamutban és a lenben lévő lignin-tartalmú komponensek degradációját katalizáltuk.

A biokikészítés során celluláz és hemicelluláz enzimekkel módosítottuk a lenrost kémiai szerkezetét és morfológiáját, ami a felhasználó számára fontos kelmetulajdonságok kedvező változását eredményezte. Kutatási eredményeink hozzájárultak új biokikészítési technológiák kidolgozásához és sikeres ipari megvalósításához.

A közelmúltban az időigényes enzimes folyamatok hatékonyságát kisfrekvenciás ultrahangos besugárzással, valamint atmoszférikus hidegplazma előkezeléssel növeltük. Az ultrahang a folyadékfázis áramlási viszonyainak a megváltoztatásával, az anyagszállítás fokozásával, valamint a részecskeméret csökkentésével, a hidegplazma kezelés pedig a szálfelület aktiválásával és hozzáférhetőségének a növelésével járult hozzá a heterogén fázisú enzimes folyamatokat eredményességének a növeléséhez.

Az ultrahang alkalmazása során szerzett ismeretek két új és ígéretes kutatási területet nyitottak meg számunkra. A világon elsőként alkalmaztuk a kisfrekvenciás ultrahangot a szilárd fázisú fermentációval termelt nyers enzimek kinyerésének a fokozására. Az enzimeket ezt követően a bioelőkészítésben és a biofehérítésben használtuk. Emellett cellulóz nanokristályokat állítottunk elő cellulóz alapú szálanyagokból, és bizonyítottuk, hogy a kavitáció nemcsak az egyedi nanorészecskék méretét és az aggregáció mértékét befolyásolja, hanem hat a nanokristályos cellulóz szuszpenziók és az azokból készült termékek (pl. filmek) tulajdonságaira is. A nanokristályos cellulóz textil hulladékból is előállítható, így a cellulóz alapú textíliák életciklust követő felhasználása a nanokristályos cellulóz alapanyagaként a textil hulladékok egy ígéretes újrahasznosítását jelentheti a közeljövőben.

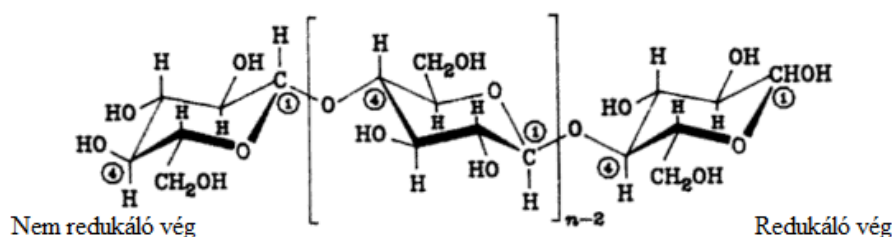
Kutatómunkámban mindvégig a cellulóz alapú szálanyagok kikészítésével foglalkoztam. Ez volt a témája a műszaki doktori (Lignin szerepe a pamut lúgos főzésében, BME, 1989) és a kandidátusi értekezésemnek (Natív cellulóz alapú szálanyagok hatékony előkészítése, MTA, 1998) is. Több mint húsz éve foglalkozom enzimes textiltechnológiákkal. Kutatómunkám felhasználás orientált alapkutatás, amelyben komplex módon vizsgáltam a cellulóz alapú szálanyagok heterogén fázisú enzimkatalizált folyamatait, új, a textiltechnológiákban eddig nem használt biotechnológiai, fizikai, kémiai és anyagtudományi módszerek alkalmazásával. Értelmeztem a lejátszódó folyamatok és a szál tulajdonságok széleskörű jellemzése alapján levont anyagtudományi következtetések textiltechnológiai következményeit. A tradicionálistól eltérő módszereket és az anyagtudományi vizsgálatokat olyan területen alkalmaztam, ahol hosszú időn keresztül tapasztalati úton alakultak ki és fejlődtek az eljárások, a lejátszódó folyamatok és a szál tulajdonságok mélyebb ismerete nélkül. Doktori értekezésemben a textil biotechnológia területén elért eredményeimet foglaltam össze.

2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 CELLULÓZ ALAPÚ SZÁLASANYAGOK

2.1.1 A cellulóz alapú szálanyagok szerkezeti polimerjei

A növényi eredetű szálanyagok legfontosabb szerkezeti polimerje a cellulóz, ami az egyik legfontosabb természetes polimer. Évente kb. $7,5 \cdot 10^{10}$ t keletkezik. A cellulóz nagy molekulatömegű lineáris homopolimer, ami D-glükóz egységekből áll, amelyek $\beta(1 \rightarrow 4)$ glikozidos-kötéssel kapcsolódnak egymáshoz (1. ábra). Minden glükopiranoz egységben három szabad hidroxil-csoport van, és a közöttük létrejött intramolekuláris hidrogén-kötések stabilizálják a glikozidos-kötést, továbbá hozzájárulnak a merev molekulaszervezet kialakulásához. A cellulóz redukáló típusú poliszacharid. A glükopiranoz gyűrű legstabilabb 4C_1 szék konformációja miatt a gyűrűben a hidroxil-csoportok ekvatoriális, a hidrogén atomok pedig axiális helyzetben vannak. A hidroxil-csoportok reakcióképességét a hidrogén-kötések és a kialakuló rendezett szerkezet mérsékli¹.

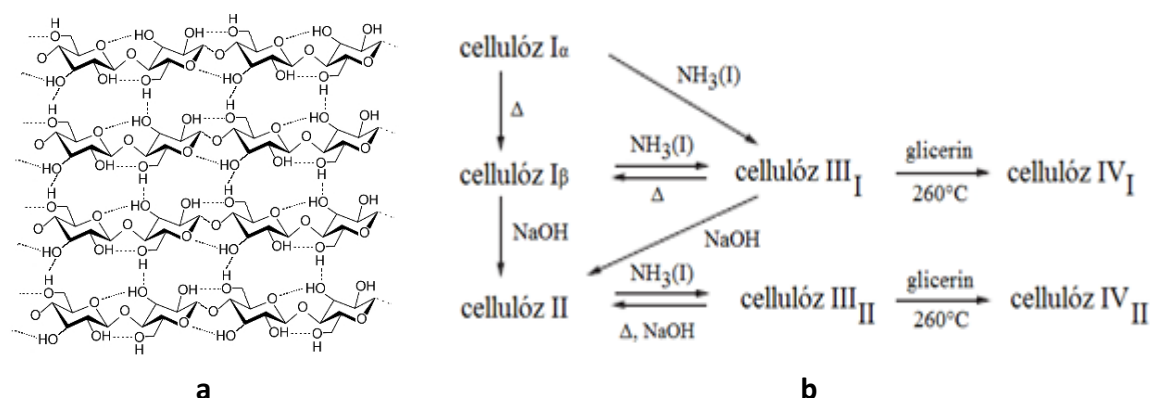


1. ábra. A cellulóz molekulaszervezete¹

Az egymás mellett futó cellulóz molekulákat is hidrogén-kötések rögzítik, és elősegítik a cellulóz síkok kialakulását (2.a ábra). A síkok között van der Waals-kötések hatnak. A keskeny és hosszú cellulóz síkok aggregációja révén nagy szakítószilárdságú elemi fibrillák képződnek, amelyek egymásra rakódásával mikro- és makrofibrillák alakulnak ki^{2,3}. Mivel a fibrillák lánchajtogatódástól mentesek és csak kevés hibát tartalmaznak, rugalmassági moduluszuk nagy, egy tökéletes cellulóz kristályéhoz közelít és kb. 150 GPa⁴. Szilárdságuk 10 GPa nagyságrendű. A fibrillák rövid nanokristályokká (cellulóz nanokristályok, CNC) vagy nanofibrillákká hasíthatók kontrollált savas hidrolízissel^{2,5}. A glikozidos-kötés savas vagy enzimkatalizált hidrolízise révén a cellulóz glükózra bontható.

A természetben megtalálható natív cellulóz kristályformáját *Cellulóz I*-nek nevezzük, ami nem a cellulóz legstabilabb formája. Termodinamikailag a *Cellulóz II* kristálmódosulat a legkedvezőbb forma, ami a *Cellulóz I*-ből mercerezéssel, azaz tömény nátrium-hidroxiddal

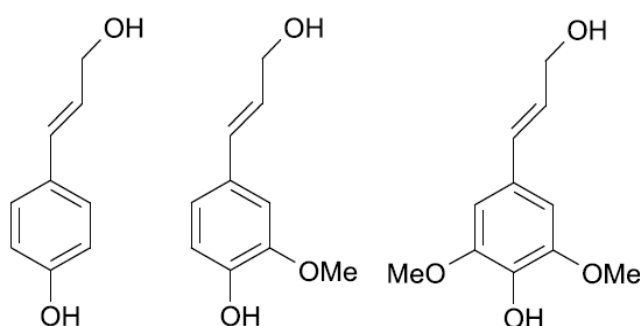
végzett duzzasztással és vizes mosással nyerhető, továbbá regenerálással, vagyis lúgos oldással és visszakristályosítással (2.b ábra). A *Cellulóz I* → *Cellulóz II* átalakulás irreverzibilis és mértékét a lúgos kezelés paraméterei befolyásolják³. A cellulóznak további, a természetben elő nem forduló kristály módosulatai közül technológiai jelentősége a *Cellulóz III*-nak van, ami folyékony ammóniás kezelés hatására képződik. A folyamat reverzibilis és az ammónia eltávolítása után visszaalakul a *Cellulóz I* kristályszerkezet.



2. ábra. (a) Intramolekuláris és intermolekuláris hidrogén-kötések a natív cellulózban^{w3}; (b) A cellulóz különböző kristályformáinak a kialakulása¹

A hancsrostok kis mennyiségben hemicellulózokat is tartalmaznak, amelyek polimerizációs foka 200-nál kisebb, glükózból vagy más monoszacharidokból épülnek fel, továbbá oldalcsoportokat és elágazásokat is tartalmazhatnak. Vegyszerekkel és hővel szemben kevésbé ellenállóak, mint a cellulóz. Legfontosabb hemicellulózok a xilánok^{6,7,1}.

A lignin a polifenolok csoportjába tartozó térhálós makromolekula, ami a fás anyagok fontos alkotója. Három alapvegyület (monolignol) enzimkatalizált gyökös polimerizációjával, szén-szén és szén-oxigén kötések kialakulása révén alakul ki (3. ábra), és a bioszintézis során utolsó komponensként épül be a növényi sejtbe. A puhafák, a keményfák és a fűfélék ligninjében eltérő a monolignolok aránya¹. A lignin és a hemicellulózok (főként xilánok) között kovalens kötés jön létre a bioszintézis során, a hemicellulózok pedig hidrogén-kötéssel kapcsolódnak a cellulózhoz. A lignin, a hemi-

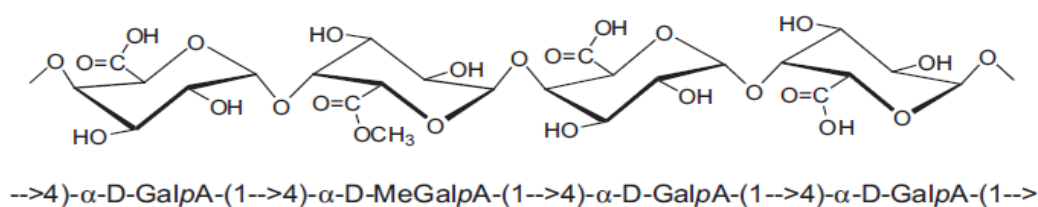


3. ábra. A lignin prekurzorai: (*trans-p-kumaril-alkohol*, *trans-koniferil-alkohol*, *trans-szinapil-alkohol*)¹

A lignin és a hemicellulózok (főként xilánok) között kovalens kötés jön létre a bioszintézis során, a hemicellulózok pedig hidrogén-kötéssel kapcsolódnak a cellulózhoz. A lignin, a hemi-

cellulózok és a cellulóz által létrehozott szerkezetet lignin-szénhidrát komplexnek nevezzük^{1,6,7}.

A pektin egy savas karakterű, nem-cellulóz poliszacharid, ami főként a közép lamellában és a primer sejtfalban található. Meghatározza a kialakuló sejtfal növekedését, szerkezetét és porozitását, továbbá a sejtek expanzióját, ionmegkötő és védekező képességét⁸. A pektin egy szabálytalan és bonyolult szerkezetű blokk kopolimer, amely kb. 65 %-ban homogalakuronánból (HG), 20-35 %-ban pedig ramnogalakuronánból (RG) áll. A főlánc HG molekulaszakaszai *D*-galakturonsavból α(1-4)-es kapcsolással jönnek létre. A karboxil-csoportok egy része metil-észterként van jelen (4. ábra), az O-2 és O-3 csoportok pedig acetilezve vannak. Az RG blokkban minden második monomer egység ramnóz, ahonnan főként semleges cukrokból felépülő rövid elágazások indulnak⁸.

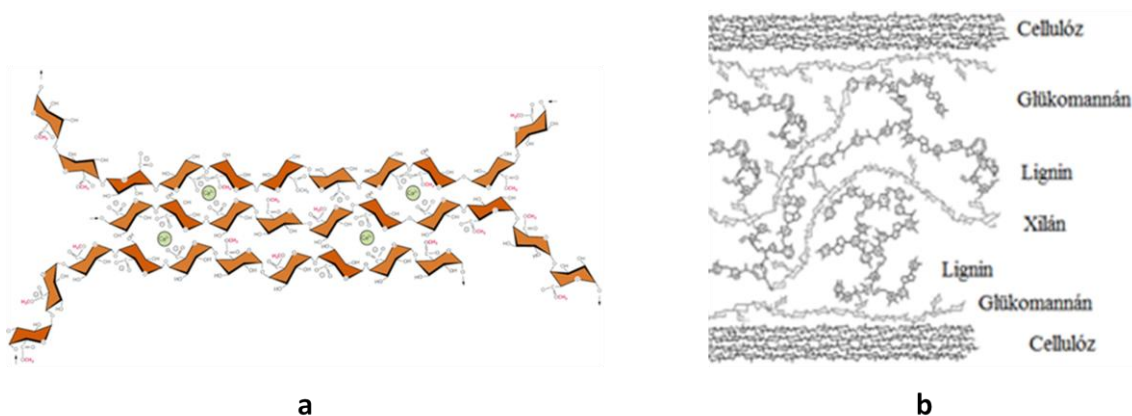


4. ábra. A pektin HG molekulaszakasza észterezett és szabad karboxil-csoportokkal¹

Ha a HG láncban a karboxil-csoportok észterezettsége 50 % alatt van, akkor kis metoxilezettségű (LM), vagy savas pektinről beszélünk. 50 % feletti észterezettség esetén a nagy metoxilezettségű (HM), vagy észterezett pektin elnevezést használjuk⁹. Fás szövetekben a HM, míg a nem-fás szövetekben a LM pektin a domináns¹. Az LM pektinben a szabad karboxil-csoportok képesek a jelenlévő főként kalcium-ionokkal erős ionos kötést kialakítani. Két HG lánc összekapcsolásához 9-20 szabad karboxil-csoportot tartalmazó galakturonsavból álló láncszakasz szükséges, ami az ún. „tojásosdoboz” szerkezet (5.a ábra) kialakulását eredményezi^{10,11}. Az észterezett pektin kevésbé stabil, hidrolízisre érzékeny, degradációja könnyebben végbemegy, mint a savas pektiné. A pektinben lévő glikozidos-kötés savakkal és lúgokkal szemben érzékeny, és pektináz enzimek is katalizálják a hidrolitikus bontását¹². A len mikrobiológiai feltárása során a kalcium-ionok komplexálása jelentősen fokozta a pektin degradációját és az enzimes feltárás hatékonyságát^{13,14}. Nagyszámú komplexképző (foszfátok, foszfonátok, polikarbonsavak, amino-polikarbonsavak) közül az etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) bizonyult a leghatékonyabbnak a savas közegben aktív pektináz enzimmal végrehajtott lenfeltárás során^{15,16}.

A növényi sejt egy speciális szálerősített mikrokompozitnak tekinthető, ahol a cellulóz fibrillákat mátrix polimerek (lignin, hemicellulóz, pektin) veszik körül. Számos modellt

javasoltak ennek szemléltetésére. Az 5.b ábra szerint a cellulóz fibrillák közötti teret lignin, xilán és glükomannán polimerek töltik ki, vagyis a cellulóz fibrillák az amorf szerkezeti polimerekbe ágyazódva helyezkednek el a sejt falban^{1,6,7}. A pamut csak elenyészően kis mennyiségben tartalmaz a cellulóztól eltérő alkotókat, és nem tartalmaz lignint. A lenben a cellulóz és a hemicellulózok mellett mérhető mennyiségben a pektin és a lignin is megtalálható.



5. ábra. (a) A pektinre jellemző ún. „tojásosdoboz” szerkezet¹⁷; (b) A lignin és a poliszacharidok elhelyezkedése a növényi sejt falban¹

2.1.2 A pamut

A pamut elemi szál egyetlen, hosszú és réteges szerkezetű sejt (6.a ábra). Az egyes rétegek összetétele és morfológiája különbözik. A bioszintézis során először a 200-400 nm vastag primer fal alakul ki, majd a szekunder fal három rétege képződik: a primer sejt falhoz kapcsolódó és kb. 200 nm vastag átmeneti réteg (S_1); a középső, kb. 1,5 μ m vastag szekunder fal (S_2); és a legbelső kb. 100 nm vastag terciér fal (S_3). Ezen belül található a bélüreg¹⁸. A szál legkülső rétege a kb. 12 nm vastag kutikula¹⁹. A nyers pamut kb. 90 %-a cellulóz. A nem-cellulóz kísérőanyagok a szál külső rétegében – a kutikulában és a primer falban –, valamint a lumenben vannak (1. táblázat). A szekunder fal tiszta cellulóz.

A kutikula egy összefüggő extracelluláris membrán, ami hidrofób védőréteggént borítja be a szálát, biztosítja a szál víztartalmának és egyéb komponenseinek a megtartását, továbbá a külső hatásokkal szembeni ellenállását. Elszappanosítható (40 %) és nem elszappanosítható (60 %) viaszos anyagokból áll. A pamutviasz fő alkotói: nagy móltömegű alkoholok (C_{26} - C_{36}) és zsírsavak (C_{16} - C_{36}) szabad és észterezett formában, továbbá alkének (C_{21} - C_{35}) és aldehidek (C_{22} - C_{32}). A viaszos anyagok lerakódását és rögzítését a kutikulában a suberin és a kutin biopoliészterek segítik, amelyek vázként szolgálnak. A kutikula tehát egy hidrofób és nem-reaktív poliészter-zsírsav asszociátum²⁰. A pamutviasz olvadáspontja 64 és 87 °C között van^{21,22}. A pamut viasztartalma 0,6–1,2 %, amelynek nagy részét a nedves textilkikészítési folyamatok első szakaszában eltávolítják, hogy a szálfelület hidrophil legyen²³.

1. táblázat. A pamut összetevői a szálban és a szál külső rétegében²⁸

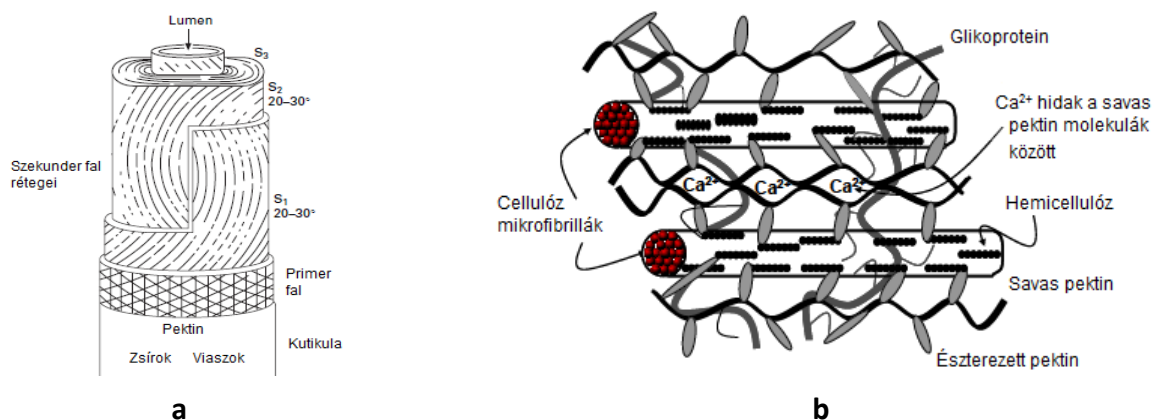
Alkotó	Mennyiség (%)	
	a szálban	a külső rétegben
Cellulóz	94	54
Viaszok	0,6-1,3	14
Pektinek	0,9-1,2	9
Fehérjék	0,6-1,3	8
Ásványi anyagok (hamu)	1,2	3
Szerves savak	0,8	-
Egyéb kísérőanyagok	1,4	12

A primer fal a szál tömegének kb. 5 %-a, elhelyezkedése, kémiai összetétele és szubmikroszkópos szerkezete révén azonban jelentősen befolyásolja a száltulajdonságokat²⁴. A primer fal hálós szerkezetű (6. ábra), cellulózból (22-50 %) és nem-cellulóz alkotókból áll^{28,24-26}. A cellulóz széles molekulatömeg eloszlású, és kristályossága kisebb a szekunder falban található cellulóztól²². A cellulóz fibrillákat xilo-glükán és pektin veszi körül. A HG pektin láncok nem, vagy csak enyhén észterezettek²⁴. A szabad karboxil-csoportok és a jelenlévő Ca^{2+} -ionok által létrehozott keresztkötött szerkezet hozzájárul a sejtfal alkotóinak, valamint a sejtfal egyes rétegeinek az összetartásához. A primer fal tömegének kb. 15 %-át glikoproteinek teszik ki, amelyek poliszacharid láncai a primer fal más poliszacharidjaihoz kapcsolódva részét képezik annak a mátrixnak, amelybe a cellulóz fibrillák beágyazódnak (6.b ábra). A primer fal rugalmas és duzzadásra képes^{21,27}.

A szekunder fal (S_2) (6.a ábra) az érett szál tömegének kb. 94 %-a, és nagy polimerizációs fokú ($\text{DP}=14000$) és szűk molekulatömeg eloszlású cellulózból áll. A szál növekedése során a szekunder fal a primer fal belső felületére koncentrikusan lerakódó cellulóz rétegekből alakul ki, miközben a lumen fokozatosan csökken²⁷. A koncentrikus rétegekben a kb. 7,5 nm átmérőjű elemi fibrillák mikro- (20-30 nm) és makrofibrillákká (100 nm) aggregálódnak, és a szál tengelyével átlagosan 20-30°-os szöget zárnak be. A fibrillák orientáltsága az egyes rétegeken belül gyakran változik²⁹. Ez, valamint a szekunder fal vastagsága döntő hatással van szinte valamennyi száljellemzőre. A szál közepén lévő bélüreg protoplazmát és sejtfolyadékot tartalmaz²⁴.

A 12-20 μm átmérőjű és 22-35 mm hosszú érett szál a tok nyílása után bekövetkező száradás során alakul ki (7.a ábra). A száradás irreverzibilis morfológiai változásokat okoz a szálszerkezetben: kialakul a csavarodott szalagra emlékeztető forma és a jellegzetes hosszanti mikroszkópi kép (7.b ábra), valamint a vese alakú szálkeresztmetszet; a cellulóz láncok közel kerülnek egymáshoz, intermolekuláris hidrogén-kötések alakulnak ki, amelyek rögzítik

a szálszerkezetben bekövetkező morfológiai változásokat²². Enzimes reakciókkal bizonyították, hogy a száradás során, a bekövetkező kollapszus következtében, a szálon eltérő hozzáférhetőségű területek jönnek létre.



6. ábra. (a) A pamut elemi szál szerkezete²²; (b) A primer fal cellulóz és nem-cellulóz alkotóinak elhelyezkedése és a közöttük lévő kölcsönhatások²¹

A pamutcellulózra a *Cellulóz I* kristályforma a jellemző, amelynek kristályossági indexe 53-80 %, a primer falban az érték kb. 30 %, a szekunder falban pedig 70 %²². A hamutartalom 0,7-1,6 %, ami döntően kálium-, kalcium-, magnézium-, vas- és alumínium-oxidokból áll²³. A fém-tartalmú komponensek kb. 85 %-a forró vizes extrakcióval eltávolítható, de a kalcium, magnézium, vas és alumínium legnagyobb része – főként foszfát sóként – a szálaban marad. A kalcium-ionok eltávolítása (pl. a pektinből) elősegítheti a primer fal degradációját²¹. A nyers pamut krém színe a polifenoloknak tulajdonítható³⁰.



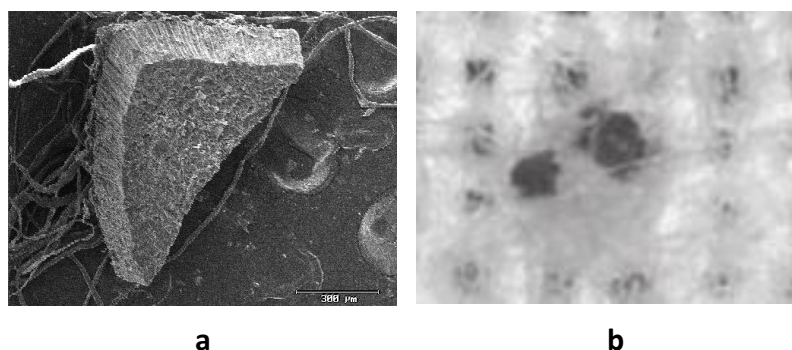
7. ábra. (a) A gyapotcserje a tok nyílása után; (b) Érett pamutszál hosszanti elektron mikroszkópos képe²²

A nem-cellulóz alkotók, illetve a természetes kísérőanyagok további fontos képviselői a pamutmaghéj maradványok (továbbiakban: maghéjak). Bár nem alkotórészei az elemi

szálnak, mégis a pamut nem-cellulóz kísérőanyagai közé sorolandók. A fonalak és kelmék ugyanis mindig tartalmaznak maghéjmaradványokat, amelyeket szintén el kell távolítani az előkészítés során.

Kutatómunkámban hosszú ideig foglalkoztam a pamutmagháj degradációjával, ezért a továbbiakban részletesen ismertetem a magháj legfontosabb jellemzőit.

A gyapot feldolgozása során először a gyapotszálat leválasztják magról. A folyamat során sérülhet a gyapotmag héja, és kis darabja bekerülhet a fonalba, majd a kelmébe³¹. ASTM definíció szerint a pamutban lévő magháj szennyezés általában fekete vagy sötétbarna színű, érett vagy éretlen pamutmagból letört részecske, amelyhez pamut elemi szálak, vagy linter (gyapotpihe) kapcsolódhat³². A maghéjak a pamut legveszélyesebb szennyezései³¹, mivel a hozzájuk kapcsolódó elemi szálaknak köszönhetően (8.a ábra) észrevétlenül összekeverednek a laza pamuttal, és a fonást megelőző tisztító műveletek során lehetetlen eltávolítani azokat³³. A fonalban lévő hibák, tökéletlenségek 27 %-a maghéjaknak tulajdonítható³⁴. A pamutszövetben lévő maghéjak (8.b ábra) maximális mérete átlagosan 0,67 mm, mennyisége a szövet tömegének kb. 0,08 %-a. Eltávolításuk azért szükséges, mert a fehérités után visszamaradó maghéjak színezéskor és nyomáskor, a cellulóztól eltérő színük és morfológiájuk miatt rontják a szövet esztétikai hatását³⁵.



8. ábra. (a) A pamutmagháj elektronmikroszkópos képe (M: 200 $\times$); (b) A magháj fotója a szövetben (saját fotók)

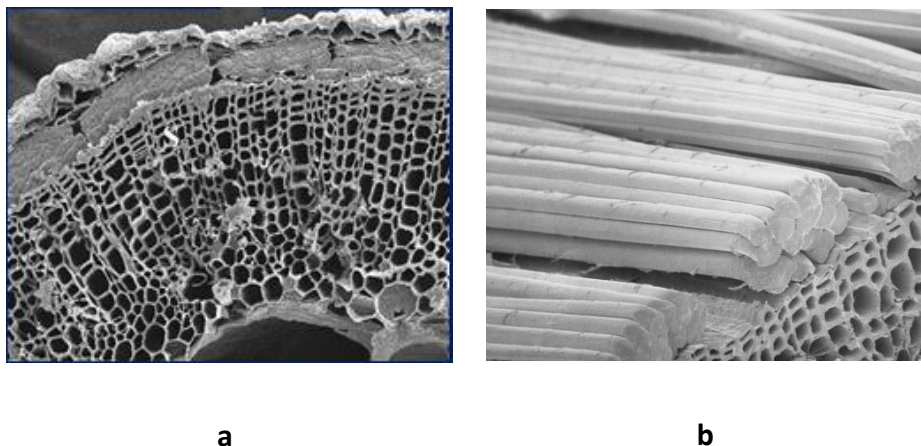
Kémiaiilag a pamutmagháj cellulózból, hemicellulózokból és ligninből áll. Tömegének 41,3 %-a holocellulóz, a cellulóz tartalma 23 %, a pentozánok (főként xilánok) mennyisége pedig 7,2 %³⁶. Viasztartalma kb. ötszöröse, kalcium-ion tartalma 28-szorosa, magnézium-ion tartalma pedig 8-szorosa a nyers pamutszálának³⁷⁻⁴¹. A magháj mellett a pamutcserje különböző részeiből (szár, levél, tok) származó apró törmelék is bekerülhet a fonalba és a kelmébe^{42,43} annak ellenére, hogy ezek eltávolítása a mechanikai tisztítóműveletek során könnyebb, mint a maghéjaké. Összetételük nem különbözik jelentősen a maghéjak összetételétől⁴³. A szakirodalomban megjelent közlemények legnagyobb része a "maghéjasság" prob-

lémával a fonásig bezárólag foglalkozik, és a megoldást a megfelelő gyapotfajta kikísérletezésében, a termesztés és betakarítás paramétereinek az optimalizálásában, a hatékonyabb tisztító műveletekben, továbbá a megfelelő fonási technológiákban látja. A nyers pamutkermék maghéjassága azonban aktuális probléma és különösen azért, mert a főként pektináz enzimmel végzett bioelőkészítés nem alkalmas a pamutmaghéjak eltávolítására⁴⁴.

A textil- és ruházati ipari felhasználásra kerülő szálanyagok kb. 50 %-a pamut. Jelenleg a világon termelt pamut 1/3-a génmódosított (GM) gyapotból származik. Génmódosítással elsősorban a növényi kártevőkkel, a növényvédőszerrel, továbbá a termesztés során alkalmazott szokatlan körülményekkel szembeni ellenállást sikerült javítani. Bio-pamutnak (bio-gyapot, organikus-pamut) nevezzük azt a gyapotot, amelynek termesztése során nem használnak szintetikus növényvédőszeret és műtrágyát²².

2.1.3 A len

A textilipari feldolgozásra kerülő lenrostot a növény (*Linum usitatissimum*) szárából nyerik ki. A szárban a kéreg alatt kb. 20 rostköteg van, ami kötegenként 10-40 elemi szálát tartalmaz (9.a ábra)⁴⁵. Az elemi szálakat pektin tartja össze. A rostkötegeket is pektin kapcsolja a szomszédos sejtekhez, és feltáráskor (mechanikai, biológiai, kémiai) ezt a kapcsolatot bontják, hogy a rostkötegek szabaddá váljanak (9.b ábra).



9. ábra. SEM felvételek (a) a lenkóró keresztmetszetéről és (b) a pektináz enzimes feltárás után szabaddá vált rostkötegekről⁴⁶

A lenrost pektinnel „összeragasztott”, szögletes keresztmetszetű elemi sejtekből épül fel, amelyek hossza 20-50 mm (a rostkötegeké 250-1200 mm), átmérője általában 5-38 µm (a rostkötegeké 40-600 µm), végei hegyesek. Cellulóz tartalma kb. 70 %. A rostkötegeket alkotó elemi sejtek primer fala viaszt, pektint és lignint tartalmaz (2. táblázat). A pektin nagyobb hányada a sejtközi állományban van. Ugyanitt és a sejsarkoknál található a gvajacil-

sziringil lignin, aminek fontos szerepe van a szekunder fal fibrillás szerkezetének az összetartásban, és ezáltal befolyásolja a szál szakítószilárdságát is⁴⁷⁻⁴⁹.

2. táblázat. A lenrost összetétele⁵⁰

	Cellulóz	Hemicellulóz	Lignin	Pektin	Viasz	Fehérje	Hamu
Mennyiség (%)	70-85	9-17	3-5	0-9	2-5	0-3	1-4

A len viasztartalma fajtájától függően 2-5 %⁵⁰, és zsíralkohol (C_{24} - C_{32}), zsírsav (C_{16} , C_{18} , C_{26} , C_{28}) és szénhidrogén ($C_{30}H_{62}$) alkotókat azonosítottak az analízise során³⁰. A primer fal fő tömegét egy vékony cellulóz réteg képezi. A szekunder fal az elemi sejtek keresztmetszetének 98 %-a, réteges szerkezetű, és a cellulóz mellett hemicellulózt és lignint is tartalmaz. A cellulóz kristályossága körülbelül 70 %. A fibrillák hossza 5 nm-től néhány μ m-ig változhat⁵⁰. A hemicellulóz alkotók döntően glükomannánok és xilánok⁴⁷. A hamutartalom 1-4 %. A fehérjék a primer falban és a lumenben találhatók. A rost szerkezet és az elemi sejteket összetartó pektin réteg miatt merevebb, mint a pamut, és nyúlása csupán 2,5-3 %. A len a kémiai kezeléssel szemben sokkal érzékenyebb, mint a pamut, mivel az elemi szálakat összetartó pektin kioldódhat és a rostköteg elemi sejtekre eshet szét, ami jelentős szakítószilárdság csökkenést okozhat⁵⁰.

2.2 VEGYSZERES TEXTILTECHNOLÓGIÁK

2.2.1 Bevezetés

A cellulóz alapú kelmék hagyományos nedves textilkikészítési technológiai folyamatait vizes közegben végzik (10. ábra). Mindegyik lépésben heterogén fázisú reakciók sorozata játszódik le, amelyek révén a szálanyag eredeti tulajdonságai jelentősen megváltoznak, és a végcélnak megfelelő új tulajdonságok alakulnak ki.

Az előkészítés, ahogy a neve is jelzi, előkészíti a szálanyagokat a textilkikészítés további technológiai folyamataira, és célja a hidrofil és megfelelő fehérségű textília előállítása a kísérőanyagok eltávolítása révén. A szövödéből vagy kötödéből érkező kelme természetes kísérőanyagainak egy része már forró vízzel eltávolítható. A viasz, fehérje, pektin és hemicellulóz alkotók azonban a cellulóz fibrillákkal komplex szerkezetet hoznak létre, amelynek megbontása – és ezáltal a nem-cellulóz kísérőanyagok eltávolítása – intenzív vegyszeres kezeléseket igényel. Az előkészítés tehát tisztító művelet, amely három részfolyamatból áll (10. ábra): (1) Az írtelenítés során a szálanyag mesterséges kísérőanyagát, az irányanyagot (ami leggyakrabban keményítő) bontják el (lásd 2.2.2. fejezet). (2) A lúgos főzés során a természetes kísérőanyagok nagy részét távolítják el. (3) Fehérítéskor pedig a színes kísérőanya-

gokat degradálják. A lejátszódó komplex folyamatok eredménye egy jó nedvszívóképességű és megfelelő fehérségű szálanyag, amely azt követően eredményesen színezhető, és a végkikészítés során a tulajdonságai módosíthatók. A pamut előkészítés „végterméke” a fehérített pamut, ami 100 % cellulóz. A len előkészítése során nem cél a nagyobb mennyiségben jelenlévő nem-cellulóz kísérőanyagok (pl. hemicellulózok) teljes mértékű eltávolítása⁵¹.



10. ábra. A cellulóz alapú kelmék hagyományos nedves textilkikészítési technológiájának a legfontosabb részfolyamatai

A cellulóz alapú szálanyagokat változatos kémiai szerkezetű színezékekkel színezik, amelyek például szubsztitúciós vagy addíciós reakcióban kovalens kötést alakítanak ki a cellulóz hidroxil-csoportjaival (reaktív színezékek), vagy másodlagos kötőerők kialakulása révén közvetlenül színezik a cellulóz alapú szálanyagokat (direkt színezékek). Vannak olyan színezékek is, amelyeknek a redukált (vízoldható) formájával telítik a szálanyagot (csáva- és kénszínezékek), majd oxidációval visszaalakítják a szálon az eredeti színes pigmentet¹⁸.

A végkikészítés a nedves technológiai sor utolsó művelete, amelynek célja: a felhasználás szempontjából fontos végső tulajdonságok kialakítása. A cellulóz alapú szálanyagok esetén körülbelül 20 különböző végkikészítési technológiát alkalmaznak, például a mérettartás, a gyűrődésfeloldó képesség, a könnyű kezelhetőség, a lágy fogás és a megfelelően jó esés, a pillingesedés-mentes (bolyhozódás-mentes) felület, vagy esetenként a viseletes külső kép, stb. kialakítása céljából. Ide tartoznak azok a vegyszeres kezelések is, amelyek a kelme funkcionálisítását (pl. antibakteriális, oleofób, lángálló, stb.) szolgálják. Az új tulajdonságok több ezer vegyszer felhasználásával érhetők el⁵².

A pamut- és lenkikészítésben gyakran alkalmaznak lúgos duzzasztó folyamatokat a tulajdonságok (pl. színezhetőség, szakítószilárdság, könnyű kezelhetőség, mérettartás, kopásállóság, stb.) javítására. A koncentrált NaOH (> 15 %) a kristályszerkezet irreverzibilis módosulását (*Cellulóz I* → *Cellulóz II*) eredményezi⁵³. A folyékony ammónia alkalmazása pedig reverzibilis kristályszerkezet (*Cellulóz I* ↔ *Cellulóz III*) változással jár⁵⁴⁻⁵⁸.

A továbbiakban kizárólag a dolgozat tématerületéhez kapcsolódó folyamatokat, az előkészítést (írtelenítés, lúgos főzés, oxidációs fehérités), valamint a lenszövetek lágyítására szolgáló végkikészítést mutatom be, mivel a kutatómunkámban ezeknek a vegyszeres folyamatoknak vizsgáltam az enzimekkel megvalósítható alternatíváit.

2.2.2 Előkészítés

A textiliparban feldolgozott pamut kb. 65 %-a szövet formában kerül forgalomba. A pamut láncfonalakat (hosszirányban futó) írezik a szövést megelőzően, hogy a fonalszakadást kiküszöböljék a szövés során. Általában egy rugalmas keményítő bevonatot hoznak létre a fonalfelületen, ami összetartja a fonalat alkotó elemi szálakat, növeli a szakítószilárdságot és a kopásállóságot, és csökkenti a súrlódást. Az irányag mennyisége a szövet tömegének 8-16 %-a. Nem írezik a nagy szakítószilárdságú és sima felületű lenfonalakat. A szövést követően az irányag eltávolítása az írtelenítés feladata, amely az előkészítés első részfolyamata. A keményítő irányag vegyszerrel (sav, lúg, vagy oxidálószer) degradálható. Mivel a keményítő gyorsabban degradálódik, mint a pamutcellulóz, kontrollált folyamatban hatékony írtelenítés érhető el. A keményítő enzim-katalizált hidrolízissel (2.3.3. fejezet) is eltávolítható^{59,60}.

Az előkészítés második részfolyamata a lúgos főzés, amelynek célja a nem-cellulóz kísérőanyagok – elsősorban a nedvesedést gátló felületi viaszréteg – eltávolítása forró nátrium-hidroxid vagy nátrium-karbonát oldattal. A hatékony kísérőanyag eltávolításhoz pamut esetén 30 g NaOH szükséges szövetkilogrammonként. Lúgos főzésekor több folyamat teszi a járulékos anyagokat oldhatóvá¹⁸:

- A fehérjék lúgban oldható oligopeptidekké és aminosavakká hidrolizálódnak.
- A pektinek a galakturonsav oldható sóivá alakulnak.
- A kis polimerizációs fokú cellulóz frakciók lúgban oldódnak.
- A szervesetlen járulékos anyagok részlegesen feloldódnak.

A lúgos főzés fő folyamata az emulgeálás. A pamutviasz szappanosítható komponensei oldható szappanokká hidrolizálódnak, amelyek emulgeálják a viasz nem-szappanosítható, de a lúgos főzés hőmérsékletén megolvadt komponenseit. A lúgos főzés hatékonysága tenzidek, emulgeátorok, komplexképzők és redukálószeresek hozzáadásával növelhető. A főzés után a pamutviasz kis hányada (kb. 0,15 %) a pamutban marad, ami segíti a további feldolgozást és felhasználást. Inhomogén eloszlása miatt a szál hidrofil²³.

A len lúgos főzésekor 1 kg lenre 25 g nátrium-hidroxidot használnak, amelynek a fele helyettesíthető szódával. A főzött len hidrofil, viasztartalma 0,3-0,4 %³⁰. A főzés hőmérséklete nagymértékben befolyásolja az elérhető fehérséget. A lúgos főzés tehát a len színes komponenseire is hat, amit a lignin-tartalom csökkenése is bizonyít (4,13 % → 3,63 %¹⁰⁶, 2,5 % → 1,8 %¹⁰⁷). A hemicellulózok is degradálódnak, és β -alkoxi-eliminációs reakcióban monoszacharid egységek válnak le a redukáló láncvégekről, ami polimerizációs fok csökkenéssel jár⁶. A lenrostot alkotó elemi szálak között lévő pektin is kioldódhat. Ez utóbbi két

folyamat növeli a tömegvesztést és csökkenti a szakítószilárdságot. A len vegyszeres kezelését ezért kis koncentrációjú oldatokkal, többször megismételve végzik²⁷.

A hidrofил szálfelület kialakításához elméletileg csupán a viasz eltávolítására lenne szükség, ami pamut esetén a száltömeg kb. 0,6-1,3 %-a, len esetén pedig a rost tömegének 2-5 %-a. Ezzel szemben, a pamut tömegvesztése átlagosan 5 %, a lené lényegesen nagyobb, kb. 15 %^{30,40}. A lúgos főzés tehát nem szelektív, hiszen például a pamut nem-cellulóz komponenseit teljes mértékben eltávolítja, továbbá a szál külső részében található kevésbé rendezett cellulózt is fokozatosan lebonthatja. További hátránya a folyamatnak, hogy a lúg eltávolítása a textíliából öblítő lépések sorozatával, majd egy semlegesítési lépéssel oldható meg. A folyamat során tehát jelentős mennyiségű szennyvíz keletkezik⁴⁰.

A színes kísérőanyagok elszíntelenítése a lúgos főzés után alkalmazott oxidációs fehérítés feladata. Mivel a fehérítés jelentős szálkárosodást okoz, ezért a fehérítés célja a megfelelő fehérségű kelme előállítása oly módon, hogy a cellulóz károsodása minimális legyen. Az oxidációs fehérítéséhez leggyakrabban hidrogén-peroxidot, vagy nátrium-hipokloritot alkalmaznak lúgos közegben.

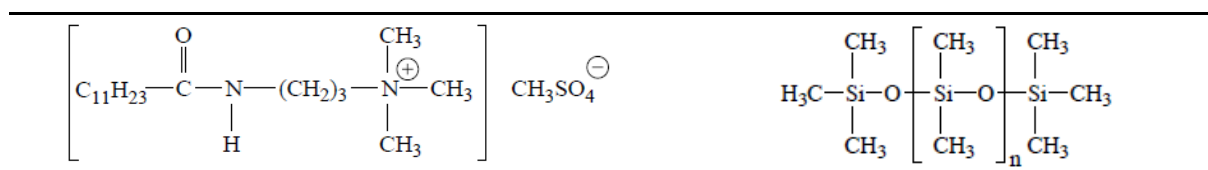
A hidrogén-peroxidos fehérítést lúgos közegben (pH=10,5-11,5) és 80-100 °C hőmérsékleten végzik. A fehérítést a H₂O₂ bomlása során keletkező HO· és HO₂· gyökök végzik. A bomlási sebesség szabályozására fontos a fehérítő fürdő stabilizálása például vízüveggel vagy szerves stabilizátorokkal. A változó vegyértékű fémionok a H₂O₂ bomlását gyorsítják, a fehérítés hatékonyságát rontják, a cellulóz károsodását fokozzák. Káros hatásuk komplexképző adagolásával kiküszöbölhető⁶³. A nátrium-hipokloritos fehérítés feltételei a 9-11-es pH tartományban a legkedvezőbbek, ahol a hipoklorit-ion koncentrációja nagy, és mérsékelt szálkárosodás mellett gyorsan lehet fehéríteni. A len különösen érzékeny az oxidációs fehérítésre. A lúgos főzés és fehérítés során bekövetkező tömegvesztés akár a 25 %-ot, a szilárdságvesztés pedig az 50 %-ot is elérheti⁶⁴.

A folyamatos előkészítési technológiában alkalmazott forró nátrium-hidroxidos és hidrogén-peroxidos kezelés a pamutmaghéjra csak mérsékelten hat³¹, és a folyamat során a maghéj lignin-holocellulóz rendszerének bontása csak részlegesen (kb. 50 %-ban) valósítható meg³⁵. A maghéj degradációjához ugyanis koncentráltabb vegyszeroldatokra, magasabb hőmérsékletre és hosszabb kezelésre van szükség, mint amit a pamut egyéb kísérőanyagainak az eltávolításához alkalmaznak. Az intenzív körülmények között azonban a pamutcellulóz lúgos közegben lejátszódó oxidatív károsodása is bekövetkezhet^{36,37,40,65,66}. A folyamatos lúgos főzési technológia során a maghéj-lignin degradációja a cellulózgyártásban eredményes segédanyagokkal (pl. hidrotróp anyagok, antrakinon, aktív klór tartalmú vegyület) jelentősen fokozható³⁸.

2.2.3 Végkikészítés – fogásjavítás

A lenszövetek lágyításának célja a fogás és az esés javítása, valamint a merevség csökkentése. A szövetek merevsége, kemény fogása és gyenge esése főként a rost-szerkezetnek, valamint a rostkötegekben és az elemi szálakban jelenlévő lignin-tartalmú fás részeknek tulajdonítható⁶⁰. A textilipari lágyítók általában hosszú, 16-18 szénatomból álló lineáris alkil-csoportot tartalmaznak és lehetnek ionosak és nem-ionosak. A kationos lágyítóknál a hosszú alkil-lánc oldhatóságát kvaterner-ammónium-csoportok biztosítják (3. táblázat, bal). Gyakran lágyító diszperziókat alkalmaznak. Legjelentősebbek a nagy molekulatömegű α,ω -dimetil-polisziloxánok, amelyekkel selymes tapintású és sima felületű kelmék nyerhetők (3. táblázat, jobb). A lágyítás során általában javul a gyűrődésfeloldó képesség, a kopásállóság, a nyúlás és a tépőszilárdság is. A textiltép-gyártásban végbement fejlesztéseknek köszönhetően ma már olyan berendezések is alkalmazhatók, amelyekben a szövet intenzív mechanikai igénybevétele eredményezi a merevség mérséklését. A berendezésekben a vegyszeres és mechanikai kezelések kombinálása is lehetséges⁶⁷.

3. táblázat. A textíliák lágyítására használt jellemző vegyületek⁶⁷



2.2.4 A textilkikészítési technológiák környezeti hatásai

A hagyományos nedves textilkikészítési technológiák elsősorban a szennyvíz révén hatnak közvetlenül a környezetre. 1 kg textília előállításához átlagosan 50-100 l víz szükséges. A textilkikészítési technológiák közül az előkészítés terheli leginkább a környezetet, mivel a nagy mennyiségű szennyvíznek magas a szerves anyag tartalma, ami főként a keményítő irányag bomlástermékeinek, valamint a főzés során oldatba kerülő viaszos anyagoknak tulajdonítható; továbbá magas az ion-koncentrációja és a pH-ja. Az ipar vízszennyezésének 17-20 %-a a textilkikészítés során keletkezik^{68,69}.

A textiltechnológiákban kb. 8000 különböző vegyszert használnak és az éves vegyszer felhasználás kb. 6 millió t. A nedves textilkikészítési folyamatok a textilipar teljes energiafogyasztásának kb. 38 %-át használják fel, ami döntően a szárításra és a kezelőoldatok felmelegítésére fordítódik⁷⁰. A textilipari termelés az elmúlt néhány évtizedben folyamatosan nőtt. 2014-ben például az éves textilipari termék felhasználás 11,4 kg/fő volt és további növekedést prognosztizálnak. A növekvő termelés nagyobb környezeti terheléssel jár⁶⁹.

A hagyományos textilkikészítési technológiák fenntarthatóságának a javításával, valamint az új és alternatív technológiák kidolgozásával foglalkozó kutatások célja, hogy az elvárt és megszokott minőség környezetbarát módon legyen elérhető, továbbá a szennyvíz könnyebben kezelhető legyen. A következő területeken születtek jelentős eredmények^{69,73}:

- *A folyamatok hatékonyságnövelése és optimalizálása*: (a) Két vagy több folyamat kombinálása; (b) Az egyes folyamatok paramétereinek optimalizálása; (c) A hideg pihentetéses, valamint a kis fürdőaránnyal működő technológiák preferálása.
- *Vízmentes technológiák alkalmazása*: (a) Digitális nyomás; (b) Plazmakezelés; (c) Folyékony ammóniás kezelés; (d) Szuperkritikus fluidumban végzett technológiák.
- *Környezetbarát textil-segédanyagok, színezékek és egyéb vegyszerek fejlesztése*: (a) Alacsony hőmérsékleten és hatékonyabban megkötődő színezékek; (b) Biodegradálható segédanyagok; (c) Cukor alapú redukálószeres; (d) Fluor-mentes kikészítőszeres.
- *Fejlesztések a textiltég- gyártás területén*: (a) Alacsony vagy ultra-alacsony (1:2) fürdőaránnyal működő berendezések; (b) Számítógép vezérelt folyamatok a vegyszer-, víz- és energia-felhasználás szabályozására és ellenőrzésére; (c) Hatékony (pl. ultrahanggal segített) mosóberendezések; (d) Programozható nagy sebességű kikészítő egységek.
- *Bioanyagok alkalmazása a textilkikészítésben*: (a) A kisebb energia- és vízigényű enzimes technológiák kifejlesztése; (b) Színezés biodegradálható és megújuló természetes színezékekkel; (c) Antimikrobiális hatás kialakítása például természetes színezékek, pácok vagy gyógynövény hatóanyagok felhasználásával.

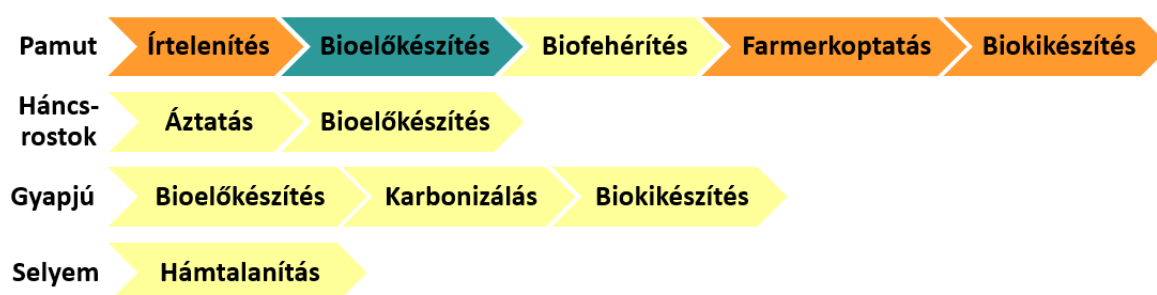
A felsorolt területek közül főként a cellulóz alapú szálanyagok enzimes textiltechnológiai folyamatait, valamint az enzimes folyamatok hatékonyságnövelését vizsgáltam például atmoszférikus hidegplazma kezelés és kisfrekvenciás ultrahang alkalmazásával. Korábban foglalkoztam a vízmentes folyékony ammóniás duzzasztási eljárása is⁵⁴⁻⁵⁸.

2.3 ENZIMES TEXTILTECHNOLÓGIÁK

2.3.1 Bevezetés

Az elmúlt időszakban az ipar számos területén a hagyományos eljárásokat felváltották a környezetbarát, biotechnológiai úton megvalósított technológiák. A textilkikészítésben is hasonló változások játszódtak le és a folyamatot textil biotechnológiának nevezzük^{74,40}. A természetes szálak fő alkotói a zsírok, viaszok, keményítő, hemicellulózok, cellulóz, különböző fehérjék, stb., amelyek enzimkatalizált reakciókban eredményesen módosíthatók. A természetes szálak feldolgozása során tehát számos lehetőség van enzimek alkalmazására (11. ábra).

A régóta használt amiláz enzim irtelenítésén kívül ma már enzimek alkalmazhatók a pamut természetes kísérőanyagainak az eltávolítására (bioelőkészítés), a koptatott külső kép (pl. farmerkoptatás), vagy a sima, pillíngesedés-mentes felület kialakítására és a fogás javítására (biokikészítés). Intenzíven kutatott terület a pamut biofehérítése, továbbá más természetes szálak (pl. len, kender, gyapjú, hernyóselyem) tisztító műveleteinek enzimmel segített megvalósítása, és a legfontosabb szintetikus szálak [pl. poliészter, poliamid, poli(akril-nitril)] felületi tulajdonságainak enzimkatalizált módosítása¹³⁷. Egyes kutatók szerint a textiltechnológia szinte minden lépésében – a száltól a végtermékig – eredményesen alkalmazhatók az enzimek^{44,75}.



11. ábra. A természetes szálasanyagok enzimikus textiltechnológiai folyamatai⁷⁵

Színek: narancs: ipari technológia; türkizkék: meglévő technológia; sárga: fejlesztés alatt lévő technológia

Kutatómunkámban az enzimikus irtelenítéssel, a bioelőkészítéssel és biofehérítéssel, valamint a biokikészítéssel foglalkoztam. A következő fejezetekben részletesen bemutatom a folyamatokban eredményesen alkalmazható legfontosabb enzimeket és az egyes folyamatok alapvető jellegzetességeit. Döntően kereskedelmi forgalomban kapható hidrolitikus enzimekkel dolgoztam. Két kísérletsorozatban azonban szilárd fázisú fermentációval (SSF) előállított enzimek hatását vizsgáltam.

2.3.2 Az enzimek általános jellegzetességei

Az enzimek élő sejtek által termelt fehérje makromolekulák, amelyek nagy hatékonysággal és kíméletes körülmények (hőmérséklet és pH) között kémiai reakciókat katalizálnak. Nem változtatják meg a termodinamikai egyensúly helyét, de az egyensúly elérését gyorsítják és az aktiválási energiát csökkentik azáltal, hogy a reakciót „más útra” terelik. A „más út” az enzim-szubsztrát átmeneti komplex létrehozása. Az átmeneti komplexben a szubsztrátum átalakulása gyorsabb, mint a komplexen kívül, így a reakciósebesség több nagyságrenddel is növekedhet⁷⁶. Az enzimek csak bizonyos meghatározott szubsztrátumra hatnak (szubsztrát specifikusság), és az adott szubsztrátumon csak meghatározott kémiai reakciót katalizálnak (hatás specifikusság).

Az összes ipari enzim kb. 17 %-át a textil-, bőr- és szőrmeipar használja⁷⁵. A textiliparban sikeresen alkalmazott enzimek döntően hidrolázok (amilázok, cellulázok, proteázok, pektinázok, lipázok) és oxidoreduktázok (főként lakkázok)^{40,44}. A kereskedelmi fogalomban lévő hidrolitikus enzimeket süllyesztett fermentációval (SF) termeltetik¹⁴¹, ami könnyebben kézben tartható és jobban szabályozható, mint a szilárd fázisú fermentáció. Ugyanakkor, az SSF termelékenysége nagyobb, a végtermék koncentrációja magasabb, a fermentum sokáig tárolható, nem képződik szennyvíz, alacsonyabb a beruházási és működtetési költsége, továbbá a feldolgozási műveletek egyes esetekben elhagyhatók. Az SSF szerepe a lignocellulázok ipari felhasználása során is folyamatosan nő⁷⁷.

2.3.3 Enzimes írtelenítés

Az amiláz enzimekkel végzett írtelenítés a legrégebbi és legsikeresebb enzimes textiltechnológia. A keményítő irányag hidrolitikus degradációja során kisebb molekulatömegű fragmentumok keletkeznek, amelyeket az enzimes kezelést követő mosás során távolítanak el a szövetből⁷⁸. A keményítő lebontásához amiláz enzimeket (α - és β -amiláz, valamint glükó-amiláz) használnak. Az α -amilázok (endo-amilázok) véletlenszerűen hasítják a polimer α -(1-4) glikozidos kötéseit, miközben különböző molekulatömegű lineáris és elágazott szerkezetű oligoszacharidok (dextrinek) keletkeznek. Az exo-amilázok csoportjába tartozó β -amiláz hatására maltóz, a glükó-amiláz hatására pedig glükóz molekulák válnak le a nem-redukáló láncvégről. Az amilopektin molekula elágazásainál lévő α -(1-6) kötések bontására az izoamiláz és a pullanáz enzimek képesek. Az írtelenítés hatékonysága elsősorban az enzimkomplex α -amiláz aktivitásától függ⁷⁹.

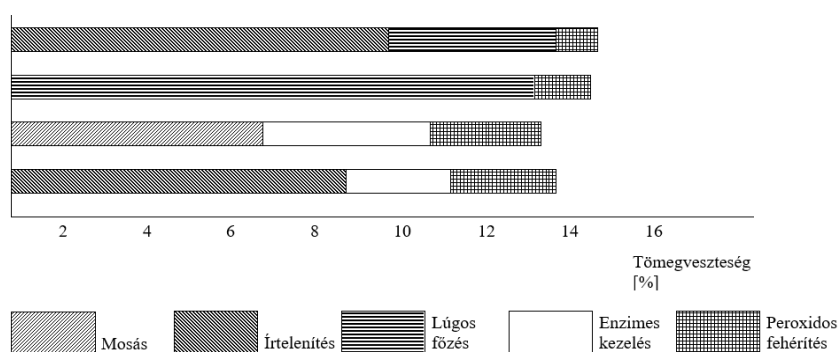
Az α -amiláz működéséhez kalcium-ion szükséges, emiatt keményvízben végzik az írtelenítést. A kalcium-ion valószínűleg az enzim aktív helyeit stabilizálja azáltal, hogy a beépülésével kialakuló keresztkötés rögzíti a molekulaszervezetet⁸⁰. A kalcium növeli az enzim hőstabilitását, tenzidekkel szembeni ellenálló képességét, valamint lassítja az α -amiláz spontán aktivitás csökkenését⁸¹. A hőstabilitás fontos, hiszen magasabb hőmérsékleten a szál és a keményítő irányag duzzadása fokozódik, ami javítja az enzim hozzáférhetőségét és a hidrolízis hatékonyságát⁴⁰.

Az írtelenítésre használt amilázok aktivitása általában a pH 5,5-7,0 tartományban és 25-55 °C között maximális. A hőstabil amilázokkal 95 °C fölött is lehet írteleníteni, így alkalmazhatók a folyamatos technológiákban. Az enzimoldat nem-ionos nedvesítőszer is tartalmaz. Az enzimes írtelenítés során a cellulóz nem károsodik. A folyamatnak lényegesen kisebb az energia- és vízigénye, mint a vegyszeres folyamatnak, továbbá a keletkező szennyvíz mennyisége kisebb, vegyszermentes és könnyebben kezelhető^{79,60}.

2.3.4 Bioelőkészítés

A bioelőkészítés célja a cellulóz alapú szálanyagok természetes kísérőanyagainak enzimmel segített eltávolítása, és ennek révén jó és egyenletes nedvszívóképességű textília előállítása. A pamutszál hidrofób karaktere a viaszban gazdag kutikulának és a primer falnak tulajdonítható. A primer fal tömegének több mint 50 %-át kevésbé kristályos cellulóz alkotja (1. táblázat). A cellulóz fibrillák hálós szerkezetet hoznak létre, amely a nem-cellulóz komponensek (viaszok, pektinek, fehérjék) által létrehozott amorf mátrixban van beágyazva. Nem-ionos nedvesítőszer alkalmazása nagymértékben segíti az enzim hozzáférhetőségét a hidrofób szálfelületen lévő szubsztrát molekulákhoz^{82,83}.

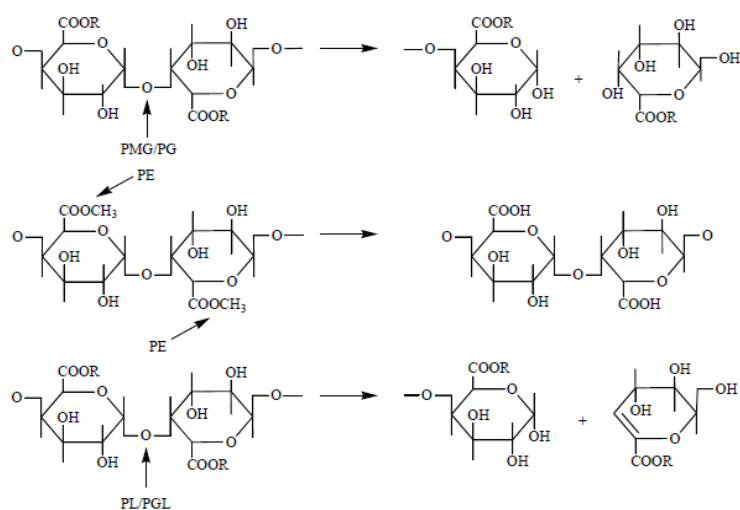
A pamut természetes kísérőanyagainak enzimes eltávolításával először a kilencvenes évek elején foglalkoztak. Enzimes folyamatokat kombináltak a hagyományos vegyszeres előkészítés egyes lépéseivel, és a vizsgált esetekben közel azonos tömegvesztést (12. ábra), nagyobb szakítószilárdságot és kisebb fehérséget értek el, mint a vegyszeres folyamatban^{84,71}. Pektináz enzimeket alkalmazva vizsgálták a pamutszál felületi rétegeiben lévő pektin enzimes degradációjának a kinetikáját⁸⁵. A celluláz enzimes kezelést hidrogén-peroxidos fehéritéssel is kombinálták. Az enzimes kezelés után nedvesedő szövetet kaptak, aminek a nedvesedőképessége tovább javult a fehérités során. A celluláz enzimes előkezelés javította a hidrogén-peroxidos fehérités után mérhető fehérséget is. Az enzimes kezelés kb. 6 %-os, az azt követő fehéritéssel együtt pedig kb. 10 %-os tömegvesztést okozott⁸⁶.



12. ábra. A pamutszövet tömegvesztése a celluláz enzimes kezelés és más hagyományos előkészítési folyamatok egymást követő alkalmazása esetén⁷¹

A kilencvenes évek második felében a kutatók és enzimgyártók elsősorban arra a kérdésre keresték a választ, hogy milyen enzimekkel lehet a hidrofíl szálfelületet kialakítani. Főként celluláz, pektináz, proteáz és lipáz enzimek hatását vizsgálták a nedvesedőképességre, a tömegvesztésre, a szakítószilárdságra és a színre. Jellemezték a textília színezhetőségét, fogását, pillingesedési hajlamát, valamint az enzimes folyamat környezeti hatásait és gazdasági vonatkozásait⁴⁰.

A nyers pamut enzimes előkészítése során a pektin degradációja a fő folyamat. A pektináz enzimek a kutikula mikropórusain és repedésein keresztül eljutnak a kutikula és a primer fal pektinben gazdag rétegéhez (6.a ábra), és katalizálják annak degradációját. Mivel a pektin mátrix polimer, degradációja révén a többi kísérőanyag is eltávozik a felületről. Bekövetkezik a viaszos kutikula „lehámozódása”. A folyamat azonban nem teljes, de megfelelő mértékű ahhoz, hogy a szárfelület jól nedvesedő legyen. Celluláz enzimekkel is hidrofil szárfelület nyerhető. A kezelés során – az imént ismertetett elvhez hasonlóan – a szárfelület kb. felét kitevő cellulóz hidrolizálódik, és ezáltal a nem-cellulóz komponensek is eltávolíthatók a felületről^{26,87-90}.



13. ábra. A pektináz enzimek hatásmechanizmusa⁹¹

Jelölések: PG és PGL esetén R=H; PMG és PL esetén R=CH₃

ak pedig az észterezett molekularészekben hasítják az α -(1-4)-glikozidos kötéseket. (3) A pektát-liázok (PGL) a nem észterezett, a pektin-liázok (PL) pedig az észterezett polimerlánc α -(1-4)-kötéseit lúgos közegben, β -eliminációs reakcióban hasítják oly módon, hogy a 4-es és 5-ös szénatom között kettős kötés alakul ki. A (2) és (3) csoport enzimeji esetén endo- és exo-enzimekből álló enzimszisztéma katalizálja a hidrolízist⁹¹.

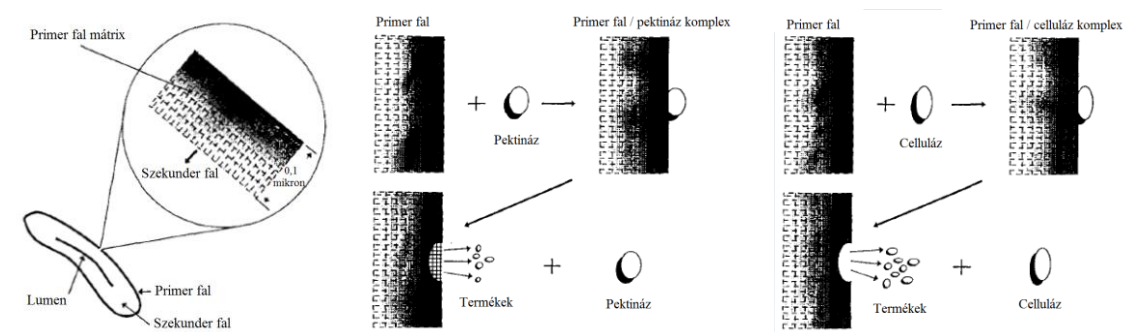
A savas közegben aktív pektinázokat általában fonalgombák (pl. *Aspergillus niger*) termelik, a lúgos közegben hatékonyakat pedig főként baktériumok. A *Bacillus pumilus* BK2 által termelt és tisztított endo-PL enzimmal a bioelőkészítés során kb. 80 %-os pektin eltávolítást értek el. A pektinázok az ipari enzimek kb. 10 %-át teszik ki és általában celluláz kísérőenzim tartalommal kerülnek forgalomba⁹¹.

A pektinben lévő kalcium-ionok komplexbe vitele fokozza az enzimes degradációt^{13,14}, de a komplexképző az enzim molekula szerkezetét és működését is befolyásolhatja. Vannak olyan enzimek, amelyek tartalmazznak – általában két vegyértékű – fémionokat (leg-

A pektinázok három fő csoportba oszthatók (13. ábra): (1) A pektin-észterázok (PE) az észterezett karboxil-csoportok észter kötéseit bontják, és ezáltal csökkentik a pektin észterezettségi fokát. (2) A poli-galakturonázok (PG) és a poli-metilgalakturonázok (PMG) a pektin molekula hidrolitikus degradációját katalizálják. Az előbbieket a nem észterezett, az utóbbiak pedig az észterezett molekularészekben hasítják az α -(1-4)-glikozidos kötéseket. (3) A pektát-liázok (PGL) a nem észterezett, a pektin-liázok (PL) pedig az észterezett polimerlánc α -(1-4)-kötéseit lúgos közegben, β -eliminációs reakcióban hasítják oly módon, hogy a 4-es és 5-ös szénatom között kettős kötés alakul ki. A (2) és (3) csoport enzimeji esetén endo- és exo-enzimekből álló enzimszisztéma katalizálja a hidrolízist⁹¹.

gyakrabban Mg, Ca, Zn, Fe, Cu, Mo), amelyek fontos szerepet játszanak az enzim-szubsztrát komplex stabilizálásában⁷⁶. A fémionok eltávolítása komplexképzéssel károsíthatja az enzim terciér szerkezetét, aminek következtében az enzimaktivitás csökkenhet. Számos bakteriális pektát-liáznak a működéshez szüksége van kalcium-ionra és ezekre az EDTA inhibitorként hat⁹²⁻⁹⁴.

A pektináz és celluláz enzimek hatása a tömegveszteségre és a szakítószilárdságra jelentősen különbözik. A 14.a ábra a pamut elemi szál vese alakú keresztmetszetét mutatja, a szárfelület kinagyított rajza pedig a cellulózból felépülő hálós szerkezetet illusztrálja. A nem-cellulóz komponensek koncentrációja a szárfelület irányába növekszik. A hálós szerkezetben a nem-cellulóz komponenseket a pektin tartja össze. Pektináz enzim hatására a pektin, és vele együtt más nem-cellulóz kísérőanyagok, pl. viaszok, eltávolíthatók a szárfelületből, de a cellulóz fibrillák változatlanok maradnak (14.b ábra). Celluláz enzim hatására viszont a cellulóz „háló” degradálódik, ami a nem-cellulóz kísérőanyagok eltávolítását is elősegíti (14.c ábra). A folyamat lényegesen nagyobb tömegveszteséggel jár (6-10 %), mint a pektináz enzim hatására (0,5-3,5 %), ami arra utal, hogy a hidrolízis nem korlátozódik a szál legkülső rétegeiben lévő amorf cellulózra, és a szekunder fal kristályos cellulóz alkotója is hozzáférhetővé válik az enzim számára²⁶.



a. Pamut primer fal mátrix **b.** Pektináz enzim hidrolízis **c.** Celluláz enzim hidrolízis

14. ábra. (a) A pamut elemi szál legkülső rétegének sematikus rajza; (b) A pektináz és (c) a celluláz enzimek pamut elemi szál felületén kifejtett hatásának illusztrálása²⁶

A jelentős tömegveszteség a szakítószilárdság romlásához vezet. Cellulázok esetén a száldegradáció elkerülése érdekében fontos a folyamat paramétereinek a kontrollálása⁴⁰. Pektináz és celluláz enzimek együttes alkalmazása rendkívül eredményesnek bizonyult, ugyanakkor jelentős tömegveszteséget okozott⁸⁷. Pektináz és celluláz, valamint pektináz, proteáz és celluláz együttes alkalmazásával a nedvesedőképesség és a pektin eltávolítás mértéke a lúgos főzéssel elérhetővel megegyező volt. Lipáz és proteáz enzimek sokkal kevésbé hatékonyak, mint a cellulázok és a pektinázok. A trigliceridek degradációját katalizáló

lipázokkal csupán a viasz 1 %-át sikerült eltávolítani, amit egyrészt a viasz alacsony triglicerid tartalmával, másrészt annak nem megfelelő hozzáférhetőségével magyaráztak. Feltételezhető az is, hogy a lipázok nem képesek a viaszréteget alkotó különböző kémiai szerkezetű vegyületek degradációját katalizálni. A proteázok sikertelensége elsősorban azzal magyarázható, hogy a szálfelületen lévő proteinek nem hozzáférhetők az enzim számára^{44,89-90}.

1999-ben forgalomba hozták a BioPrep3000L (Novozymes) márkanévű bakteriális (*Bacillus sp.*) eredetű, lúgos közegben aktív (pH 7,5-10,5) és kísérőenzim-tartalom nélküli pektát-liáz enzimet, amely specifikusan a nem-észterezett pektin glikozidos-kötéseit hasítja. Lúgos közegben a felületen lévő kísérőanyagok duzzadnak és a hozzáférhetőségük nő; a degradációt követően a viaszos bomlástermékek a jelenlévő felületaktív anyagokkal jól emulgeálhatók és a lúgos oldatban tarthatók. További előny, hogy a lúgos bioelőkészítést általában a szintén lúgos közegben végzett fehérítés követi. A forgalomban lévő és alkálikus közegben aktív pektináz enzimeket elsősorban a pamut kötött kelmék szakaszos bioelőkészítésére ajánlják⁷⁵. A savas közegben aktív pektinázok is hatékonyak a pektin hidrolízisében⁹⁵.

Az enzimes kezelés után alkalmazott, 90 °C-on, nedvesítőszer és komplexképző jelenlétében végrehajtott mosással az enzimes kezelés időtartama néhány percre csökkenthető. A komplexképző a pektinben lévő kalcium-ionok komplexbe vitele révén segíti a pektin, és ezzel együtt a viaszos anyagok eltávolítását a szálfelületről⁹⁶. A rövid kezelési idő lehetővé teszi a folyamat integrálását a folyamatos technológiai sorba. Az EDTA komplexképző az enzimmel együtt alkalmazva enzimaktivitás csökkenést is okozhat⁹⁰.

A pamut bioelőkészítését leggyakrabban szakaszos technológiában vizsgálják, a szálasanyag tömegére vonatkoztatott 0,1-10 % enzimkoncentrációval, az enzim optimális működésének megfelelő hőmérsékleten (50-60 °C) és pH-n (7-9), a fürdőarányt (1:10-1:50) és a reakcióidőt (0,5-8 óra) széles intervallumban változtatva. A folyamat eredményessége, hasonlóan más heterogén fázisú enzimes reakciókhoz, jelentősen fokozható rázatással (mozgatással)⁹⁵⁻⁹⁷. Nem-ionos tenzidek az enzimes hidrolízist és az azt követő mosást is segítik, továbbá hozzájárulnak a bomlástermékek oldatban tartásához⁹⁵.

A bioelőkészített szövet nedvesedőképesége jó, fehérsége azonban elmarad a hagyományosan főzött szövetétől⁸⁸. A bioelőkészítést követő hidrogén-peroxidos fehérítés után viszont már megegyezik a fehérség a hagyományosan főzött szövet fehérségével⁹⁸. A bioelőkészített szövet egyenletesen színezhető direkt²⁶, vagy reaktív⁹⁸ színezékekkel. Fehérítés nélkül színezve jelentős a színkülönbség a bioelőkészített és lúgos főzött szövetek között. Fehérített szöveteket színezve viszont a színkülönbség eltűnik. Mivel csak a viasz egy része távozik a felületről, a kelme fogása lágyabb, mint a hagyományosan főzötté. A szakítószilárdság nem csökken, hiszen a cellulóz nem degradálódik.

A len bioelőkészítésével foglalkozó első közlemények 2005 körül jelentek meg, és a len nem-cellulóz kísérőanyagainak az eltávolítására a pamutnál bevált enzimeket alkalmaztak. BioPrep3000L enzim már 0,2 %-os koncentrációban (pH 8,5; 45 perc; 60 °C) jól nedvesedő lenszövetet eredményezett, a tömegveszteség 7,7 %, a szakítószilárdság csökkenés pedig kb. 5 % volt⁹⁹. Hemicelluláz és pektináz aktivitással rendelkező enzimmel – a körülményektől függően – a nyers lenszövet teljes kísérőanyag tartalma (24,9 %) eltávolítható volt, de a folyamat akár 36 %-os szilárdságveszteséggel és számottevő egyensúlyi nedvességtartalom csökkenéssel járt. 12 %-os tömegveszteség esetén jelentősen javult a nedvzívóképesség, a fehérség és a színezhetőség, miközben a szakítószilárdság romlása mérsékelt volt¹⁰⁰. Xilanáz és celluláz enzimek együttes alkalmazása jól nedvesedő szövetet eredményezett, lényegesen kisebb tömegveszteség mellett. A lignin-tartalom és fehérség azonos volt a lúgos főzés után mért értékekkel¹⁰¹.

A bioelőkészítés kidolgozásának fő hajtóereje a lúgos főzés vegyszerigényének, valamint a lúgos kezelést követő öblítő lépések nagy vízigényének a csökkentése volt. Mivel a bioelőkészítést enyhén lúgos közegben végzik, az öblítő lépések száma jelentősen csökkenthető, ami 50-70 %-kal kisebb vízfelhasználást eredményez¹⁰². A folyamat hátránya a hosszú reakcióidő, továbbá az, hogy a bioelőkészítés a pamutmaghéjak eltávolítására nem alkalmas⁴⁴, mivel a maghéjak lignin-holocellulóz rendszerének bontása és a maghéj degradációja pektináz enzimekkel nem lehetséges^{103,104}.

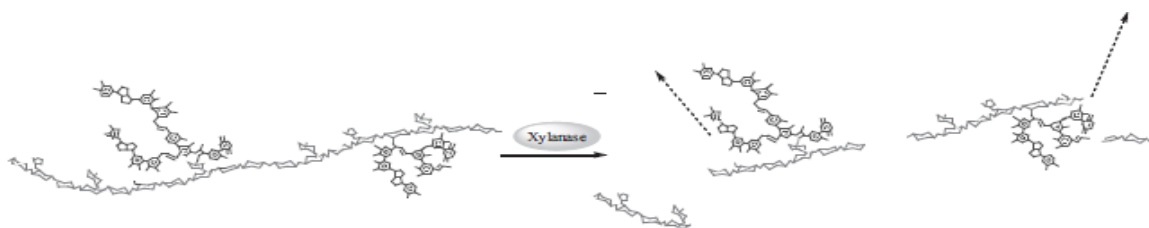
2.3.5 Biofehérítés

A biofehérítés célja a cellulóz alapú szálanyagok színes kísérőanyagainak a degradációja és/vagy eltávolítása enzimkatalizált reakciókkal. Főként a xilanázok, valamint a lignin degradációját katalizáló oxidatív enzimek hatását vizsgálták⁷⁵.

Az endo-1,4- β -D-xilanázok véletlenszerűen hasítják a xilánban lévő β -1,4-kötéseket, a keletkező xilo-oligoszacharidokat pedig a β -xilozidázok hidrolizálják D-xilózzá. További enzimek (pl. α -L-arabino-furanozidázok, α -glükuronidázok) az oldalláncok lehasításában és az acetyl-csoportok hidrolízisében (acetyl-xilán-észteráz) vesznek részt. Számos gomba (pl. *Trichoderma harzianum*) és baktérium (pl. *Bacillus subtilis*) képes a xilanázok termelésére. A gomba eredetű xilanázok általában savas vagy semleges közegben működnek. A bakteriális xilanázok között vannak savas és lúgos közegben eredményes és hőstabil enzimfajták is¹⁰⁵.

A xilanáz enzimes kezelés indirekt fehérítési módszer, mivel a xilanáz nem hat a színeért felelős ligninre, de a lignin-tartalom csökkenését eredményezi. Hőstabil, lúgos közegben aktív és celluláz-mentes xilanáz enzimeket – főként endo-xilanázokat – alkalmaznak a folyamatban¹. Egyik lehetséges mechanizmus szerint a xilanáz a ligninhez kémiaiilag kötődő

xilán hidrolízisét katalizálja a lignin-szénhidrát komplexben. A xilánok hidrolízise révén módosul a szubsztrátum szerkezete és nő a hozzáférhetősége az enzimes kezelést követő kémiai kezelések (pl. fehérítés) vegyszereivel szemben. Ennek révén a lignin eltávolítása eredményesebbé válik és javul a világosság (15. ábra)¹. Jelentős fehérség/világosság javulást értek el juta-¹⁰⁶ és pamutszövet¹⁰⁷ xilanázos kezelésével. A papíriparban a xilanáz enzimes kezelés, mint előfehérítés alkalmazásával a vegyszerfelhasználás az azt követő kémiai fehérítés során kb. 10-20 %-kal csökkenthető¹⁰⁸.



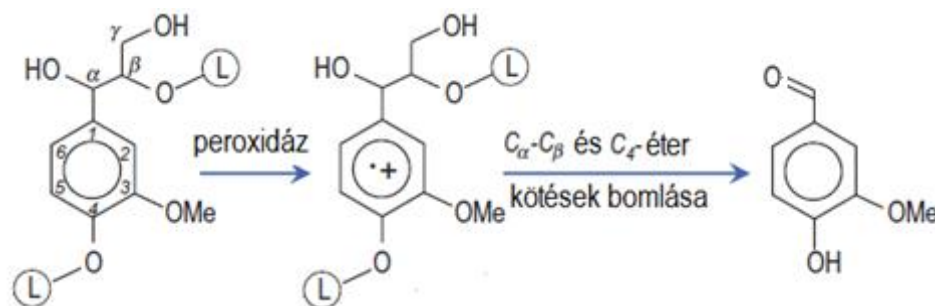
15. ábra. A xilanáz enzimmel végzett biofehérítés egy lehetséges mechanizmusa¹

Az *Aspergillus versicolor* által termelt endo-xilanáz aktivitása EDTA jelenlétében közel a felére csökkent, mivel a működéséhez kalcium-ion szükséges¹⁰⁹. Az enzimaktivitást azonban nem befolyásolta az EDTA adagolása akkor, amikor a kötőhely tartalmazott kalciumot¹¹⁰. A celluláz kísérőenzimtól mentes, hőstabil alkálikus xilanázokat elsősorban a papíriparban használják előfehérítésére¹⁰⁸. Az utóbbi időben egyre több publikációban említik a xilanázok textilipari alkalmazását¹⁰⁶.

Az enzimes lignindegradáció ígéretes biofehérítési technológia, de még nincs ipari alkalmazása. Elterjedésének legfontosabb akadálya az enzimek magas ára. Főként a mangán-peroxidázzal és a lakkázzal végzett kísérletek eredményesek, de a lignin-tartalom csökkenés nem mindig párosul a világosság növekedésével. Az enzimes folyamatot követő kémiai fehérítési lépésben viszont minden esetben javul a világosság és további jelentős lignin-tartalom csökkenés is bekövetkezik. Az enzimes kezelés során a ligninben kialakuló reaktív csoportok (pl. α -karbonil-csoport) ugyanis a hidrogén-peroxiddal könnyen reakcióba vihetők, és ezáltal fokozódik a lignin fragmentációja és eltávolítása¹.

A ligninben lévő fenil-propán egységeket összekapcsoló szén-szén és éter-kötések bontása redox-reakciókkal lehetséges. Feltételezhető, hogy a lignin enzimes degradációja redox mediátorok segítségével zajlik, amelyek molekulamérete megfelelően kicsi ahhoz, hogy a pórusokon keresztül elérjék a sejttal lignifikált régióit és ott katalizálják az aromás gyűrű oxidációját. A hatékony ligninbontó enzimeket a fehérgombák (pl. *Phanerochaete chrysosporium*) termelik¹¹¹. A lignindegradációt katalizáló oxidatív enzimek fontos képviselői a lignin-peroxidázok (LiP) és a mangán-peroxidázok (MnP). A LiP a ligninben nagy mennyiségben jelenlévő nem-fenolos egységeket is képes degradálni, míg a

MnP kizárólag a lignin fenolos egységeit támadja. A reakcióban keletkező instabil aromás kation-gyök bomlik, és az aromás gyűrűhöz kapcsolódó csoportok (C_α - C_β and C_4 -éter) degradációja révén aromás aldehidek (pl. vanillin) keletkeznek (16. ábra)¹¹². A *Ph. chrysosporium* képes az enzimek katalitikus ciklusához szükséges hidrogén-peroxidot biztosító glioxál-oxidáz enzim termelésére is¹¹³.



16. ábra. A lignin enzimes degradációjának egyszerűsített vázlata¹¹²

A lakkáz (Lac) enzim a lignin polimerizációjában és depolimerizációjában is részt vesz¹¹⁴. Önmagában csak a fenolos lignin egységeket képes oxidálni, redox mediátorok alkalmazásával azonban már a nem-fenolos lignint is. Bebizonyították, hogy lignin degradációs termékek, mint természetes lakkáz mediátorok működhetnek a biodegradációs folyamatban. A legtöbb izolált és jellemzett lakkáz gomba eredetű. Hosszú ideig a LiP-t, ma inkább a lakkázt tekintik a lignin biodegradációjában legfontosabb enzimnek. A lakkáz működéséhez ugyanis csupán oxigénre van szükség, míg a peroxidázokhoz hidrogén-peroxidra. Legeredményesebb a delignifikáció a három enzim együttes alkalmazásával. Feltételezik, hogy a lignin degradáció kezdeti szakaszában a lakkázok hatnak, és amikor már vannak peroxid bomlástermékek a rendszerben, akkor megkezdik működésüket a peroxidázok¹¹⁴. Természetes környezetben a lignindegradáló gombák lignocellulóz szubsztráton nőnek, és mindig termelnek hemicelluláz és celluláz enzimeket is¹¹⁶.

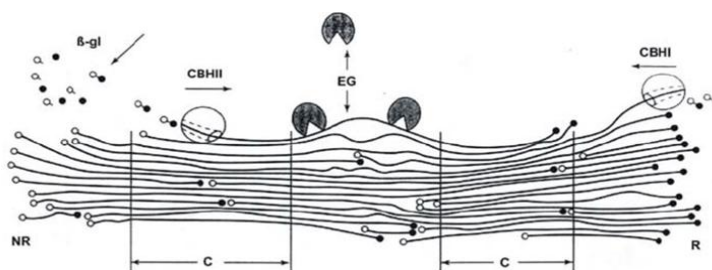
A lignin enzimes degradációja a bioelőkészítés és biofehérítés során is fontos, hiszen a végső cél az, hogy a cellulóz alapú szelasanyagok tisztító műveleteinek valamennyi részfolyamata biotechnológiai úton legyen megvalósítható. Főzött lenszövet lakkáz enzimes biofehérítése során a fehérség javulása és a lignin-tartalom csökkenése kismértékben elmaradt a hidrogén-peroxidos fehérítés során mért változástól²¹⁰. Lakkáz enzimes kezelés, mint előfehérítés után kisebb hidrogén-peroxid koncentrációval érték el a kontroll (vegyszeresen fehérített) minta világosság értékét, és a szövet szakítószilárdsága is kedvezőbb volt⁹⁹. A xilanázos és lakkázos előfehérítést egymás után alkalmazva javultak a rost tulajdonságok és jelentős volt a kémiai fehérítés során a vegyszer megtakarítás¹¹⁷.

2.3.6 Biokikészítés

A szálanyagok végső, a felhasználó számára fontos tulajdonságainak a kialakításában is eredményesen alkalmazhatók az enzimek. A biokikészítés célja: jó minőségű, kiváló felületi tulajdonságú textiltermékek előállítása környezetet károsító vegyszeres kezelés nélkül. A cellulóz alapú szálanyagok biokikészítésekor celluláz-hemicelluláz enzimeket alkalmaznak mozgató rendszerben.

A cellulázok endo- és exo-enzimekből álló enzimszisztemek. Az endo-1,4- β -D-glükánáz véletlenszerűen hasítja a cellulóz glikozidos-kötéseit a szilárd szubsztátum kevésbé rendezett részein. A keletkező oligomerek végéről a cellobiohidrolázok (CBH; exo-enzimek) cellobióz egységeket hasítanak le (17. ábra) és képesek a kristályos egységek molekula láncainak a hidrolízisére is. A gombák pl. a *Trichoderma reesei*, általában két féle CBH-t termelnek: a CBHI a cellulóz lánc redukáló végét, a CBHII pedig a nem redukáló végét támadja. A cellobióz hidrolízist glükózzá az 1,4- β -glükózidáz katalizálja. Az endo- és exocellulázok működésére a szinergizmus jellemző¹⁵¹⁻¹⁵³. Az ipari cellulázok döntően gomba eredetűek és kiemelkedő jelentőségűek a *Trichoderma* és *Aspergillus* fajok¹²¹.

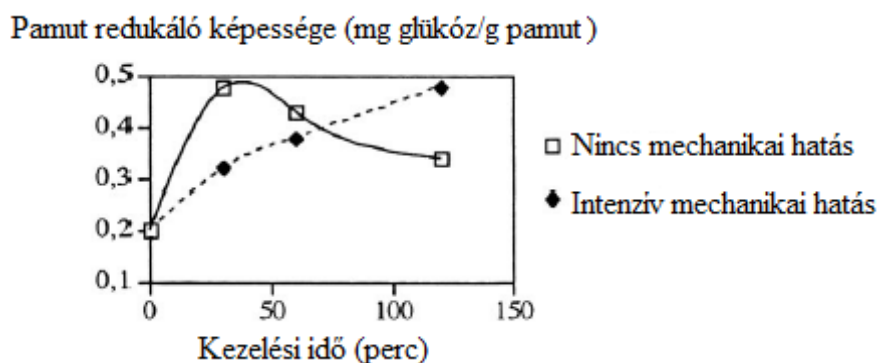
A biokikészítés legsikeresebb példája az enzimes farmerkoptatás (*biostoning*), amely a nyolcvanas évek végétől kezdve szinte teljesen kiszorította a korábban alkalmazott kőmosást. Hasonlóan sikeres ipari technológia a cellulóz alapú szálanyagok pillingesedési hajlamának csökkentése (*biopolishing*), amely a felületből kiálló laza, rövid szálvégek eltávolításával éri el a kívánt hatást. Enzimes kezeléssel jelentősen javítható a len- és kender-tartalmú kelmék fogása és esése is. A közelmúlt divatirányzatainak megfelelő – viseletes, kopott hatást keltő, puha, lágy fogású, tompa és hamvas színű – termékek (speciális színezést követően) enzimes kezeléssel érhetők el. Gyakran konfekcionálás után alkalmazzák az enzimes kezelést, így a varratok mentén, a vastagabb kelmerészeknél intenzívebb színhalványulás/fakulás érhető el¹²².



17. ábra. A cellulóz heterogén fázisú enzimekatalizált hidrolízise. A cellulázok működésének sematikus ábrázolása¹²³

Jelölések: C – kristályos cellulóz; R – redukáló láncvég (●); NR – nem redukáló láncvég (○); EG – endoglükánáz enzim; CBHI és CBHII – cellobiohidroláz enzimek; β -gl – β -glükózidáz enzim

A biokikészítés során a celluláz enzim aktivitása (EG, CBH) és a mozgatott rendszerben fellépő nyíró erők együttesen határozzák meg a szál felületi tulajdonságait, a kelme tömegvesztését és szakítószilárdságát. Az EG-k a hidrolízis kezdeti szakaszában – mechanikai hatás nélkül – gyorsan reagálnak a pamutszál felületén a hozzáférhető cellulóz láncokkal és növelik az új láncvégek (redukáló végcsoportok) számát (18. ábra, □), majd a szerepük valószínűleg végetér. A mozgatás jelentősen fokozza az EG mozgékonyágát, és az intenzíven mozgatott rendszerben (acélkoronggal) növekszik az adszorpciós helyek elérhetősége az EG számára. A fokozódó reverzibilis enzimadszorpció eredményeképpen lejátszódó hidrolízis során pedig folyamatosan nő a redukáló végcsoportok mennyisége a szálfelületen (18. ábra, ♦)¹²⁴. Az EG-k hatására a polimerizációs fok jelentősen csökken, de egyedül nem képesek a pamut hidrolízisére. A CBH-k lassabban hatnak, a láncvégek számát nem változtatják meg, fokozatosan hidrolizálják a láncokat és képesek a pamut teljes hidrolízisére^{125,126}.



18. ábra. A pamut redukáló képességének alakulása az endoglükánáz (EG) hatására a kezelés időtartamának a függvényében, acél korong nélkül (□) és acél koronggal (♦)¹²⁴

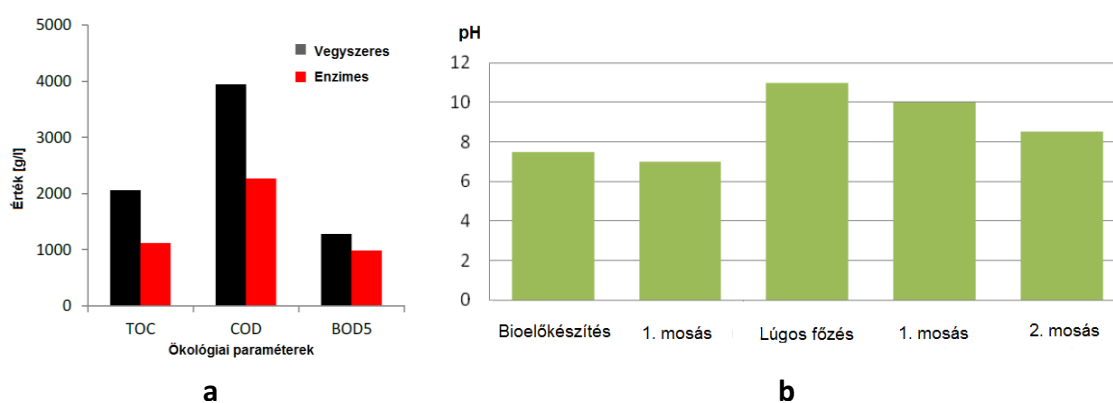
A mechanikai hatás eltérő módon hat az enzimkomplex egyes komponenseinek (EG, CBH) az aktivitására. Az intenzív mozgatás nagyobb mértékben növeli az EG-k látszólagos aktivitását, mint a CBH-két¹²⁴. Az EG-ban gazdag enzim intenzív mechanikai hatás esetén képes mikrofibrillákká bontani a pamutszövetet, ugyanakkor a CBH-ban gazdag enzim nem változtatja meg az eredeti szövetszerkezetet. Álló rendszerben teljes cellulázzal hasonló tömegvesztést mértek a puplin (sima) és flanell (bolyhos) szövetek esetén, ami bizonyítja, hogy a szövetdegradáció mechanizmusa azonos. Intenzíven rázatott rendszerben viszont a flanell szövet tömegvesztése lényegesen nagyobb volt a puplinénál, a szakítószilárdság csökkenése pedig kisebb. A flanell szövet felületi bolyhos rétege eltűnt és a mikrofibrillák a kezelőoldatba kerültek mérhető mennyiségben. A degradáció mechanizmusa rázatott rendszerben tehát eltérő. Rázatással elsősorban a felületi szálak és fibrillák degradációja és eltávolítása fokozható^{127,128}. EG-ban gazdag enzimból készített termékek biokikészítése is megvalósítható jelentős cellulóz degradáció nélkül. Megfelelő mértékű nyí-

ró hatás, amit a kelme mozgatása idéz elő, a szárfelületből kiálló fibrillák leszakítását eredményezi¹²⁶. A biokikészítés során a celluláz enzimeket mozgatott rendszerben alkalmazzák (pl. jet berendezés, forgódobos mosógép). Végző soron tehát az alkalmazott berendezéssel (pl. jet – erős, motolláskád – gyenge mechanikai hatás) jelentősen befolyásolható az enzimes kezelés során elérhető hatás.

2.3.7 Az enzimes textiltechnológiák környezeti hatásai

A bioelőkészítés és biokikészítés környezetre gyakorolt hatását a hagyományos vegyszeres technológiával összehasonlítva vizsgálják. A szennyvíz vizsgálata azt bizonyítja, hogy például a pamut kötött kelme pektináz enzimmel végzett kombinált bioelőkészítése és fehérítése után a fürdő valamennyi mért jellemzője kisebb (teljes szerves anyag koncentráció /TOC/ 20 %-kal, kémiai /COD/ és biológiai oxigén igény /BOD/ 41 és 31 %-kal), mint amit a lúgos főzés és fehérítés után mértek (19.a ábra)¹²⁹.

Az enzimek általában semlegeshez közeli pH-n működnek eredményesen, a lúgos főzés pedig alkális közegben zajlik. A lúg eltávolítása még a második mosási ciklus után sem teljes és a mosóoldat pH-ja meghaladja a 8-as értéket (19.b ábra). A semlegesítéshez szükséges mosási lépések számával együtt nő a felhasznált víz mennyisége, valamint az ehhez szükséges energia és idő¹³⁰. A bioelőkészítést követően nincs szükség semlegesítésre, ezáltal a folyamat időigénye kb. 50 %-a, az öblítéshez felhasznált víz mennyisége pedig 20-50 %-a a vegyszeres előkészítés értékeinek⁷⁵. Az üvegház-hatású gázok mennyiségének a csökkenése CO₂ ekvivalensben kifejezve, 1 t pamutfonal bioelőkészítése során, 990 kg¹³¹.



19. ábra: (a) A kombinált bioelőkészítés és fehérítés, valamint a lúgos főzés és fehérítés ökológiai paraméterei (TOC, COD, BOD)¹²⁹; (b) A bioelőkészítés, a lúgos főzés, valamint az ezeket követő mosási ciklusok során a mért pH érték¹³⁰

A kombinált enzimes írtelenítés és bioelőkészítés gazdaságosságát és környezeti hatásait összevetve az enzimes írtelenítés és lúgos főzés értékeivel megállapították¹³³, hogy

1 kg pamut bioelőkészítésének az ára 0,014 euro (kb. 4,5 Ft), a hagyományos vegyszeres technológiával előkészítetté pedig 0,24 euro (kb. 77 Ft). 1 tonna pamutra vonatkoztatva a költség megtakarítás 226 euro. 6000 literrel kevesebb vízre van szükség, továbbá az energia megtakarítás 615 kWh. Az üvegház-hatású gázok mennyisége CO₂ ekvivalensben kifejezve 250 kg-mal kevesebb. A kombinált enzimes folyamat gazdasági és ökológiai hatása tehát kedvezőbb, mint az enzimes írtelenítés és lúgos főzésé.

A biokikészítés és a vegyszeres kikészítés környezetre gyakorolt hatásának összevetése azt bizonyította, hogy 1 t színezett kötött kelme biokikészítése során az üvegház-hatású gázok mennyisége CO₂ ekvivalensben kifejezve 60 kg-mal kevesebb, mint a vegyszeres kikészítés alkalmazásakor. Azonos termék előállítása esetén az enzimet alkalmazó technológia (bioelőkészítés és biokikészítés) elektromos energia megtakarítással jár⁷⁵.

2.3.8 Legújabb kutatási irányok az enzimes textiltechnológiák területén

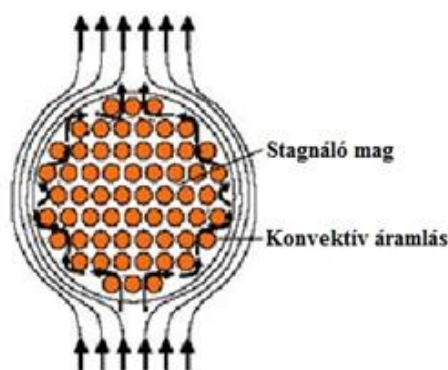
Az utóbbi időben a kutatások egyre inkább az enzimes folyamatok kombinálását, és ezáltal rövidebb, valamint víz- és energia-takarékosabb technológiák kidolgozását célozzák. Az enzimgyártó cégek olyan – különböző aktivitású – enzim készítményeket ajánlanak, amelyeknek a pH és hőmérséklet profilja átfed, így lehetséges az együttes alkalmazásuk. Az írtelenítés és a bioelőkészítés kombinálása során például az α -amiláz enzimes írtelenítést és a pektináz-hemicelluláz, illetve a pektináz-hemicelluláz-celluláz enzimekkel végzett bioelőkészítést egy lépésben alkalmazták üzemi körülmények között, enyhén savas pH-n, komplexképző jelenlétében. Vannak már a bioelőkészítés és biokikészítés, továbbá a színezés és biokikészítés egyidejű megvalósítására alkalmas enzimek is^{132,133}.

Jelentős kutatási potenciál összpontosul a biofehérítésre és a színes szennyvizek hatékony enzimes elszíntelenítésére is. Speciálisan a hánocsrostokra alkalmas enzimek és technológiák fejlesztése is a célok között szerepel. Az enzimek immobilizálása jelentős gazdasági haszonnal járhat. Mivel az immobilizálás (pl. nanoanyagok felületén) általában növeli az enzimek stabilitását és aktivitását, a folyamat technológiai szempontból is előnyös lehet. Fontos cél a textil biotechnológia területén az üzemesítés felgyorsítása, vagyis a laboratóriumi és félüzemi kísérletekben eredményes enzimes folyamatok ipari megvalósítása. Ezt segíthetik az enzimes folyamatok hatékonyságának a javítását célzó kutatások, például kisfrekvenciás ultrahang, vagy plazmakezelés alkalmazásával, hiszen a rövidebb enzimes folyamatokat könnyebb a meglévő ipari technológiákba integrálni⁷⁵.

Kutatócsoportommal a közelmúltban a két utóbbi kutatási területen dolgoztunk, ezért a 2.4. fejezetben bemutatom a kisfrekvenciás ultrahangot, az atmoszférikus hidegplazmát és ezek lehetséges alkalmazásait az enzimes textiltechnológiákban.

2.4 KISFREKVENCIÁS ULTRAHANGGAL ÉS ATMOSZFÉRIKUS HIDEGPLAZMA KEZELÉSSSEL SEGÍTETT ENZIMES FOLYAMATOK

2.4.1 A kislekvenciás ultrahang jellemzői



20. ábra. Áramlási profil a folyadékban lévő fonal környezetében¹³⁴

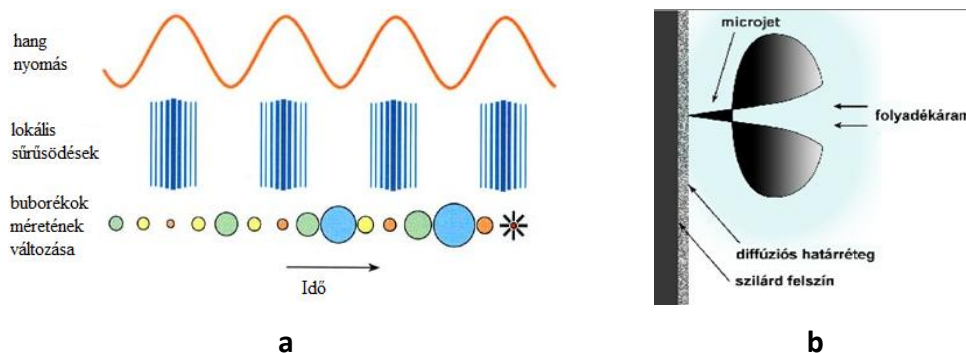
Az enzimes reakciók időigényesek, ami megnehezíti a bevezetésüket a folyamatos technológiai sorba⁹⁶. A reakciósebességet az anyagszállítás és az anyagátadás határozza meg. Heterogén fázisú enzimes folyamatokban az anyagszállítás fő folyamatai: az enzim szállítása a tömbi fázisból a szilárd szubsztátum (szövet) felületén lévő stagnáló folyadékfilmhez, majd a fonalak közötti és a fonalon belüli (elemi szálak közötti) pórusokba (20. ábra). Az enzimdát a fonalak közötti pórusokon áramlik anélkül, hogy behatolna a fonalon belüli pórusokba. A fonalon belül a tömegtranszport diffúzióval valósul meg és ez a sebesség meghatározó lépés. A hagyományos módszerek (pl. ráztatás) növelik a folyadékarámot a szöveten keresztül, azaz a fonalak közötti pórusokban, de nem segítik a fonalon belül, így hatásuk korlátozott^{124,128}. Kislekvenciás ultrahang alkalmazásakor a folyadékfázisban keletkező kavitációs buborékok szétroppannak, miközben erős mikroáramlásokat keltenek, amelyek növelik az anyagszállítás sebességét a fonalak között és a fonalon belül lévő pórusokban is, és így javítják az enzimes folyamatok hatékonyságát¹³⁴⁻¹³⁶.

Az ultrahang az emberi hallás határán kívül esik és frekvencia tartománya 20 kHz-től 10 MHz-ig terjed. A kislekvenciás (energia vagy erő) ultrahang (20-100 kHz) a folyadékfázisban akusztikus kavitációt okoz, amelynek lényege: a hanghullám a terjedése során a folyadékban gerjeszti a molekulák longitudinális rezgéseit, kimozdítja azokat nyugalmi állapotukból, aminek következtében a folyadékban lokális sűrűsödések (kompresszió) és ritkulások (expanzió) sorozata jön létre. Ha a molekulákra ható erők nagyobbak a folyadék molekuláit összetartó másodlagos erőknél, akkor a folyadékfázis „szétszakad” és mikroméretű üregek, buborékok képződnek¹³⁴. Megkülönböztetünk stabil és átmeneti kavitációt. A stabil kavitációban a buborékok kis amplitúdójú oszcillációt végeznek a hanghullámokkal, több hangcikluson keresztül. A buborékok belsejében a gőznyomás jóval a folyadék adott hőmérsékleten mérhető telített gőznyomása alatt van. Az átmeneti kavitáció (21.a ábra) során kisméretű buborékok képződnek nagy sebességgel, és a hanghullámok hatására a méretük a

ritkulási szakaszban növekszik, a sűrűsödési szakaszban pedig csökken (oszilláció). A sugár irányú növekedés mindig egy kicsit nagyobb, mint a zsugorodás, mivel az expanszió során a buborék növekvő felületén a bediffundáló folyadék gőz mennyisége nagyobb, mint a kompresszió során a csökkenő felületen kidiffundálóé. Néhány hangciklus múlva ($< 1 \mu\text{s}$) aztán összeroppannak, extrém magas lokális hőmérséklet és nyomás (kb. 5000 K, 100 MPa) kialakulása közben. A folyamatot gyors hűtés követi a buborékot körülvevő hideg folyadékban. A buborékok összeroppanása segíti a keveredést és az anyagszállítást a tömbi folyadékfázisban, és növeli az ultrahangos térben lejátszódó reakciók hatékonyságát¹³⁷⁻¹³⁸.

Heterogén rendszerben, amikor a kavitáció a szilárd felület közelében játszódik le, a buborékok összeroppanása aszimmetrikus (21.b ábra), és nagy sebességű (kb. 110 m/s) mikroáramlásokat indukál a szilárd felszín irányába. A „mikrojet” képes új és aktív felületek létrehozására és a részecskeméret csökkentésére. A határfelületi folyadékréteg megbontásával az oldott molekulát (pl. enzim) tartalmazó folyadékot hatékonyan juttatja a szilárd fázis (pl. fonal) belsejébe^{227,228,232}, ezáltal nő az anyagszállítás sebessége és javul a reakció hatékonysága. A kavitáció típusát a hanghullám amplitúdója és frekvenciája, továbbá a közeg tulajdonságai (pl. sűrűség, viszkozitás, stb.) befolyásolják^{134-136,139,140}.

Ultrahang keltésére a piezoelektromos jelenségen alapuló készülékek alkalmasak. Laboratóriumi kísérletekben leggyakrabban ultrahangos kádat és bemerülőfejes reaktort használnak. A bemerülőfejes reaktorban a hangtér fókuszált és intenzitása a hangforrástól távolodva exponenciálisan csökken. Azonos energiasűrűség mellett az anyagátadási hatékonyság bemerülőfejes reaktorban egy nagyságrenddel nagyobb, mint az ultrahangos kádban¹⁴⁰.



21. ábra. (a) Az átmeneti kavitáció dinamikája; (b) A folyadékfázisban keletkező kavitációs buborék aszimmetrikus szétropanása a szilárd felszín közelében¹⁴¹

2.4.2 Az ultrahang alkalmazása az enzimes textiltechnológiai folyamatokban

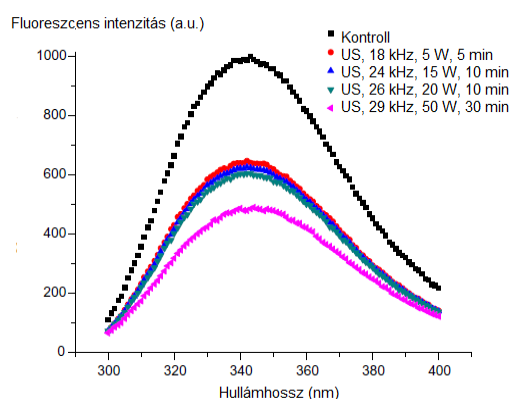
A kisméretű ultrahang enzimes textiltechnológiai folyamatokra kifejtett hatását kb. húsz éve vizsgálják. Megállapították, hogy a kisméretű ultrahang elősegíti az enzim-

molekula szálfelületre, illetve a fonal belsejébe jutását, a szálanyag pórusaiban bezárt levegő buborékok eltávolítását, a kezelőoldat bejutását a pórusokba, továbbá a bomlástermékek eltávolítását a szálfelületről. Az ultrahang (< 100 kHz) hatása pozitív volt a pamut enzim-értelenítése és bioelőkészítése, a len bioelőkészítése, továbbá pamut lakkáz- és glükóz-oxidáz-, valamint a len lakkáz-katalizált biofehérítése során^{99,142-145}.

A korábban megjelent publikációk többségében változtatják a (bemenő) technológiai paramétereket (pl. kezelési idő, enzimkoncentráció, amplitúdó, frekvencia), és vizsgálják a (kimenő) szövet tulajdonságokat (pl. irányagtartalom, nedvesedőképesség, szakítószilárdság, tömegveszteség, stb.). A pozitív eredmények magyarázatára leggyakrabban az enzimaktivitás növekedését említik¹⁴², vagy megállapítják, hogy az ultrahang az enzim hatékonyságát növeli, és nem befolyásolja negatívan az enzimaktivitást¹⁴³, holott az enzimaktivitást nem is vizsgálták. Nem veszik figyelembe a kavitáció okozta mikroáramlások nyíró hatását, továbbá a folyamatot kísérő lokális hőmérséklet- és nyomásnövekedést, ami az enzim fehérjét módosíthatja és csökkentheti az enzimaktivitást.

2.4.3 A kislekvenciás ultrahang hatása az enzimaktivitásra

Az utóbbi időben megjelent, az ultrahang enzimaktivitásra kifejtett hatásával foglalkozó publikációk azt bizonyítják, hogy kisebb ultrahang intenzitás és rövid kezelés esetén enzimaktivitás (celluláz, glükóz-oxidáz, lipáz, glükó-amiláz) növekedés, nagyobb intenzitás és hosszabb kezelési idő esetén viszont enzimaktivitás csökkenés következik be¹⁴⁶⁻¹⁵⁰. Az ultrahang enzim makromolekulára kifejtett hatását elsősorban a fluoreszcens és cirkulár dikroizmus (CD) spektrumok segítségével magyarázzák.



22. ábra. A celluláz enzim fluoreszcens spektruma az ultrahangos kezelés paramétereinek a függvényében¹⁴⁶

A fluoreszcens spektrum a triptofán, a tirozin és a fenil-alanin komponenseknek tulajdonítható és az enzim konformáció változásának a követésére szolgál. Celluláz enzimet vizsgálva a triptofán fluoreszcens spektrumának maximális aktivitása 348 nm-nél volt, és nem változott jelentősen az ultrahangos besugárzás során (22. ábra). Az intenzitás viszont folyamatosan csökkent az ultrahang intenzitásának a növelésével, amiből arra következtettek, hogy változott az enzim konformációja. Feltételezhető, hogy az ultrahangos kezelés előidézi a fehérje rendezett szerkezetének a módosulá-

sát és bontja a fehérje molekulák közötti hidrofób kölcsönhatásokat. Ennek következtében több hidrofób csoport és hidrofób régió jelenik meg a molekulán belül és kívül is, amelyek konformációs változást idéznek elő. Celluláz és lipáz enzimek esetén is megállapították, hogy triptofán oldalláncok jelentek meg a felületen, amelyek elősegítették a fehérje molekulák közötti hidrofób kölcsönhatások bontását^{146,147,149,195}.

A CD a fehérje szekunder szerkezetében bekövetkező változások felderítésére szolgál. A celluláz enzim kis intenzitású ultrahangos besugárzása esetén nőtt az enzimaktivitás, az enzim fehérje molekulában pedig csökkenő α -hélix és növekvő random coil szerkezetet mértek (4. táblázat). A lipáz enzimben is nőtt a random coil aránya és csökkent az α -hélix, a β -redő és β -turn (kanyar) aránya¹⁴⁹. Az ultrahang hatására kialakuló rugalmasabb fehérje szerkezet az enzim aktív részét is befolyásolhatja. Intenzív ultrahangos besugárzás esetén viszont nőtt az α -hélix (26,6 %-ról 27,6 %-ra), nem változott a β -redő, és csökkent a random coil szerkezet aránya (24,8 %-ról 22,2 %-ra). Az új és kompakt szerkezet akadályozhatja a szubsztrátum hozzáférhetőségét az enzim aktív részéhez, és ez okozhatja az enzimaktivitás csökkenését¹⁴⁶.

4. táblázat. Az ultrahangos kezelés hatása a celluláz enzim fehérje másodlagos szerkezetére a CD spektrum alapján¹⁴⁷

Kezelés	α -hélix (%)	β -redő (%)	β -turn (%)	Random coil (%)
-	25,93	26,31	20,94	24,97
Ultrahang	22,72	24,58	22,86	32,36

2.4.4 Az atmoszférikus hidegplazma jellemzői

A plazma az anyagok negyedik halmazállapota. Valójában ionizált gáz, amely elektrosztatikus töltés szempontjából általában makroszkopikusan semleges. Jellemzője, hogy szabad elektronokat, ionokat, atomokat, gyököket, gerjesztett részecskéket és fotonokat (köztük UV-fotonokat) tartalmaz. A plazma két alapvető típusa ismert: az egyensúlyi (vagy termikus) és a nem-egyensúlyi (vagy hideg) plazma. Az előbbiben az atomok és az elektronok kinetikus energiája (hőmérséklete) termodinamikai egyensúlyban van, míg az utóbbiban az atomok hőmérséklete jóval (akár nagyságrendekkel is) elmarad az elektronokétól. A nagy elektronhőmérséklet nagy kémiai reaktivitást jelent, ezért hidegplazmával hatékonyan lehet a szilárd anyagok felületét módosítani^{151,152}.

Textíliák felületmódosítására a hidegplazma alkalmas. Leginkább a koplánáris felületi elrendezésű dielektromos akadálykísülés (*dielectric barrier discharge*, DBD) plazmát használják homogenitásának és stabilitásának köszönhetően, amellyel a felület kb. 10 nm mélység-

ben módosítható¹⁵². A kezelés nagy sebességgel végezhető, így a berendezés integrálható a folyamatos technológiákba. A különféle típusú és energiasűrűségű plazmákkal a kezelési mélység változtatható. Az elért hatást a teljesítmény, a feszültség, a kezelési idő, az alkalmazott gáz és a kezelt felület jellemzői is befolyásolják.

2.4.5 Az atmoszférikus hidegplazma textilipari alkalmazásai

A plazmakezelés viszonylag kis anyag- és energiaigényű, oldószertmentes és környezetbarát eljárás¹⁵¹, és vegyszeres kezelés nélkül kínál megoldást a textilkikészítés számos területén. A plazmakezelést általában levegőn vagy gázkeverékkel végzik. A gázkeverék kb. 90 %-a inert vivőgázt (hélium, argon, nitrogén) és 1-10 %-ban reaktív gázt (oxigén, nitrogén, szén-dioxid, ammónia, hidrogén, vízgőz) tartalmaz a kialakítandó tulajdonságnak megfelelően. Például levegő- vagy oxigén-tartalmú reaktív gázokkal oxidált funkciós csoportok (pl. hidroxil-, karboxil-, hidro-peroxid-, stb.) képződnek a felszínen. A plazmakezeléssel tehát speciális funkciók (pl. hidrofil, hidrofób, oleofil, oleofób, szennytaszító és antibakteriális, stb.) kialakítására van lehetőség¹⁵³.

A plazma előkezelésnek pozitív a hatása az enzimes folyamatok eredményességére. Nyers pamut bioelőkészítése során a hidrofób szálfelület akadályozza az enzimek hozzáférhetőségét a viaszréteg alatti pektinhez és cellulózhoz. Az anyagátadás jelentősen javítható a szálfelület atmoszférikus hidegplazma előkezelésével. A plazma általában a legkülső felületre, illetve annak néhány atomi rétegére korlátozódik, és kb. 5-10 nm mélységben részlegesen eltávolítja a szálfelületet, továbbá levegő jelenlétében oxidálja azt. A pamutban a viaszos kutikula kb. 12 nm vastag¹⁹, a plazma tehát erre hat, a szál főtömege, és így a tömbi tulajdonságok változatlanok maradnak. Az enzimreakció hatékonysága tehát a kezelendő textília felületének a módosítása, hozzáférhetőségének a növelése és a jobb anyagátadás révén javítható^{154,200}. A pamut plazmakezelésekor a felületen lejátszódó oxidációs folyamatok növelték a felület polaritását, a legkülső réteg degradációja pedig növelte a szálfelületen lévő pórusok átlagos méretét. Mindkét folyamat segítette a plazmakezelést követően alkalmazott celluláz enzimes kezelést. A plazma előkezelés után eredményesebb volt a lenszövet enzimes (pektináz és celluláz), valamint oxidációs (perecetsav és hidrogén peroxid) kezelése, nőtt a nedvszívóképesség és a fehérség^{154,155}.

A gyakorlatban általában hosszabb idő telik el a textília plazmakezelése és az azt követő enzimes/vegyszeres kezelés között, emiatt vizsgálják a plazmakezelés tartósságát. Bár számos ellentmondás van a publikált adatokban, a plazma úgynevezett öregedési vizsgálata döntően azt bizonyítja, hogy a felületkezelést követő négy napig a tulajdonságok nem változnak számottevő mértékben, azt követően viszont fokozatosan romlanak¹⁵⁵.

3 A KUTATÓMUNKA CÉLJA

A textil biotechnológia elsődleges célja a textilkikészítés környezeti hatásainak mérséklése azáltal, hogy a hagyományos vegyszeres textiltechnológiák helyett enzimmal katalizált folyamatokat alkalmazunk. A kilencvenes évek közepén, amikor elkezdtünk az enzimes textiltechnológiákkal foglalkozni, még az alapvető kérdésekre sem volt válasz. A bioelőkészítés területen úttörő munkát végeztünk. A kutatási eredményeinket sikeresen megvalósított üzemi technológiákkal is megerősítettük.

A kutatómunka során tanulmányoztuk a cellulóz alapú szálanyagok (főként pamut és len) szerkezeti polimerjeinek (cellulóz, hemicellulózok, lignin) és egyéb kísérőanyagainak (pektin, viaszok, keményítő anyag) enzimmal katalizált degradációs folyamatait; vizsgáltuk a kisfrekvenciás ultrahangos besugárzás és az atmoszférikus hidegplazma kezelés hatását a heterogén fázisú enzimes folyamatok hatékonyságára. Anyagtudományi vizsgálatokkal széleskörűen jellemeztük a szálanyagok felületi és tömbi tulajdonságaiban bekövetkező változásokat, a feldolgozás és felhasználás szempontjából fontos tulajdonságok meghatározására pedig klasszikus vizsgálati módszereket alkalmaztunk. A kutatómunka öt területre bontható és az alább felsorolt kérdések megválaszolására koncentrált:

I. **BIOELŐKÉSZÍTÉS:** Különböző aktivitású hidrolitikus enzimeket alkalmaztunk a szálfelület nem-cellulóz komponenseinek a degradációja és a hidofil szálfelület létrehozása céljából, továbbá a pamutmaghéj lignocellulóz rendszerének a bontására. A bioelőkészítés hatékonyságának növelésére komplexképzőt adtunk az enzimes kezelőoldathoz. A kutatómunka során a következő kérdésekre kerestük a választ:

- milyen enzimek eredményesek a hidofil szálfelület kialakításában?
- milyen enzimek hatnak a pamut maghéj szennyeződésére; milyen mértékű maghéjdegradációt eredményeznek, és hogyan befolyásolják az enzimes kezelést követő vegyszeres folyamatban a maghéjdegradációt?
- hogyan hat az EDTA komplexképző a pamut és a len nem-cellulóz kísérőanyagainak az enzimmal katalizált hidrolízisére?
- befolyásolja-e az EDTA komplexképző a pektináz és xilanáz enzimek aktivitását?
- hogyan változnak a szálfelületi jellemzők és a tömbi tulajdonságok?
- hogyan módosulnak a technológiai jellemzők: a fehérség és fehérléptékeség, valamint a színezhetőség?

II. **BIOFEHÉRÍTÉS:** A szálanyagok színes – lignin-tartalmú – kísérőanyagai a bioelőkészítésben hatékony hidrolitikus enzimekkel nem degradálhatók. Eltávolításuk azonban elősegíthető xilanáz enzimes előkezeléssel, a degradációjuk pedig oxidatív enzimekkel kata-

lizálható. A kutatómunka során egyrészt ipari xilanáz enzimet alkalmaztunk, másrészt szilárd fázisú fermentációval állítottunk elő nyers enzimeket. Mivel a szilárd fázisú fermentációban a szilárd szubsztrátum, mint szénforrás kémiai összetétele befolyásolja a termelt enzimek aktivitását, ezért ebben a kísérletsorozatban pamutmaghéj hulladék, valamint nyers lenrost volt a szilárd szubsztrátum. A hidrolitikus és oxidatív aktivitással rendelkező nyers enzimeket aztán a pamutszöveten lévő maghéj szennyezés degradációjára, valamint a nyers len bioelőkészítésében alkalmaztuk. A kutatómunka során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy:

- a xilanáz enzimmel végzett előkezelés, mint előfehérítés befolyásolja-e a pamut és a len lignin-tartalmú kísérőanyagainak a degradációját és eltávolítását?
- a szilárd fázisú fermentációval előállított, hidrolitikus és oxidatív aktivitással rendelkező nyers enzimkészítmények hatékonyak-e a pamutmaghéj degradációjában és a len lignin-tartalmú kísérőanyagainak az eltávolításában?
- hogyan hatnak a szilárd fázisú fermentációval előállított enzimek a szálasanyag színére és befolyásolják-e a fehéríthetőségét?

III. **BIOKIKÉSZÍTÉS:** A biokikészítés során a len és len-tartalmú szövetek fogásjavítása volt a cél, amelyet kombinált enzimes-vegyszeres, valamint intenzív mechanikai kezeléssel értünk el. A kutatómunka során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy:

- a celluláz-hemicelluláz enzimmel végzett kezeléssel milyen – a végső felhasználás szempontjából fontos – új tulajdonságok alakíthatók ki, és milyen, már meglévő tulajdonság módosítható?
- a kombinált technológia egyes részfolyamatai milyen mértékben járulnak hozzá a végső szövet tulajdonságokhoz?
- a szövet szálasanyag összetétele hogyan befolyásolja a tulajdonságok változását?

IV. **HATÉKONYSÁGNÖVEELÉS (BIOELŐKÉSZÍTÉS, BIKIKÉSZÍTÉS) – ULTRAHANG, ATMOSZFÉRIKUS HIDEGLAZMA:** A heterogén fázisú enzimkatalizált folyamatok hatékonyságának a növelésére kisfrekvenciás ultrahangos besugárzást és atmoszférikus hideglazma kezelést alkalmaztunk. Az 'ultrahang-enzim', az 'ultrahang-szubsztrátum', valamint az 'ultrahang-enzim-szubsztrátum' kölcsönhatásokat a cellulóz-celluláz reakcióban jellemeztük. A plazmával végzett kísérletek során annak a felderítésére törekedtünk, hogy milyen szálfelületi változások befolyásolják a plazmakezelés után alkalmazott enzimes kezelést. A kutatómunka elsősorban a következő kérdések megválaszolását célozta:

- milyen hatást gyakorol a kisfrekvenciás ultrahang az ipari celluláz enzim aktivitására, a szubsztrátum részecskeméretére és a heterogén fázisú enzimes folyamat hatékonyságára?

- hogyan alakul a hagyományos módszerekkel kevertetett/ráztatott rendszerben és az ultrahangos besugárzás mellett végrehajtott enzimes folyamatok során a termékképződés sebessége, és hogyan befolyásolja ezt a cellulóz szubsztrátum formája és a hangforráshoz viszonyított helyzete?
- hogyan módosítja az atmoszférikus hidegplazma a szálfelületi tulajdonságokat és milyen az elért hatás tartóssága?
- hogyan változik az atmoszférikus hidegplazma kezelés hatására a szál- és fonalfelület polimer alkotóinak a hozzáférhetősége az enzimek (celluláz, pektináz és amiláz) számára, és ez hogyan befolyásolja a szálasanyagok textil biotechnológiai folyamatainak (biokikészítés, bioelőkészítés, enzimes írtelenítés) a lejátszódását?

V. **LEGÚJABB KUTATÁSOK – SSF, CNC:** A kislekvenciás ultrahangot két új, a textil biotechnológiától különböző területen is alkalmaztuk. A biofehérítési kísérletekhez kapcsolódó SSF során az ultrahangos térben zajló kavitációt a nyers enzimek kinyerésének a fokozására használtuk. Az 'ultrahang-szubsztrátum' kölcsönhatás tanulmányozása során szerzett ismereteinket felhasználva, az ultrahangos besugárzást a cellulóz nanorészecskék (CNC) kinyerésének az elősegítésére és aggregációs hajlamának a csökkentésére alkalmaztuk. Mindkét kutatás kapcsolódik a jelen dolgozat témaköréhez, ugyanakkor más területen is hasznosítható eredményekkel szolgálhat. A kutatás során a következő kérdések megválaszolása volt a célunk:

- milyen hatást gyakorol az kislekvenciás ultrahang a szilárd fázisú fermentációval nyert nyers enzimek aktivitására?
- hogyan viszonyul egymáshoz a hagyományos módszerekkel és az ultrahangos besugárzással segített enzim-extrakció eredményessége?
- hogyan befolyásolja az ultrahangos besugárzás a kristályos nanocellulóz részecskeméretét, valamint a CNC-szuszenziók és az azokból készült filmek tulajdonságait?

4 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK*

4.1 SZÁLASANYAGOK, PAMUTMAGHÉJ

Nyers laza (szálas) pamutot, len előfonalat, továbbá különböző kikészítési fokú (nyers, irtelenített, lúgos főzött, fehérített) pamut- és lenszövetet, féllen szövetet (pamut-láncfonal, len-vetülékfonal /keresztirányban futó fonal/), valamint len-poliészter (33/67 %) keverékszövetet vizsgáltunk. A pamutmaghéj degradációjának a tanulmányozásához a laza pamut mechanikai tisztításából származó tisztítási hulladékot használtuk.

4.2 ENZIMEK, FERMENTÁCIÓ, ENZIMAKTIVITÁS

A bioelőkészítés és biokikészítés kísérletek egy részéhez különböző enzimgyártó cégektől származó, savas, semleges vagy lúgos közegben aktív ipari enzimet (pektináz, celluláz, xilanáz, amiláz, lakkáz) használtunk (Függelék – F1. táblázat). Az ajánlott enzimkoncentráció a szálasanyag tömegére vonatkoztatva 0,5-5 % volt

Pamutmaghéj hulladékon²²⁹, valamint aprított nyers lenroston²³⁹ mint táptalajon a BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszer tudományi Tanszék törzsgyűjteményéből származó törzsekkel (*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus giganteus*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma virens*), szilárd fázisú fermentációval állítottunk elő enzimeket (Függelék – F2. táblázat). Az SSF enzimek extrakcióját pufferrel (pH=4,8) szobahőmérsékleten, horizontális rázatással végeztük. Külön kísérletsorozatban ultrahangos besugárzás mellett vizsgáltuk az enzimek kinyerését (5.5.2. fejezet). A centrifugálás után nyert felülúszóból enzimaktivitást mértünk. A nyers enzimoldatot, valamint a szilárd fermentumot a bioelőkészítés és biofehérítés kísérletekben használtuk.

Egyes ipari enzimek, továbbá a fermentációval előállított nyers enzimek aktivitását nemzetközileg elfogadott mérési módszerekkel határoztuk meg. A kutatómunka során a következő aktivitásokat mértük: endo-glükánáz (EGlu)¹⁵⁶, endo-xilanáz (EXyl)¹⁵⁷, β -glükózidáz (β Gluc)¹⁵⁸, poli-galakturonáz (PGal)¹⁵⁹, szűrőpapír lebontó (FPA)¹⁶⁰, lakkáz (Lac)¹⁶⁰, lignin-peroxidáz (LiP)¹⁶⁰ és mangán-peroxidáz (MnP)¹⁶³.

Az EDTA komplexképző enzimaktivitásra kifejtett hatásának a meghatározásához a hígított pektináz és xilanáz enzimoldathoz EDTA-t adagoltunk széles koncentráció tartományban, és mértük a jellemző aktivitás értékeket az EDTA-koncentráció függvényében²²⁷.

*Ebben a fejezetben felsoroljuk a kutatómunka során alkalmazott legfontosabb anyagokat és módszereket. Részletes bemutatásuk a hivatkozott saját publikációkban, vagy esetenként a függelékben található.

4.3 ENZIMES ÉS VEGYSZERES KEZELÉSEK

4.3.1 Írtelenítés és bioelőkészítés

A nyers pamutszövet írtelenítését amiláz enzimmal végeztük²⁴². Az ipari enzimekkel végzett bioelőkészítést az enzimek optimális pH és hőmérséklet tartományában, puffer oldatban végeztük, álló és rázatott rendszerben (pl. vertikális vagy horizontális ráztatás, mágneses keverés), nem-ionos nedvesítőszer jelenlétében. Vizsgáltuk az enzimkoncentráció, a kezelési idő, a rendszer mozgatása és az enzimoldatba adagolt komplexképző hatását a szubsztrátum (szövet²²², pamutmaghéj²²³) tulajdonságaira. A kontrollként alkalmazott lúgos főzést forró nátrium-hidroxid oldattal végeztük^{232,235}.

A lencszövet pektináz enzimmal végzett bioelőkészítése során az EDTA komplexképző hatását a következő kísérletekben vizsgáltuk²²⁶: (a) pektináz enzimes kezelés; (b) pektináz enzim és EDTA együttes alkalmazása; (c) EDTA előkezelés majd azt követően alkalmazott pektináz enzimes kezelés. Hasonló kísérletsorozatban tanulmányoztuk a pamutmaghéj degradációját pektináz és xilanáz enzimmal²²⁷.

A pamutmaghéj szubsztrátumon SSF-fel termelt nyers enzimoldatokkal a pamutszövet bioelőkészítését vizsgáltuk. A szöveten lévő maghéjak degradációjának a kvantitatív jellemzésére a beszkenelt szövetfelületen – képanalizátor segítségével – meghatároztuk a maghéjak területét és számát²²⁹. Lencszövet enzimes kezelését az extrakció során nyert nyers enzimoldattal, valamint a szilárd fermentummal is vizsgáltuk²³⁰.

A poliszacharidok enzimkatalizált hidrolízisét a felszabaduló redukáló cukor koncentrációval követtük²²⁷⁻²²⁹. A cukor-tartalmú mintához di-nitro-szalicilsav reagenst adtunk, majd forralást követően mértük a kihűlt oldat fényelnyelését (540 nm). A redukáló-cukor tartalmat glükóz kalibráció alapján számoltuk ki¹⁶⁴. Az amiláz enzimes írtelenítést követően a szöveten visszamaradó keményítő mennyiségét a keményítő-jód kék színreakción alapuló ún. Tegewa teszttel minősítettük²⁴².

4.3.2 A bioelőkészített szövetek fehéríthetősége és színezhetősége

A bioelőkészített, valamint a bioelőkészített és fehérített (H_2O_2) szövet színezhetőségét reaktív színezékekkel vizsgáltuk²²⁴. A nyers, a bioelőkészített, valamint a hagyományos módon előkészített lencszövetek visszamaradó színes komponenseinek a mennyiségét a szövet hidrogén-peroxid fogyasztásával jellemeztük. A H_2O_2 koncentrációt jodometriás titrálással határoztuk meg^{230,235}.

4.3.3 Biokikészítés

Len és len-tartalmú (pamut-len, len-poliészter) szövetek kombinált vegyszeres (sziloxános) és enzimikus kikészítését vizsgáltuk. Mivel az eredményes kikészítő hatás csak intenzív mechanikai kezeléssel érhető el, ezért a laboratóriumi előkísérleteket követően a szövetek kikészítése nagyüzemi körülmények között, speciális berendezésben történt²²⁵ (Függelék – F1. ábra; F3. táblázat).

4.4 KÍSÉRLETEK ULTRAHANGOS BESUGÁRZÁS ALKALMAZÁSÁVAL

4.4.1 Az ultrahangos reaktor jellemzői

Bemerülőfejes ultrahangos reaktort (20 kHz) alkalmaztunk. A hang amplitúdójának maximális értéke 124 μm , amely százalékosan állítható. A kísérleteket termosztálható kettősfalú üvegreaktorban végeztük. Acél reflektor korong biztosította a hanghullámok visszaverését²³⁷ (Függelék – F2. ábra).

4.4.2 Az ultrahangos besugárzás hatása az enzimaktivitásra

Az ipari celluláz enzim pufferrel hígított oldatát, valamint az SSF-fel nyert nyers enzimoldatokat ultrahanggal besugároztuk és mértük a szűrőpapír lebontó aktivitást, illetve a nyers enzimoldatok esetén a LiP, Lac, PGal, valamint a szűrőpapír lebontó aktivitást az amplitúdó és az idő függvényében^{239,240}.

4.4.3 A cellulóz enzimkatalizált hidrolízise ultrahangos térben

A cellulóz szubsztrátumot (fehérített pamutszövet) különböző formában (őrölt, négyzetre vágott, lapszerű) alkalmaztuk. Az őrölt²³⁷ és négyzetre vágott szövet a mágnesesen kevertetett enzimoldatban szabadon mozgott, a szövetrétegek hangforráshoz viszonyított helyzete viszont rögzített volt²⁴⁷ (Függelék – F3. ábra). A hidrolízis hatékonyságát a felszabaduló redukáló cukor koncentrációval jellemeztük (4.3.1. fejezet). Kontrollként a mágnesesen kevertetett rendszerben végzett reakció szolgált.

4.4.4 Az SSF-fel termelt nyers enzimek ultrahanggal segített extrakciója

Az őrölt lenrost szubsztrátumon SSF-fel termelt nyers fermentumok ultrahanggal segített extrakcióját citrát pufferrel végeztük egy- és három-lépéses extrakciót alkalmazva. Vizsgáltuk a szilárd fermentumok őrlésének a hatását is az ultrahanggal segített egy-lépéses extrakció során (Függelék – F4 ábra). Az enzimkinyerés eredményességét a nyers enzimoldat hidrolitikus és oxidatív aktivitásával jellemeztük^{239,240}.

4.4.5 Lenzövet biofehérítése

Az első kísérletben az SSF fermentumot és a lenzövetet együtt kezeltük, így az enzim extrakciója egyidejűleg zajlott a szövet fehérítésével. A folyamatot ultrahanggal besugározva vagy rázó termosztátban végeztük. A második kísérletben az enzimextrakciót követően kezdődött meg a szövet kezelése. A folyamat enzimextrakciós szakaszát ultrahangozott és rázatott rendszerben is megvalósítottuk. Ezt követően a fehérítést rázó termosztátban végeztük. A harmadik kísérletben változtattuk az előextrakció időtartamát. Ezt követően egyrészt a szuszpenzióval másrészt a szuszpenzióból centrifugálással nyert felülúszóval végeztük a fehérítést²³⁹.

4.4.6 A nanokristályos cellulóz előállítása

Golyósmalomban őrölt cellulóz forrásból (fehérített pamut, fehérített len, újrahasznált pamut) kénsavas hidrolízissel állítottuk elő a nanokristályos cellulózt. A CNC szuszpenziót ultrahangoztuk, majd a szuszpenzióból öntéssel filmet készítettünk. Vizsgáltuk az ultrahangos besugárzás időtartamának hatását a nanokristályokra, valamint a szuszpenzió és a film tulajdonságaira²⁴¹ (Függelék – F5 ábra).

4.5 KÍSÉRLETEK ATMOSZFÉRIKUS HIDEGPLAZMA ALKALMAZÁSÁVAL

4.5.1 A plazmareaktorok jellemzői és a szövetkezelések végrehajtása

A plazmakezelést diffúz koplanáris felületi akadálykiszülés (DCSBD) típusú plazmareaktorral (300 W) végeztük különböző ideig, levegő atmoszférában (Függelék – F6.a ábra). A szövetek mindkét oldalát kezeltük^{238,242}. Egy kísérletsorozatban parázskiszülés (GD, 130 W) plazmát alkalmaztunk levegő és argon atmoszférában²³⁷ (Függelék – F6.b ábra).

4.5.2 A plazmakezelés után alkalmazott enzimes kezelések

A kezeletlen nyers, a különböző ideig plazmázott (DCSBD) nyers, valamint a fehérített pamutszövet celluláz enzimes hidrolízisét rázó termosztátban hajtottuk végre. A plazmakezelés hatását a láncfonalakat borító keményítő anyag mennyiségére amiláz enzimes hidrolízissel jellemeztük. A felszabaduló redukáló cukor koncentrációt mindkét enzim esetén a 4.3.1. fejezetben ismertetett módon határoztuk meg²⁴². A lenzövet bioelőkészítését a levegő és argon atmoszférában végzett GD-plazma előkezelés után, pektináz enzimmel hajtottuk végre²³⁴.

4.6 VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

4.6.1 Bevezetés

A hagyományos textilvizsgálatok a szálanyag fizikai, kémiai és viselési tulajdonságainak a meghatározására szolgálnak, és jellemzik a felhasznált alapanyagot, a terméket, valamint az alkalmazott kikészítési technológiával elért hatást. A rutinszerűen alkalmazott textilvizsgálatok végrehajtásának a módját – a mintavételtől az eredmények értékeléséig – általában vizsgálati szabványok rögzítik. A textilvizsgálatok a textilkikészítés bármely szakaszában jelzik az alkalmazott kezelés eredményességét, és ezáltal hozzájárulnak a technológia- és termékfejlesztéshez.

A hagyományos textilvizsgálatok a textília feldolgozás és felhasználás szempontjából fontos makroszkopikus tulajdonságait jellemzik, de nem adnak magyarázatot a tulajdonságokban bekövetkező változások okára. Nem alkalmasak az új felületkezelési módszerek hatásának a jellemzésére sem. Ugyanakkor, a modern, nem rutinszerűen alkalmazott anyagtudományi vizsgálatok lehetővé teszik a szálanyag szerkezetében molekuláris és szubmikroszkópos szinten bekövetkező változások jellemzését, és segítik a szerkezet-tulajdonság összefüggés meghatározását. Ennek köszönhetően hozzájárulnak az új és szokatlan tulajdonságokkal jellemezhető szálanyagok létrehozására alkalmas kezelések finomhangolásához. A textilvizsgálatokat tárgyaló szakkönyvekben korábban nem említették a modern anyagtudományi vizsgálatokat. Az utóbbi időben azonban az egyes vizsgálatok elméleti hátterét és végrehajtását, valamint az eredmények értékelésének a módját is bemutató művek jelentek meg. Az új és hatékony – döntően nagyműszeres – vizsgálati módszerekkel a funkcionális és intelligens textíliák, továbbá az előállításukhoz használt új technológiák és segédanyagok is jellemezhetők.

4.6.2 Klasszikus textilvizsgálatok

A pamut- és lenszövet vegyszeres és enzimikus kezelése során a felületi és tömbi tulajdonságokban bekövetkező változásokat főként az alábbi klasszikus textilvizsgálatokkal jellemeztük:

- Cseppentéses módszer: a szövet nedvesedőképességét jellemzi és méri a szövetre helyezett vízcsepp felszívódásához szükséges időt. Jól nedvesedő szövet esetén a nedvesedési idő kisebb 3 s-nál²²⁴. A módszer nem elég érzékeny ahhoz, hogy például az enzimikus és vegyszeres előkészítés hatása között különbséget tegyen¹⁶⁵.
- Folyadékszívás: a 2 cm szívási magasság eléréséhez tartozó időt mérjük a függőleges helyzetű, a folyadékkal érintkezésbe kerülő textília esetén. Különböző felületi feszültsé-

gű folyadékok alkalmazása esetén meghatározható a látszólagos kapilláris sugár, valamint a szálfelület felületi szabadenergiájának poláris és diszperziós komponense^{166,167,234,235}.

- Polimerizációs fok meghatározása: a cellulóz viszkozitációs polimerizációs fokát réz-etilén-diamin (Cuene) oldatban végzett oldást követően határoztuk meg²³³.
- Tömegvesztesség: a szövet és a pamutmagháj tömegváltozását a kezelés előtt és után mért kondicionált (65 % r.h. 23 °C, 24 óra) tömegekből számítottuk ki²²³.
- Szakítószilárdság: a szövet sávszakítóerő értékét és a hozzá tartozó nyúlást lánc és vetülék irányban mértük, standard körülmények között (Instron Tester Model 5566, USA). Számos esetben az egy fonálra eső szakítóerő megadásával jellemeztük a kezelés hatására bekövetkező degradációt^{225,235,242}.
- A bioelőkészített szövet pektin tartalmát Ruténium vörös bázikus színezékkal határoztuk meg. A pektin tartalmat a színezett szövet – színméréssel meghatározott – K/S értéke alapján számoltuk. A nyers szövet pektin-tartalmát 100 %-nak, a lúgos főzöttét 0 %-nak tekintettük²³⁴.
- A szövet színét CIELab színtérben (D65/10°) mértük (HunterLab Color Quest, USA). A színváltozást a színkülönbség értékekkel (ΔE_{ab}^* , ΔL_{ab}^* , ΔC_{ab}^* , ΔH_{ab}^*) jellemeztük. Esetenként megadtuk a fehérségi (WI) és a sárgasági mérőszámot (YI). A pamutmagháj színének a meghatározásához a maghéjból pasztillát préseltünk^{223,224}.
- A biokikészített szövet esési tulajdonságát az esési tényezővel jellemeztük, amelynek meghatározásához Cusic Drape Tester berendezést használtunk²²⁵.
- A biokikészített szövet merevségének jellemzésére lánc és vetülék irányban mértük a hajlítási hosszt (Shirley Stiffness Tester berendezés), majd ebből – a négyzetmétertőmeg felhasználásával – kiszámítható volt a hajlítási merevség²²⁵.

4.6.3 Modern anyagtudományi vizsgálatok

A kutatómunka során az alábbi anyagtudományi vizsgálatokat alkalmaztuk a kémiai összetételben, a póru szerkezetben, a kristályszerkezetben, valamint a szálfelületi tulajdonságokban az enzim és vegyszeres kezelés, valamint a plazma kezelés hatására bekövetkező változások széleskörű jellemzésére:

- A szövet, a pamutmagháj és az enzimoldat fémion-tartalmát Bruker Labtest Plasmalab ICP (Németország) spektrométerrel határoztuk meg az EDTA komplexképzővel végzett kísérletekben^{226,227}.
- A szálfelület összetételében bekövetkező változásokat Tensor 27 (Németország) FT-IR spektrofotométerrel követtük (4000-400 cm^{-1} hullámszám tartomány), amely ATR cellával (Bruker Platinum ATR) volt felszerelve. A relatív intenzitás értékeket a 609 cm^{-1} hul-

lámszámnál mért, a cellulózra jellemző és a hidroxil-csoport síkra merőleges deformációs rezgéséhez rendelhető intenzitáshoz viszonyítva számoltunk ki²³⁵.

- A röntgen fotoelektron-spektroszkópiai (XPS) méréseket Kratos XSAM800 típusú (UK) készüléken (225 W, Mg K_{α1,2}) ún. rögzített analizátor-áteresztés (FAT) üzemmódban végeztük²³⁸.
- A xilanáz enzim előkezelés, valamint az azt követően alkalmazott lúgos főzés során a pamutmaghéjból kioldódó lignin koncentrációjának a meghatározása UV spektroszkópiával, standard addíciós módszerrel történt, 280 nm-en²²⁸.
- A nyers, a bioelőkészített, valamint a vegyszeresen előkészített laza pamut esetén a szálfelület energetikájának tanulmányozására lineáris inverz gázkromatográfiát (IGC, Perkin Elmer Autosystem XL /USA/) (infinite dilution) alkalmaztunk. A vivőgáz nagy tisztaságú nitrogén volt és metánt használtunk nem szorbeálódó teszt anyagként a redukált retenciós idő meghatározásához. Normál-alkánok (heptán – undekán) segítségével a felületi szabadenergia diszperziós komponensét (γ_s^d) határoztuk meg különböző hőmérsékleten. Poláris adszorbátum-molekulák (aceton, kloroform, tetra-hidrofurán, etil-acetát) segítségével vizsgáltuk a sav-bázis komponenseket^{232,233} (Függelék – F6).
- A mikroszkópi kép elkészítéséhez JEOL JSM 5500-LV (Japán) típusú pásztázó elektronmikroszkópot (SEM), DI Nanoscope Dimension 3100 AFM (USA) típusú atomierő mikroszkópot és Morgagni 268D (Hollandia) transzmissziós elektronmikroszkópot (TEM) használtunk. A pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok során SEM-EDS üzemmódban a szálfelület elemösszetételét jellemeztük^{236,241,242}.
- A cellulóz kristályszerkezetének jellemzését Philips PW 1710/PW 1820 röntgen diffraktométerrel végeztük (Cu K_α sugárzás, 45 kV, 30 mA, grafit monokromátor, proporcionális számláló, 2 θ 5-30 °)^{233,241}.
- Az őrölt pamutpor részecskeméretét az ultrahangos besugárzás paramétereinek függvényében, valamint a nanokristályos cellulóz részecskeméretét lézer fényszórásos részecskeméret eloszlás mérő berendezéssel (Horiba Partica LA-950V2 Japán) határoztuk meg²⁴¹.
- A CNC szuszpenziók zeta-potenciálját (Brookhaven Zetapals, USA), valamint a szuszpenziók és a belőlük készült filmek homályosságát (HunterLab Color Quest USA) is meghatároztuk²⁴¹.

5 EREDMÉNYEK, ÉRTÉKELÉS, KÖVETKEZTETÉSEK*

5.1 A PAMUT ÉS A LEN BIOELŐKÉSZÍTÉSE ÉS BIOFEHÉRÍTÉSE

5.1.1 Bevezetés, előzmények

A pamut előkészítése során a pamutmaghéj lignin-holocellulóz rendszerének a degradációja okozza a legnagyobb nehézséget. Különösen fontos ez a pamut bioelőkészítése során, mivel a főként pektináz enzimmel végzett folyamatban a pamutmaghéjak csak részlegesen degradálhatók és távolíthatók el⁴⁴. Kutatómunkánk kezdeti szakaszában – a kilencvenes évek közepétől kezdődően – a pamutmaghéj enzimes/vegyszeres degradációjára koncentráltunk, továbbá vizsgáltuk a szövettulajdonságok alakulását³⁸. Celluláz enzimeket alkalmaztunk, és az enzimes kezelést lúgos főzéssel és hidrogén-peroxidos fehérítéssel kombináltuk^{103,104,168-170}. Szövettől elkülönített maghéjvizsgálatokkal valamint szövetvizsgálatokkal bizonyítottuk, hogy a celluláz enzim:

- a) hidrolizálja a maghéj cellulóz komponensét, és a kezelés paramétereitől (enzimkoncentráció, idő) függően kb. 28-35 %-os maghéjdegradációt okoz;
- b) elősegíti az azt követő vegyszeres kezeléseket eredményességét azáltal, hogy megbontja a maghéj lignin-holocellulóz rendszerét;
- c) hidrolizálja a maghéjat a szövetfelülethez kapcsoló elemi szálakat, és ezáltal segíti a maghéj eltávolítását a szövetfelületről;
- d) hidrofil szálfelületet eredményez;
- e) kismértékben javítja a nyers pamutszövet fehérségét ($\Delta E_{ab}^* = 1,1-1,6$);
- f) a szövetszínre gyakorolt kedvező hatása főként az enzimes kezelés után alkalmazott vegyszeres kezelés (pl. lúgos főzés) során érvényesül;
- g) a szövet tömegveszteséggel jellemzett degradációja arányosan nő az enzimes kezelés időtartamával és az enzim koncentrációjával.

Bár a cellulázok eredményesnek bizonyultak a maghéjdegradációban és a hidrofil szálfelület létrehozásában, de jelentős volt a szövet tömegvesztesége. A kilencvenes évek végén ezért arra kerestük a választ, hogy milyen más hidrolitikus enzimek alkalmazhatók eredményesen a cellulóz alapú szálanyagok bioelőkészítésében. Ennek a megválaszolására különböző enzimgyártó cégektől származó, kereskedelmi forgalomban kapható enzimeket választottunk ki, meghatároztuk a jellemző aktivitásukat (5. táblázat), majd vizsgáltuk a hatásukat a pamut bioelőkészítésében. (Érdemes megjegyezni, hogy a felsorolt enzimek közül

* Az alfejezet címe után jelezzük a kapcsolódó saját publikációk és a tézispontok [T] számát.

csupán a két Deminax enzimet ajánlották textilipari felhasználásra /biokikészítés, farmerkoptatás/). Az enzimek többsége enyhén savas (pH 5) vagy semleges közegben fejti ki optimálisan a hatását. A Pulpzyme HC xilanáz enzim celluláz kísézőenzimtől mentes. A többi enzimnek van celluláz (szűrőpapír lebontó) aktivitása, ami néhány enzimnél (Cellusoft L, Celluclast 1.5L, Cellulase EBT) jelentős. A Viscozyme enzim pektinázban gazdag. Megjegyzendő, hogy még a kutatásban alkalmazott ipari enzimek aktivitását is csak ritkán határozzák meg a textil biotechnológia területén kutató, és főként a textilkémiára specializálódott szakemberek.

A kutatómunka folytatásában a cellulázok mellett xilanáz és pektináz enzimek hatását vizsgáltuk, és ehhez a Viscozyme és Pulpzyme enzimeket (5. táblázat) alkalmaztuk. A szálfelületen és a pamutmaghéjban lévő polimerek enzimes degradációját komplexképző hozzáadásával fokoztuk. Az ipari enzimeken kívül – pl. a maghéjdegradáció növelésére, vagy a fehéritő hatás elérésére – szilárd fázisú fermentációval termelt nyers enzimeket alkalmaztunk a pamut és a len bioelőkészítésében.

5. táblázat. A bioelőkészítéshez használt ipari enzimek aktivitás értékei²²²

Enzim ^a	Celluláz [FPU/ml]	Endo-glükanáz [EGU/ml]	β-glükózidáz [IU/ml]	Xilanáz [IU/ml]	Pektináz [IU/ml]
Cellusoft L	100	37000	76	5000	- ^d
Viscozyme 120 L	8	12700	5	800	7900
Viscozyme L ^b	3	5100	65	150	5200
Celluclast 1.5 L	67	28000	11	2300	- ^d
Pulpzyme HC ^c	0	33	0	120000	- ^d
Denimax L ^c	7	2500	87	16700	- ^d
Denimax Acid L	18	6300	12	1000	- ^d
Cellulase (EBT)	108	73200	81	12900	- ^d

^a További információ: Függelék – F1 táblázat;

^b Aktivitás értékek szórással együtt megadva²²⁶: celluláz (FPU/ml): $3 \pm 0,2$; Endo-glükanáz (EGU/ml): 5100 ± 60 ; β-glükózidáz (IU/ml): 65 ± 4 ; Xilanáz (IU/ml): 150 ± 10 ; Pektináz (IU/ml): 5200 ± 340 ;

^c pH 7 értéken mérve (a többinél pH 5-ön);

^d Nem határoztuk meg.

5.1.2 Bioelőkészítés hidrolitikus enzimekkel²²² [T1]

A szakirodalomban elsősorban cellulázokat és pektinázokat alkalmaztak a hidrofil szárfelület kialakítására, és nem vizsgálták még a xilanázokkal végzett bioelőkészítést. A xilanázzal végzett kísérleteinket az indokolta, hogy a pamut elemi szál primer falában, a pamutmaghéjban, valamint a lenben is a hemicellulóz alkotók döntően xilánok. Feltételezhető, hogy a xilán biztosítja például a pamutmaghéjban és a nyers lenben a cellulóz és lignin között a kémiai kapcsolatot. A xilán enzimes degradációja tehát elősegítheti egyrészt a szálfel-

lület viaszos alkotóinak az eltávolítását, másrészt a maghéj lignin-holocellulóz rendszerének a bontását, és ezáltal a maghéjdegradációt. A pektinázok kiválasztásakor fontos volt annak a figyelembe vétele, hogy a pamut primer fal legkülső rétegének pektin a fő polimerje, ami a viaszos kutikula és a primer fal belső rétege közötti kapcsolatot biztosítja. A pektináz enzimmel végzett hidrolízis tehát hozzájárulhat a kutikula eltávolításához és ezáltal a hidrofил szálfelület kialakításához.

Az 5. táblázatban felsorolt enzimekkel írtelenített pamutszövet kezeltünk, változtattuk az enzimkoncentrációt, a kezelési idő, valamint álló és rázatott rendszerben is vizsgáltuk a folyamatot. A nedvesedőképeséget a cseppentéses módszerrel mértük. Az eredmények bizonyítják, hogy valamennyi enzim, így a tiszta xilanáz is (Pulzyme HC), 30 perces kezelési időt és a legkisebb enzimkoncentrációt (0,5 g/l) alkalmazva jól nedvesedő szövetet eredményezett. (A nedvesedési idő minden esetben rövidebb volt 3 s-nál, míg a kiindulási írtelenített pamutszövet nedvesedési ideje > 60 s.) Az elmúlt időszakban a cellulóz alapú szálanyagok xilanáz enzimmel végzett bioelőkészítését részletesen vizsgálták a világon, és számos publikációban^{106,107,171-173} és doktori értekezésben¹⁷⁴ bizonyították a xilanázok eredményességét a bioelőkészítésben.

A celluláz (FPA) aktivitással jellemezhető enzimek esetén fontos a pamutcellulóz degradációjának a követése, amit az enzim kezelés során felszabaduló redukáló cukor koncentráció, a tömegveszteség és a cellulóz polimerizációs fok (DP) értékkel jellemeztünk (6. táblázat). A jól nedvesedő szövetfelület eléréséhez szükséges (30 perces) enzim kezelés alkalmazásakor még a jelentős celluláz aktivitással rendelkező enzimek (Celluclast 1.5 L, Cellulase /EBT/) sem okoztak számottevő szövetdegradációt, amit az alacsony redukáló cukor koncentráció és a 2 % körüli tömegveszteség értékek bizonyítanak. Az enzimek hatását tehát a szálfelületen fejtik ki és a primer fal cellulóz alkotóit bontják, ezáltal elősegítve a kutikula nem-cellulóz viaszos komponenseinek az eltávolítását és a hidrofил szálfelület kialakítását.

A kezelési idő növelése főként a jelentős celluláz aktivitással rendelkező Celluclast 1.5L és Cellulase (EBT) enzimek esetén növeli a kezelőfürdő redukáló cukor koncentrációját és a szövet tömegveszteségét (4 órás kezelés: 12,8 és 18,3 mg/g pamut, illetve 3,7 és 6,3 %). A hosszabb kezelés azonban nem okozott számottevő változást a polimerizációs fokban (DP, 6. táblázat). Feltételezhető, hogy az enzimek a hosszabb kezelés során már hozzáférnek a szekunder falban lévő cellulózhoz és megkezdődik annak is a hidrolitikus degradációja. Mivel a polimerizációs fok nem változik, ezért valószínű, hogy a celluláz enzimkomplex egyes enzimjeinek szinergizmusa révén a hozzáférhető cellulóz molekulák vízzel oldható oligomerekre és glükózra bomlanak.

6. táblázat. Írtelenített pamutszövet bioelőkészítése során a felszabaduló redukáló cukor koncentráció, a szövet tömegvesztése és a cellulóz viszkozitációs polimerizációs foka^{a,222}

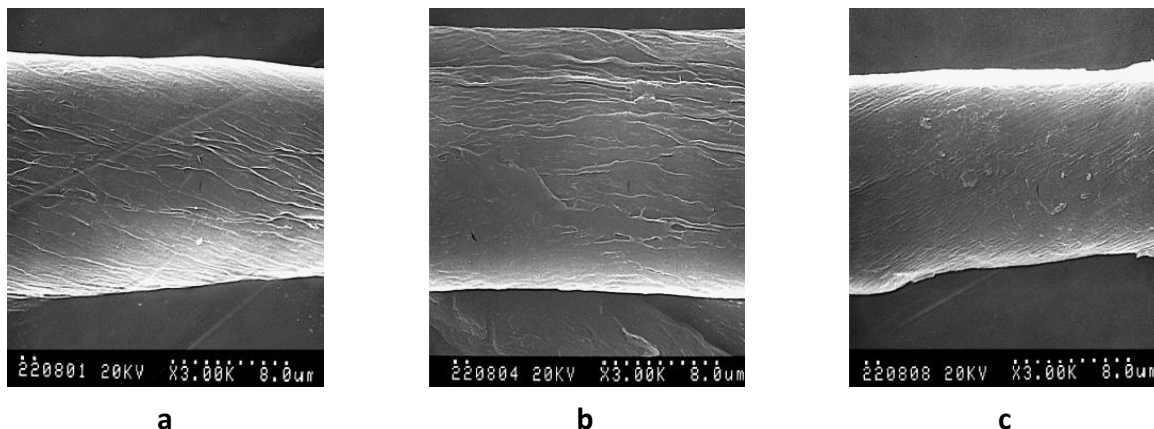
Enzim	FPA ^b (FPU/ml)	Redukáló cukor (mg/g pamut)	Tömegvesztés (%)	DP ^c
- (puffer pH=5)	-	-	0,3	1890
Viscozyme 120L	8	4	0,9	1900
Denimax Acid L	18	4	0	1990
Celluclast 1.5 L	67	6,6	2,1	2030
Cellulase (EBT)	108	4,7	1,8	2050

^a 50 °C, pH=5, 30 perc; f=1:100; enzimkoncentráció: 0,5 g/l, rázatott;

^b FPA értékek az 5. táblázatból;

^c Polimerizációs fok a 4 órás enzimes kezelés után.

Az írtelenített szövetből, valamint a celluláz enzimmel (Celluclast 1.5 L és Cellulase /EBT/) 2 óráig kezelt szövetből származó pamut elemi szálak pásztázó elektronmikroszkópos felvételeit összehasonlítva megállapítható, hogy a Cellulase (EBT) enzim esetén a szárfelület legkülső rétegének a „lehámozódása” figyelhető meg és ezáltal láthatóvá válik a szekunder fal fibrillás szerkezete (23.a,b,c ábra). Ugyanakkor még nem következik be a fibrillák elválása, ami a száldegradáció legfontosabb jele. Intenzív celluláz enzimes kezelés (13 %, 2 óra) után, a legkülső réteg lebontását követően, a szekunder fal degradációját is megfigyelték⁸⁷.



23. ábra. (a) Az írtelenített pamutszövetből, valamint (b) a Celluclast 1.5L és (c) Cellulase (EBT) enzimmel kezelt szövetből származó pamut elemi szál SEM felvétele (3000×)²²²

Enzimes kezelés: 50 °C, rázatott, pH=5, 2 óra; f=1:100; enzimkoncentráció: 1 g/l).

Összefoglalva megállapítható, hogy a celluláz és pektináz enzimek mellett a xilanázok is hatékonyak a hidrofил szárfelület kialakításában. A xilanáz enzimek jó nedvszívóképességű szövetet eredményeznek, és nem okoznak száldegradációt.

5.1.3 A pamutmagháj degradációja hidrolitikus enzimekkel²²⁸ [T1]

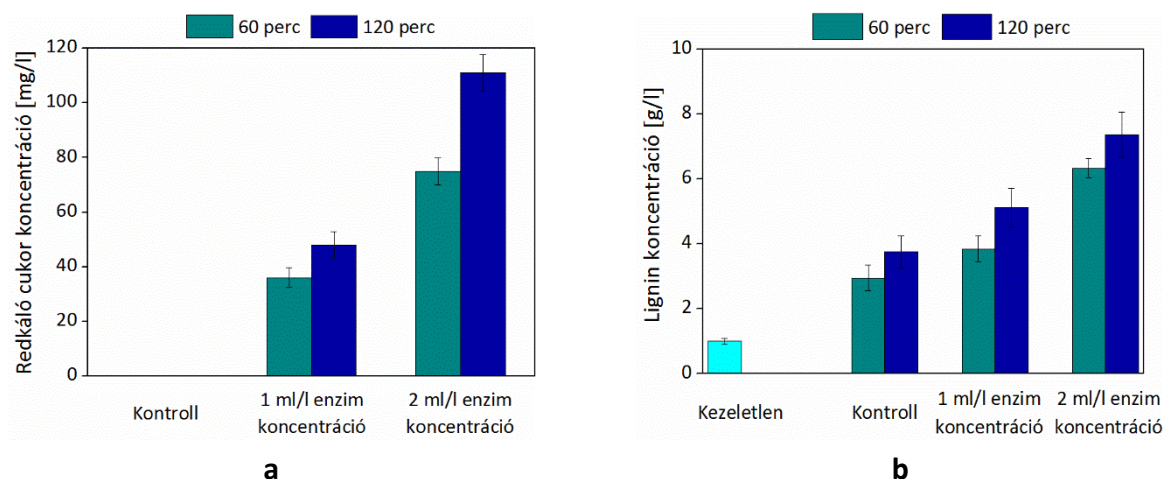
A pamutmagháj lignin-holocellulóz rendszerében a pentozán alkotók jelentős része xilán^{55,170}, amelyek kovalens kötéssel kapcsolódnak a ligninhez. A kutatásban arra kerestük a választ, hogy xilanáz (Pulpzyme HC) enzimes kezeléssel a magháj lignin-holocellulóz rendszerre megbontható-e, és ha igen, akkor ez elősegíti-e a lignin degradációját egyrészt már az enzimes kezelés során, másrészt az azt követően alkalmazott vegyszeres (nátrium-hidroxidos) kezeléskor. A kezelőoldatban mért redukáló cukor koncentráció azt jelzi, hogy a xilanáz enzimmel katalizálható a pamutmagháj xilán alkotóinak a hidrolízise (24.a ábra). A folyamatnak kedvez a kezelési idő és az enzimkoncentráció növelése. Az enzimes kezelőoldatban kis mennyiségű (0,4 g/l) lignin is detektálható.

A lignin-degradáció a xilanáz enzimes hidrolízist követően alkalmazott nátrium-hidroxidos kezelés során válik jelentőssé. Az eredmények bizonyítják, hogy a xilán enzimes degradációja és részleges eltávolítása megnöveli a magháj lignin-holocellulóz rendszerének a hozzáférhetőségét az enzimes kezelést követően alkalmazott vegyszeres kezeléssel szemben. A nátrium-hidroxid hatására kioldódó lignin mennyisége jelentős, és függ a xilanáz enzimes kezelés során bekövetkező xilán degradáció mértékétől (24.b ábra).

A tömegveszteség a magháj valamennyi alkotójának a degradációját jellemzi (7. táblázat). A nátrium-hidroxidos kezelés önmagában 66,1 %-os tömegveszteséget okoz, a 2 g/l-es xilanáz enzimes előkezelést követően pedig – az enzimes kezelés időtartamától függően – a tömegveszteség 74-75,6 %. A xilanáz enzimmel segített maghájdegradáció korábban vázolt lehetséges mechanizmusát bizonyítja a pamutmagháj színének – világosodásának (ΔL^*) – a változása az alkalmazott kezelések során (7. táblázat). A kiindulási barna színű pamutmagháj a pufferes és xilanázos kezelés hatására világosodik ($L^* : 42,1 \rightarrow 45,0$), a forró lúgos kezelés után pedig sötétedik ($L^* : 42,1 \rightarrow 40,0$). A világosodás elsősorban a vízzoldható színes komponensek eltávolításának, a sötétebb szín pedig a lignin fragmensek és más színes komponensek kondenzált vegyületeinek tulajdonítható⁷⁸. Bár a nátrium-hidroxid a sötét színű lignin kis hányadát eltávolítja (24.b ábra, kezeletlen), a folyamat nem eredményez világosodást ($L^* : 40,0$).

Ezzel szemben, a xilanáz enzimes kezelés után alkalmazott nátrium-hidroxidos kezelés során a lignin lúgos degradációja és eltávolítása olyan mértékűvé válik (24.b ábra), hogy az a magháj színváltozásában is megnyilvánul, és a világosság növekedését ($L^* : 42,2 \rightarrow 45,2$) eredményezi (7. táblázat). A lignin kioldódással párhuzamosan tehát jelentős világosodás mérhető a visszamaradó magháj minták színében a kontroll (csak lúgos főzött) mintához képest ($\Delta L^* : +2,2 \rightarrow +5,2$). Az eredmények a lignin kioldódás mértéke és a szubsztrátum világosodása közötti kapcsolatot bizonyítják. A hatékony xilanáz enzimes előkezelés tehát hoz-

zájárul a lignin olyan mértékű eltávolításához, hogy az a magháj világosodását eredményezi. A hatás analóg a papíriparban ismert biofehérítés (biobleaching) során elért hatással (15. ábra). Az eredmények tehát bizonyítják, hogy a xilanáz enzim hatékony a pamutmagháj degradációjában is.



24. ábra. (a) Pamutmagháj xilanáz enzim kezelésekor a felszabaduló redukáló cukor mennyisége az enzimkoncentráció és a kezelési idő függvényében; (b) A xilanáz enzim hidrolízist követő NaOH-os kezelés során a kioldódó lignin koncentrációja a xilanáz enzim kezelés paramétereinek a függvényében²²⁸

Kontroll: pufferes kezelés; (b) NaOH kezelés: 50 g/l, 95 °C, 20 perc.

7. táblázat. A pamutmagháj tömegvesztesége, világossági tényezője (L^*), valamint a világosság különbség (ΔL^*) a xilanáz enzim előkezelés és az azt követő nátrium-hidroxidos kezelés során, az enzim kezelés paramétereinek a függvényében²²⁸

Enzim kezelés		Tömegveszteség (%)		Világosság (L^*) ^a		$(\Delta L^*)^b$	$(\Delta L^*)^c$
Koncentráció (g/l)	Időtartam (perc)	Xilanáz	NaOH	Xilanáz	NaOH		
- ^d	60	10,2 ± 0,8	69,8 ± 0,6	44,8	42,2	-2,6	+2,2
- ^d	120	10,1 ± 0,8	71,3 ± 0,6	44,9	42,1	-2,8	+2,1
1	60	10,5 ± 0,8	69,1 ± 0,6	44,3	41,6	-2,7	+1,6
1	120	10,4 ± 0,4	70,3 ± 0,4	44,2	42,7	-1,5	+2,7
2	60	10,2 ± 0,8	74,0 ± 0,4	45,2	43,8	-1,4	+3,8
2	120	11,9 ± 0,5	75,6 ± 0,5	45,0	45,2	+0,2	+5,2

^a A kezeletlen pamutmagháj világossága (L^*): 42,1; A NaOH-dal végzett kezelés után mért L^* érték: 40,0;

^b Világosság különbség (ΔL^*) az enzimezett és az azt követően NaOH-dal kezelt pamutmagháj minták között;

^c Világosság különbség (ΔL^*) a NaOH-dal kezelt és az enzimezett+NaOH-dal kezelt pamutmagháj minták között;

^d Puffer, pH=7.

Összefoglalva megállapítható, hogy a xilanáz enzim hatékony a pamut előkészítésében, mivel segíti a hidrofíl szálfelület kialakítását és hozzájárul a pamutmagháj szennyeződés

degradációjához. A magháj xilán komponensének a bontása fokozza a lignin lúgos degradációját és kioldódását, ami a visszamaradó magháj színének a világosodásában is megnyilvánul. A lejátszódó folyamat hasonló a papíriparban ismert biofehérítéshez.

5.1.4 Az EDTA komplexképző hatása a bioelőkészítésben^{223,226,227} [T2]

A pektin molekulára jellemző ún. 'tojásosdoboz' szerkezet (5. ábra) a galakturonsav egységek szabad karboxil-csoportjai és a kalcium-ionok reakciója eredményeként jön létre. A pamutban, és különösen a pamutmaghájban, jelentős a kalcium-ionok mennyisége. (A magháj kalcium-ion tartalma kb. 28-szorosa a pamutszálénak³⁶.) A kalcium eltávolításával (pl. komplexképzéssel) az egymás mellett futó pektin molekulák között a keresztkötések eltűnnek, megszűnik az eredeti szabályos szerkezet, ami befolyásolhatja a pektin enzimes degradációját és ennek révén a bioelőkészítés eredményességét. Ugyanakkor a komplexképző az enzimre is hat^{76,93}, mivel a kalcium és más kétértékű fémionok eltávolítása károsíthatja az enzim tercier szerkezetét, ami enzimaktivitás csökkenést okozhat. Mivel a len enzimes feltárása során az EDTA komplexképző alkalmazásával érték el a legjobb eredményeket¹⁵⁻¹⁶, ezért a bioelőkészítésben mi is az EDTA hatását vizsgáltuk részletesen.

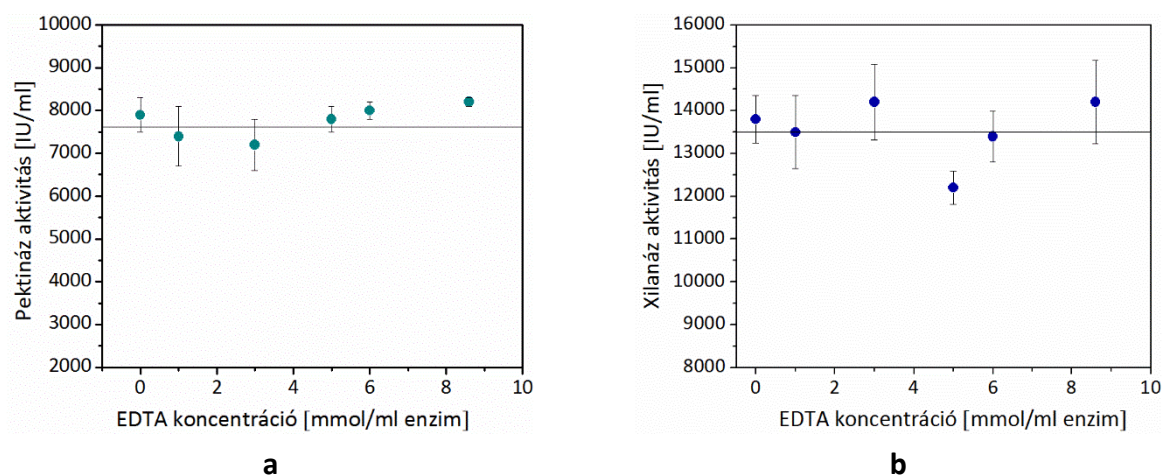
A kutatómunkában indokoltnak tartottuk megvizsgálni (1) az enzimaktivitás alakulását EDTA komplexképző jelenlétében; (2) az EDTA komplexképző pamut- és lencsövetre, valamint pamutmaghájra gyakorolt hatását; továbbá (3) a pamut és len bioelőkészítését EDTA jelenlétében. A kutatómunkában tehát az enzim-EDTA, EDTA-szubsztrátum és enzim-EDTA-szubsztrátum kölcsönhatás jellemzésére koncentráltunk. Az EDTA enzimaktivitásra kifejtett hatásának a tisztázásához a poli-galakturonázban gazdag Viscozyme 120L és a csak xilanáz aktivitással rendelkező Pulpzyme HC enzimeket használtuk. Mindkét enzim tartalmaz komplexálható fémionokat (8. táblázat). A kalcium-ionok mennyisége a Pulpzyme HC enzimben lényegesen nagyobb, mint a Viscozyme 120L enzimben.

8. táblázat. A pektináz (Viscozyme120L) és xilanáz (Pulpzyme HC) enzim fémion-tartalma ICP-OES módszerrel meghatározva²²⁷

Enzim	Koncentráció (ppm)							
	Al	Ca	Fe	K	Mg	Na	P	S
Viscozyme 120L	2,3	13,2	11,6	2860	101	39600	1160	721
Pulpzyme HC	18,5	2290	7,6	56	114	344	1250	427

Az enzimekhez EDTA komplexképzőt adtunk, és mértük az enzimek jellemző aktivitás értékeiket az EDTA-koncentráció függvényében. Az eredmények azt bizonyítják, hogy az EDTA nem befolyásolja az enzimek pektináz, illetve xilanáz aktivitását (25. a és b ábra). Meg-

jegyzendő, hogy a Viscozyme 120L enzim celluláz és xilanáz aktivitásában sem mértünk változást az EDTA jelenlétében. Feltételezhető, hogy a fémion nem a fehérje molekulába beépülve, vagy nem az enzim működéséért felelős fehérje molekula részeként van jelen, így a komplexálás nem okoz szerkezeti változást és aktivitás csökkenést.



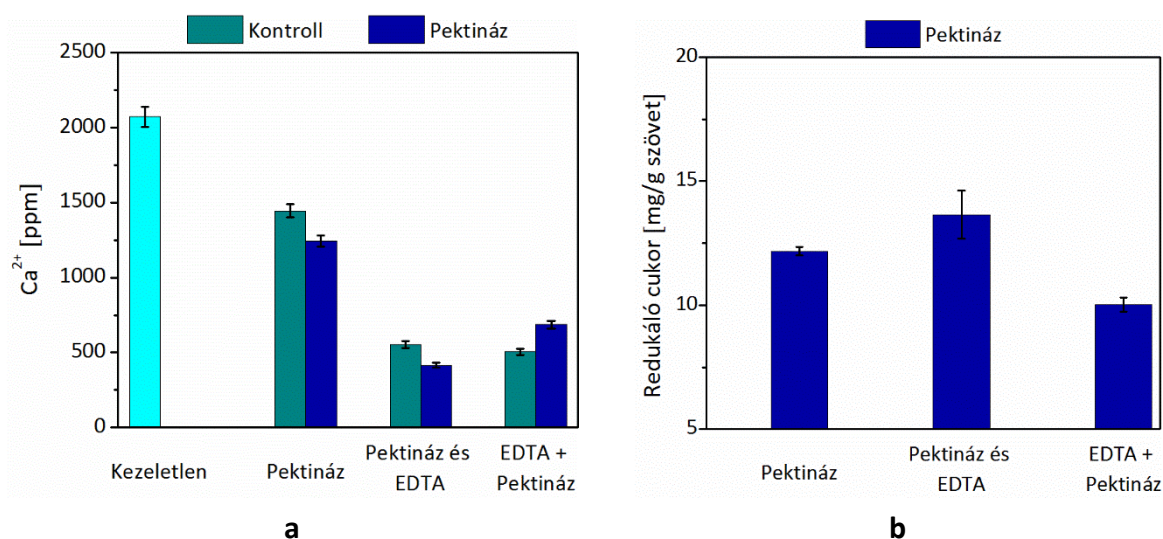
25. ábra. (a) A Viscozyme 120 L enzim pektináz aktivitása és a (b) Pulpzyme HC enzim xilanáz aktivitása az EDTA koncentráció függvényében²²⁷

Az EDTA komplexképző hatását a bioelőkészítésben a lencszövet példáján mutatjuk be, mivel a len pektin tartalma lényegesen nagyobb a pamuténál. A pektináz enzimmel (Viscozyme L) és EDTA komplexképzővel (1 mM/g szövet) a következő kísérleteket végeztük el: (a) pektináz enzim kezelés; (b) pektináz enzim és EDTA együttes alkalmazása; (c) EDTA előkezelés, majd azt követően alkalmazott pektináz enzim kezelés. Mértük a szövetben visszamaradó kalcium-ion koncentrációt ICP-OES módszerrel, továbbá követtük az enzim hidrolízis során a termék koncentráció alakulását.

A nyers lencszövet kalcium-tartalma (2070 ppm) jelentősen csökken a kezelések során (26.a ábra). Különösen az EDTA és pektináz együttes alkalmazásakor eredményes a komplexálás, hiszen a kiindulási érték 80 %-kal csökken és a visszamaradó mennyiség csupán 416 ppm. Az EDTA-előkezelés után alkalmazott pektináz enzim kezelés (EDTA + Pektináz) kevésbé hatékony (kb. 67 %-os csökkenés). A fémionokat a savas pufferes kezelés (kontroll) is eredményesen távolítja el, EDTA-val együtt és azt követően is. Az enzim és EDTA együttes alkalmazásakor bekövetkező jelentős fémion-tartalom csökkenést nagymértékű redukáló cukor felszabadulás kíséri, ami fokozódó hidrolízist jelez (26.b ábra). Feltételezzük, hogy a pektinben található kalcium-keresztkötések megszűnésével kialakuló nyitott szerkezet hozzáférhetővé teszi a pektint az enzim számára, ahol az azonnal ki tudja fejteni a katalitikus hatását. Az EDTA tehát jelentősen befolyásolja a pektináz enzim hidrolízis eredményességét, mivel módosítja a pektin szerkezetét, és feltételezhetően javítja az enzim hozzáférhető-

ségét a pektin szubsztrátumhoz. A csak pektinázzal végzett kezelés során felszabaduló redukáló cukor koncentráció EDTA jelenlétében 13 %-kal nő. Az enzim és az EDTA szinergizmusa révén a hidrolízis is és a fémion-extrakció is az enzim-EDTA-szubsztrátum rendszerben a leghatékonyabb.

Az EDTA-val végzett előkezelés hatékonynak bizonyult a kalcium-ionok eltávolításában, de csökkentette a pektináz enzim hatékonyságát. A felszabaduló redukáló cukor koncentráció 17 %-kal elmarad a csupán pektináz enzimet tartalmazó kezelőfürdőben mért értéktől. A mérési eredmények alapján az feltételezhető, hogy az EDTA hatására – a kalcium-ionok komplexálása révén – kialakuló nyitott és hozzáférhető szerkezet csak ideiglenesen jellemzi a szálanyagot. A kezelést követően valószínűleg „bezárul”, „összeomlik”, és ezáltal egy kevésbé hozzáférhető új szerkezet alakul ki, amely már nem kedvez az azt követően alkalmazott enzimes reakciónak. Az EDTA kedvező hatása az enzimes kezelést követő öblítés során is megnyilvánult¹⁹³. A kutikula maradványainak az eltávolítása ugyanis magas hőmérsékleten (90 °C) és nagy nedvesítőszer koncentrációnál (0,5 g/l), továbbá komplexképző alkalmazásakor volt a legeredményesebb.

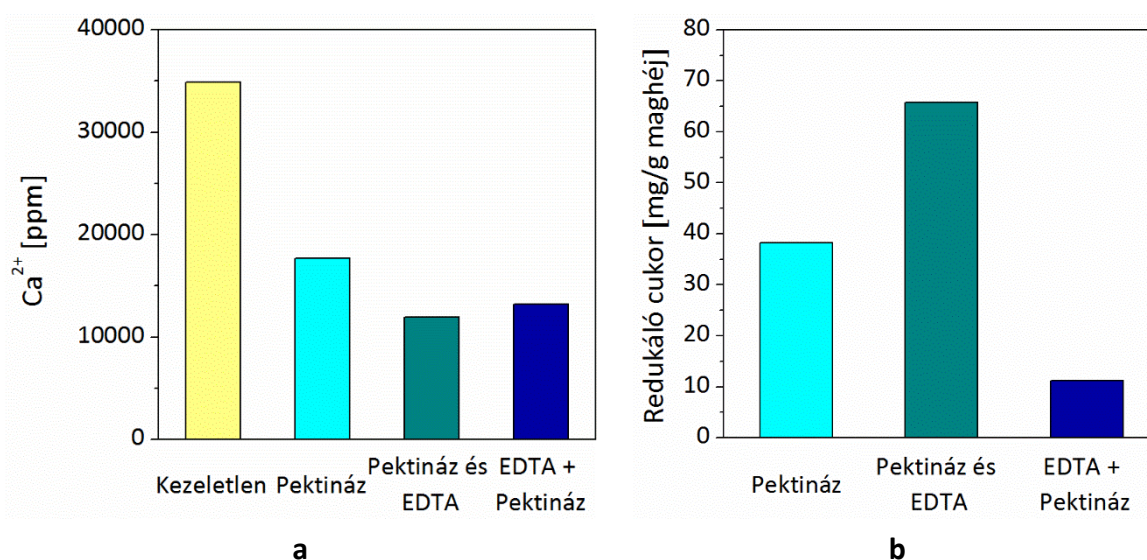


26. ábra. Lenszövet pektináz (*Viscozyme L*, pH 5) enzimes bioelőkészítése során az EDTA komplexképző (1 mM/g szövet) hatása (a) a szövetben visszamaradó kalcium-ion mennyiségére; (b) az enzimes kezelés során keletkező redukáló cukor koncentrációra²²⁶

Kontroll: pufferes kezelés (pH 5);

Megvizsgáltuk az EDTA hatását egy másik szubsztrátumon – a pamutmaghéjon – is, és annak a megerősítését vártuk, hogy a kalcium-ionok komplexbe vitelével a pamutmaghész enzimes degradációja is fokozható. Pektináz és xilanáz enzimet alkalmaztunk a lenszövetnél ismertetett kombinációkban. Az EDTA-val együtt alkalmazott pektináz enzimes kezelés során

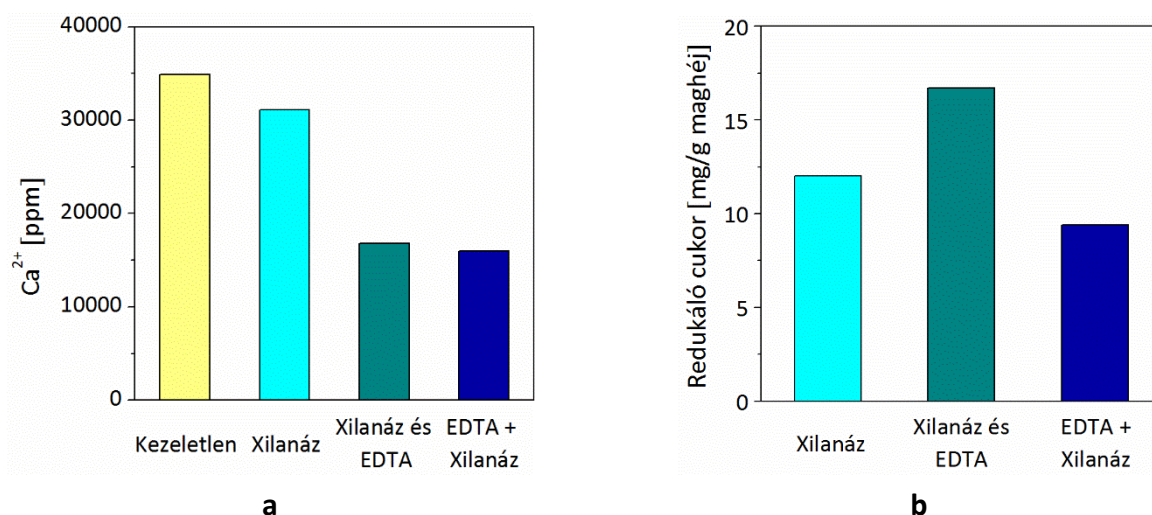
a maghéjban visszamaradó kalcium-ionok mennyisége a legkisebb (27.a ábra), az enzimes folyamatban felszabaduló redukáló cukor koncentráció pedig a legnagyobb (27.b ábra). A kiindulási 34000 ppm-es kalcium-ion koncentráció EDTA és enzim együttes alkalmazásakor 11990 ppm-re csökken, míg a kétlépéses EDTA + pektináz enzimes kezelés után a mért érték 13200 ppm. A csak pektinázzal végzett kezeléshez képest az EDTA és enzim együttes alkalmazásával 72 %-kal nő a felszabaduló redukáló cukor koncentráció. Az EDTA előkezelés pedig közel azonos mértékben (71 %) csökkenti azt. A 26. és 27. ábrán bemutatott eredmények tehát két különböző szubsztrátum esetén bizonyítják az EDTA kedvező hatását a pektináz enzimmel végzett bioelőkészítésben.



27. ábra. Pamutmaghéj pektináz (*Viscozyme L*, pH 5) enzimes bioelőkészítése során az EDTA (0,5 mM/g maghéj) hatása (a) a maghéjban visszamaradó kalcium-ion mennyiségére; (b) az enzimes kezelés során felszabaduló redukáló cukor koncentrációra²²⁷

Xilanáz enzimmel és EDTA-val végzett pamutmaghéj degradáció során is hasonló hatás figyelhető meg (28. ábra). A lignocellulóz rendszerekben, mint amilyen a nyers len és a pamutmaghéj, a cellulóz fibrillákat a pektin és xilán polimerek által létrehozott mátrix veszi körül (5.b és 6.b ábra). A pektin és a xilán egymáshoz viszonyított helyzetét és az általuk létrehozott rendszert jól jellemezhetjük az egymásbahatoló háló (interpenetrating network) kifejezéssel. Egy ilyen rendszerben, az egyik polimerben lezajló változás a másik hozzáférhetőségét és reakcióképességét is megváltoztathatja. A kalcium-ionok kivonása a pektinből fokozza az ezzel egyidejűleg alkalmazott xilanáz enzimes hidrolízis hatékonyságát, amit a 38 %-kal nagyobb redukáló cukor koncentráció bizonyít (28.b ábra). Ugyanakkor, az EDTA-val végzett előkezelés nem kedvez a xilán enzimkatalizált hidrolízisének, ami a 22 %-os redukáló cukor koncentráció csökkenésben nyilvánul meg.

Az eredmények értékelésekor érdemes a két enzim hatását is összevetni. Mivel a pektináz enzim celluláz aktivitással is rendelkezik (5. táblázat), ezért a kalcium-ionok eltávolítása és ennek révén a pektin hatékony degradációja hozzájárul a cellulóz fibrillák hozzáférhetőségének a növeléséhez és hidrolízisük fokozódásához, ami lényegesen nagyobb felszabaduló redukáló cukor koncentrációt eredményez, mint a csak xilanázzal végzett folyamat (lásd 27.b és 28.b ábra). A cellulóz-xilán-pektin hálózat cellulóz és pektin alkotóinak degradációjával fokozódik a kalcium-ionok eltávolítása is.



28. ábra. Pamutmagháj xilanáz (Pulpzyme HC, pH 7) enzimmel végzett bioelőkészítése során az EDTA (0,5 mM/g maghéj) hatása (a) a maghéjban visszamaradó kalcium-ion mennyiségére; (b) az enzimes kezelés során keletkező redukáló cukor koncentrációra²²⁷

Hasonló következtetés vonható le a nyers pamut komplexképzővel végzett bioelőkészítése során mért tömegveszteség értékekből is (9. táblázat). A pamut elemi szál primer fala szintén egymásbatható hálónak tekinthető. A kalcium-ionok kivonása a pektinből elősegíti a pektin és a xilán degradációját, de fokozza a celluláz enzimek hatását is azért, hogy a pektin-xilán mátrixba ágyazott cellulóz fibrillák hozzáférhetősége fokozódik. Legnagyobb tömegveszteséget a Celluclast 1.5 L enzim (3 %), legkisebbet a Pulpzyme HC enzim (1,4 %) okozott.

A maghéjvizsgálatok, továbbá a len- és pamutszövettel végzett kísérletek eredményei az enzim és az EDTA komplexképző együttes alkalmazásának a kedvező hatását bizonyították a bioelőkészítésben. Az elmúlt időszakban az EDTA és más komplexképzők hatását a cellulóz alapú szelasanyagok bioelőkészítésében széleskörűen vizsgálták, és sok publikációban igazolták a megállapításainkat^{106,171,172,175}. Az Innotex cég (Csehország, Dvur Kralove) Texazym SC márkanevű pektináz enzimjét a cég által forgalmazott Tannex BCAN komplex-

képzővel együtt alkalmazva ajánlja a pamut bioelőkészítésére. A bioelőkészítés üzemesítése során mi is az enzimoldathoz adtuk a komplexképzőt.

9. táblázat. A pamutszövet tömegvesztesége a különböző aktivitású enzimekkel végzett bioelőkészítés során, EDTA nélkül vagy EDTA-val²²³

Kezelés ^a	Alkalmazott enzim és a mért tömegveszteség (%)		
	Celluclast 1.5L ^b	Viscozyme 120L ^b	Pulpzyme HC ^c
Enzim	1,7 ± 0,3	1,6 ± 0,1	0,9 ± 0,1
Enzim és EDTA	3,0 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,4 ± 0,2

^a 50 °C, 1 óra, f=1:100, 0,5 mmol EDTA, 1 g/l enzim, rázatott;

^b pH=5;

^c pH=7.

Összefoglalva megállapítható, hogy a bioelőkészítés hatékonysága jelentősen növelhető az enzimoldathoz adott komplexképzővel. Bizonyítottuk, hogy az EDTA komplexképző a vizsgált koncentráció tartományban nem csökkenti a hidrolitikus enzimek (pektináz és xilanáz) domináns aktivitását. Feltételezzük, hogy az EDTA módosítja a szubsztrát (lenszövet, pamutmaghéj) szerkezetét azáltal, hogy eltávolítja a pektin makromolekulák között kereszt-kötést létesítő kalcium-ionokat. Az enzim és EDTA szinergizmusa révén az enzim-EDTA-szubsztrát rendszerben az enzimkatalizált reakció is és a fémion-extrakció is hatékonyabb. Az EDTA-val végzett előkezelés nem segíti az azt követően alkalmazott enzimes reakciókat.

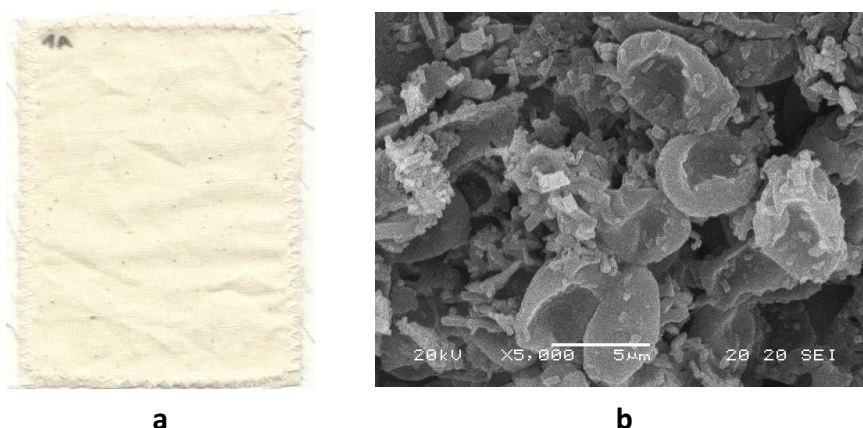
5.1.5 Bioelőkészítés szilárd fázisú fermentációval előállított hidrolitikus és oxidatív enzimekkel^{229,230,231} [T3]

A kétezres évek elején nyilvánvalóvá vált, hogy a bioelőkészítés sikeres és széleskörű elterjedését elsősorban a pamutmaghéjak nem megfelelő mértékű eltávolítása gátolja⁴⁴. A nyers szövet felületén apró barna foltokként megjelenő maghéjak (29.a ábra) lignin-holocellulóz rendszere a bioelőkészítés során csak részlegesen degradálható. A maghéj lignin komponensének a degradációját ugyanis oxidatív enzimek katalizálják.

Kutatómunkánkban szilárd fázisú fermentációval oxidatív enzimeket állítottunk elő. A szilárd szubsztrátum (szénforrás) kémiai összetétele, részecskemérete, vízvisszatartása és fajlagos felülete alapvetően befolyásolja a fermentáció eredményességét és a hozamot. Lignocellulóz szubsztrátok alkalmazása például pozitív hatással van a lignin-peroxidázok termelésére^{176-179,77}. Mivel elsődleges célunk a maghéj hatékony enzimes degradációja volt, ezért ebben a kísérletben pamutmaghéj hulladék volt a szilárd szubsztrátum, hogy elősegítsük a szubsztrátspecifikus enzimkomplex indukálódását, és ezáltal a szöveten lévő maghéj szennyezés degradációjában eredményes enzimek előállítását. A szilárd fázisú fermentációval tehát célirányosan, pamutmaghéj szubsztrátumon állítottunk elő oxidatív és hidrolitikus

aktivitással rendelkező enzimkomplexeket, és vizsgáltuk hatékonyságukat a pamutmaghéj degradációjában, továbbá a lignin-tartalmú len bioelőkészítésében.

A fermentációhoz különböző törzsgyűjteményekből származó *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus* és *Trichoderma* törzseket használtunk (4.2. fejezet). A fermentált maghéj szubsztrátumokból (29.b ábra) pufferes extrakcióval nyert nyers enzimidatokat az enzimaktivitás vizsgálatokhoz, valamint a pamut és len bioelőkészítésében használtuk. Egy másik kísérlet-sorozatban az enzimben gazdag szilárd fermentummal végeztük a bioelőkészítést.



29. ábra. (a) Maghéjak a pamutszöveten; (b) *Ph. chrysosporium* NCAIM F00740 törzs szilárd fázisú fermentációja pamutmaghéj szubsztrátumon (SEM, 5000 $\times$)^{229,231}

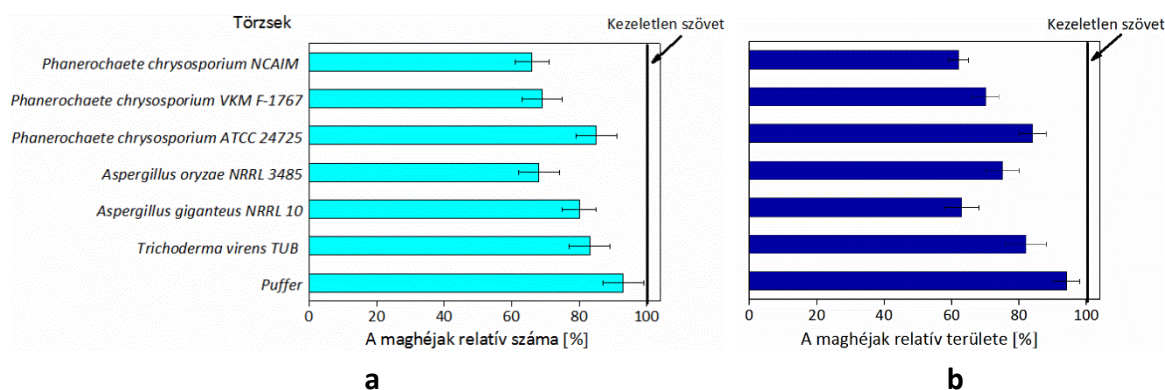
A szilárd fermentumok színe és szemcsemérete, valamint a gombaszaporodás mértéke eltérő volt a különböző gombatörzseknél. Legjelentősebb enzimtermelést az *Aspergillus oryzae* és a *Phanerochaete* törzsek mutattak. Valamennyi gombatörzs termelt cellulolitikus enzimeket és xilanázt, valamint lakkáz, lignin peroxidáz és mangán peroxidáz aktivitást is mértünk a nyers enzimidatokban (10. táblázat).

A nyers enzimidatokat először a szövettől elkülönített maghéjvizsgálatok során tettük. A legeredményesebb *Phanerochaete chrysosporium* (NCAIM F-00740) és *Aspergillus oryzae* (NRRL 3485) törzsek 28-29 %-os tömegvesztést okoztak, és a *Phanerochaete chrysosporium* esetén a kezelőoldatban jelentős volt a redukáló cukor koncentráció. Összehasonlításképpen megvizsgáltuk az ipari Celluclast 1.5 L celluláz (1 g/l, f=1:100, 50 °C, 1 óra), valamint a Roglyr Lite 1540 lakkáz (az SSF-fel termelt nyers enzimidatok lakkáz aktivitásával megegyező koncentrációban alkalmazva) enzimmel elérhető maghéjdegradációt. A cellulázzal 23 %-os tömegcsökkenést mértünk, a lakkáz pedig nem degradálta a pamutmaghéjat [nem publikált eredmények]. Az előkísérletek tehát az SSF-fel előállított, hidrolitikus és oxidatív aktivitással jellemezhető enzimkomplexek eredményességét bizonyították.

10. táblázat. A szilárd fázisú fermentációval termelt enzimek legjelentősebb aktivitás értékei egységnyi tömegű fermentált pamutmaghéj szubsztrátumra vonatkoztatva²²⁹

Törzs	LiP (IU/g) × 10 ³	MnP (IU/g) × 10 ³	Lac (IU/g) × 10 ³	EG (EGU/g)	βGluc (IU/g)	Xyl (IU/g)
<i>Ph. chrysosp.</i> NCAIM	54 ± 1	50 ± 6	59 ± 8	530 ± 11	11 ± 1	209 ± 8
<i>Ph. chrysosp.</i> VKM F-176	66 ± 4	46 ± 4	8 ± 0	510 ± 16	17 ± 1	208 ± 24
<i>Ph. chrysosp.</i> ATCC 24725	55 ± 2	62 ± 4	58 ± 6	456 ± 12	19 ± 1	293 ± 15
<i>A. oryzae</i> NRRL 3485	131 ± 7	58 ± 3	96 ± 1	466 ± 10	44 ± 3	326 ± 34
<i>A. giganteus</i> NRRL 10	61 ± 1	46 ± 3	56 ± 4	144 ± 4	35 ± 2	53 ± 3
<i>T. virens</i> TUB F-498	37 ± 2	40 ± 3	28 ± 1	36 ± 3	18 ± 1	33 ± 4

A szövetvizsgálatok során a szöveten lévő maghéjak számát és területét szkennelés és az azt követően alkalmazott képanalízis segítségével határoztuk meg. A kiindulási írtelenített pamutszövet maghéjasságához (100 %) viszonyítva, az enzimes kezelés után a szöveten maradó maghéjak száma is és területe is csökkent (30.a,b ábra). A *Ph. chrysosporium* NCAIM F00740 törzzsel értük el a legkedvezőbb hatást. Ígéretesnek bizonyult még a két *Aspergillus* törzs is. A nyers enzimidatokkal a szöveten lévő maghéjak területe és száma a kiindulási érték közel 60 %-ára csökkent. A hagyományos lúgos főzéssel is hasonló mértékű csökkenés érhető el a szövet maghéjtartalmában³¹.*



30. ábra. A szilárd fázisú fermentációban nyert nyers enzimidatok maghéjdegradációra kifejtett hatása a különböző törzsek esetén. (a) A szöveten lévő maghéjak számának és (b) területe a kiindulási értékhez viszonyítva²²⁹

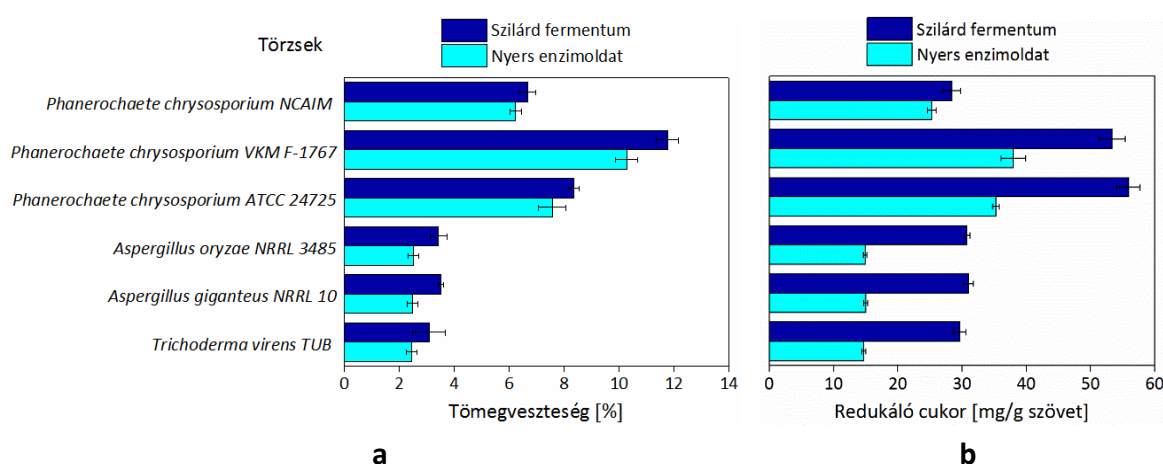
* A fenti eredményeinkről Ian R. Hardin (Georgia Power Professor of Textile Science, GA, USA) az "Enzymatic treatments versus conventional chemical processing of cotton" (Advances in textile biotechnology, Woodhead Publishing Limited. Oxford, Chapter 6, p 132-149, 2010) című könyvfejezetben a következőket írja:

"A unique approach was the application of a hydrolytic and oxidative enzyme mixture produced by solid-state fermentation on seed coat fragments (Csiszar *et al.*, 2007). The seed coat fragments were used as a carbon source for the production of the enzymes, which were then applied to the seed coat fragments in fabrics, with promising results. At present, despite the advances that have been made, a completely enzymatic process for removing and decolorizing seed coat fragments in woven fabric has not been achieved, though the solid state fermentation approach seems to generate the specific enzymes that will be needed for success."

Eredményesebb a maghéjdegradáció, ha a kezelést a fermentált szilárd szubsztráttal végezzük. Azonos enzimkoncentráció esetén a kiemelkedően eredményes *Ph. chrysosporium* NCAIM F00740 törzsszel például a maghéjak által elfoglalt terület 52 %-ra csökken, és hasonló eredmény érhető el az *Aspergillus oryzae* (NRRL 3485) és *Aspergillus giganteus* (NRRL 10) törzsekkel is (53-55 %). A *Trichoderma virens* (TUB F-498) törzsszel nyert nyers enzimoldattal csupán 82 %-ra, a fermentált szubsztráttal viszont 55 %-ra csökkent a szövetfelületen visszamaradó maghéjak területe (*nem publikált eredmények*). Az eukaliptusz facellulóz SSF-fel előállított xilanázokról is bizonyították, hogy a fermentumok – elválasztás és tisztítás nélkül – eredményesen alkalmazhatók az eukaliptusz cellulóz biofehérítésére¹⁸⁰.

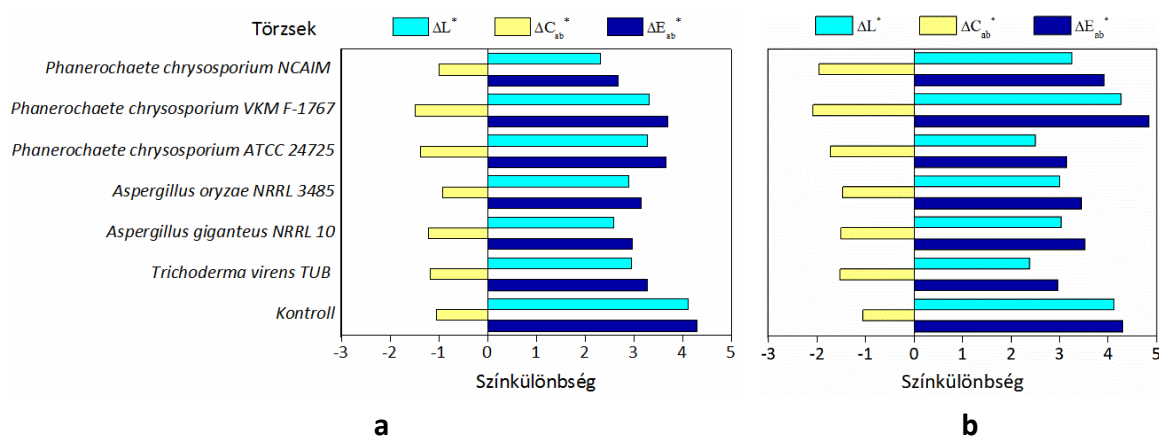
Megjegyzendő, hogy a szövet maghéj-tartalmának kvantitatív jellemzésére eddig nem volt módszer a szakirodalomban. Az általunk alkalmazott és a képanalízisre alapozott megoldás alapjául szolgált azoknak a kutatásoknak, amelyek célja a szöveten lévő maghéjak gyors és megbízható detektálására alkalmas szoftverek fejlesztése és szabványosítása¹⁸¹⁻¹⁸³.

A len rost szerkezetének, valamint a lényegesen nagyobb természetes kísérőanyag tartalmának köszönhetően a szilárd fázisú fermentációval előállított enzimek hatása a lensezövetre jelentősebb, mint a pamutszövetre. Mindkét szövetnél a legnagyobb tömegvesztést és redukáló cukor felszabadulást a *Phanerochaete* törzsek okozták, amelyeknek jelentős a hidrolitikus (FPA, Xyl) aktivitása is. De míg a pamutszövetnél 2,2-2,7 %-os a tömegvesztés, addig a len esetén 6-12 %-os (31.a ábra). Az enzim kezelés során keletkező redukáló cukor koncentráció 7-9 mg/g szövet volt a pamutszövetnél, a lennél lényegesen nagyobb. A kezelés sokkal hatékonyabb a fermentált szubsztrátummal, mint a nyers enzimoldattal (31.b ábra).



31. ábra. A szilárd fermentumok és a nyers enzimoldatok hatása (a) a nyers lensezövet tömegvesztésére; és (b) az enzim kezelés során keletkező redukáló cukor koncentrációra az SSF-ben alkalmazott törzsek esetén²³⁰

Az oxidatív és hidrolitikus enzimek szinergizmusa a len lignin-tartalmú színes komponenseinek az eltávolítását eredményezi (32. ábra), ami szemmel észrevehető színváltozással jár ($\Delta E > 0,5$). A biofehérítést, azaz a telítettség csökkenését és a világosság növekedését, színméréssel igazoltuk. A fermentált szubsztrátummal jelentősebb a világosodás (ΔL pozitív) és az elszíntelenedés (ΔC negatív), mint az enzimoldattal. Leghatékonyabbnak a *Ph. chrysosporium* VKM F-1767 törzs bizonyult ($\Delta E_{ab}^* = 4,8$; $\Delta L^* = 4,3$; $\Delta C_{ab}^* = -2,2$).



32. ábra. (a) A nyers enzimoldatoknak, valamint (b) a szilárd fermentumoknak a nyers lencszövet színére kifejtett hatása az SSF-ben alkalmazott különböző törzsek esetén²³⁰

Színkülönbség értékek a nyers lencszövet színéhez viszonyítva.

Az enzimes kezelés után alkalmazott enyhe hidrogén-peroxidos fehérítés (30 %-os H_2O_2 , 1 ml/l) során bebizonyosodott, hogy az enzimezett lencszövet fehéríthetősége lényegesen felülmúlja a nem enzimezett kontroll mintáét (11. táblázat). Míg a kontroll minta fehérség növekedése 13,3, addig a *Ph. chrysosporium* VKM F-1767 enzimoldattal kezelt szöveté 17,3. A szövetek végső fehérsége között is jelentős a különbség (13,8 és 18,5). Legnagyobb fehérségi mérőszámot a *Ph. chrysosporium* VKM F-176 fermentummal előkezelt és fehérített szövet estén mértünk (20,2). Az enzimes kezelés tehát hatékonyabbá teszi az azt követő vegyszeres kezelést, azaz a fehérítést. Hasonló hatást tapasztaltunk korábban a hidrolitikus enzimekkel végzett maghéjdegradációt követő lúgos főzés után¹⁷⁰, és mások is azt találták, hogy a bioelőkészítés fokozza az azt követő vegyszeres kezelés eredményességét¹⁸⁴.

Összefoglalva tehát: szilárd fázisú fermentációval célirányosan, pamutmagháj hulladékon, mint szénforráson állítottunk elő hidrolitikus és oxidatív aktivitással rendelkező enzimkomplexekeket, majd alkalmaztuk azokat a pamutszöveten lévő maghéjak degradációjára. Az eredmények egyértelműen bizonyítják, hogy az enzimkomplexeek alkalmasak a pamutmagháj hatékony degradációjára. A nyers fermentum közvetlenül is alkalmazható, és eredményessége felülmúlja a nyers enzimoldatét. Más kutatók szerint is különböző aktivitású (celluláz, pektináz, xilanáz, lignin-oxidáz) enzimekkel érhető el jelentős maghéj-

degradáció⁴¹. A nyers enzimek és a szilárd fermentumok bontják a len lignin-tartalmú színes kísérőanyagait is. Különösen a szilárd fermentummal végzett kezelés a hatékony, és a szövet jelentős világosodását eredményezi. A lenszövet fehéříthetősége jobb, mint a nem enzimezett kontroll mintáé.

11. táblázat. A nyers enzimdattal, valamint a szilárd fermentummal kezelt lenszövet hidrogén-peroxidos fehéřítése. Fehéřségnövekedés és az elért végső fehéřség az SSF-ben alkalmazott különböző törzsek esetén^{a, 230}

Törzs	Enzimoldat		Szilárd fermentum	
	Fehéřség növekedés ^b	Fehéřség ^c	Fehéřség növekedés ^b	Fehéřség ^c
<i>Ph. chrysosp. NCAIM</i>	13,5	13,3	12,4	14,8
<i>Ph. chrysosp. VKM F-176</i>	17,2	18,5	17,0	20,2
<i>Ph. chrysosp. ATCC 24725</i>	15,3	16,4	14,2	15,8
<i>A. oryzae NRRL 3485</i>	15,1	15,4	13,2	14,3
<i>A. giganteus NRRL 10</i>	13,9	13,6	14,9	16,1
<i>T. virens TUB F-498</i>	16,1	16,4	12,5	13,5
Kontroll	13,3	13,8	-	-

^a Fehéřítés: 1 ml/l 30 % H₂O₂, f 1:50, 85 °C, 1 h;

^b Fehéřség növekedés: az enzimezett szövet fehéřségéhez viszonyítva;

^c Fehéřség: WI_{E313}.

5.1.6 A bioelőkészítés hatása a szálanyagok felületi tulajdonságaira^{232,233,235,236,243} [T4]

Az előző fejezetekben bemutattuk, hogy enzimek és komplexképző alkalmazásával elérhető a bioelőkészítés alapvető célja, vagyis – a kísérőanyagok enzimkatalizált degradációja és eltávolítása révén – a hidofil szálfelület kialakítása. A kísérletek során fontos volt egyrészt az enzimes hidrolízis jellemzése, amihez például mértük a szubsztrátum tömegvesztését vagy követtük a termékképződést; másrészt a kelme előkészítés szempontjából fontos tulajdonságainak a meghatározása, amihez gyorsan és egyszerűen kivitelezhető textilvizsgálatokat (pl. nedvesedőképeség, szín) alkalmaztunk.

A kutatómunka folytatásában anyagtudományi vizsgálatokkal a szálanyag felületi és tömbi tulajdonságait jellemeztük, hogy a bioelőkészítés mechanizmusára vonatkozó információt nyerjünk. A szálfelület nem-cellulóz komponenseinek enzimes degradációja módosítja a felület kémiai összetételét és morfológiáját, és ezáltal befolyásolhatja a szálanyag textiltechnológia és felhasználás szempontjából fontos tulajdonságait: megváltozhat az enzimes kezelés után alkalmazott vegyszeres kezelések szálanyagra kifejtett hatása és módosulhatnak a végső száltulajdonságok.

A 12. táblázat eredményei alapján megállapítható, hogy a lúgos főzés lényegesen több kísérőanyagot távolít el a laza nyers pamutból (3,2 %), mint a bioelőkészítés (0,7 %). A lúgos főzés eredményesebb a színes kísérőanyagok degradációjában is, amit a nagyobb világosság (L^*) és fehérség (WI_{CIE}) értékek jeleznek. Ugyanakkor mindkét kezelés jól nedvesedő szövetfelületet eredményez (lásd 5.1.2. fejezet). A bioelőkészítés során az enzimek (pl. pektinázok) a viaszréteg repedésein keresztül érik el a viaszréteg alatt lévő szubsztrátumot – azaz a pektint –, és ott kifejtik a katalitikus hatásukat. A pektin degradációja és eltávolítása a felületi viaszréteg eltávolítását is eredményezi⁸⁷. A száliban visszamaradó pektinre vonatkozó eredmények azt jelzik (12. táblázat), hogy a bioelőkészítés során a viasz eltávolítás csak részleges, és a szálfelület egy részét a kezelést követően is viasz borítja. Ezt erősítik meg az inverz gázkromatográfiával nyert eredményeink is (33. ábra).

12. táblázat. Nyers, pektináz enzimmel kezelt és hagyományos lúgos főzéssel tisztított laza pamut nem-cellulóz kísérőanyagainak mennyiségére jellemző értékek²³²

Kezelés	Tömegveszteség (%)	Visszamaradó pektin (%) ^a	L^*	WI_{CIE}
- (Nyers)	-	100	86,8	16,6
Lúgos főzés	$3,2 \pm 0,4$	0	90,4	32,6
Bioelőkészítés ^b	$0,7 \pm 0,3$	14,8	89,4	26,1

^a Ruténium vörös színezéssel meghatározva;

^b Beisol PRO pektináz enzim (1 ml/l enzim, f= 1:50, pH 6,5-8,5; 55 °C, 15 perc).

A viaszréteg eltávolításával csökken a pamut hidrofób jellege, ami a felületi energia, és ezáltal a felületi szabadenergia diszperziós komponensének (γ_s^d) a növekedését okozza (33.a ábra). A legkisebb felületi szabadenergiákat a nyers pamuton ($39,0 \pm 0,9$ mJ/m², 30°C), a legnagyobbakat a lúgos főzött ($41,7 \pm 0,9$ mJ/m², 30°C) mintákon lehetett mérni. A bioelőkészített minta γ_s^d értéke 30 °C-on $40,0 \pm 0,7$ mJ/m². Az enzimezett minta felületi szabadenergiája tehát a nyers és a lúgos főzött minta között van. A lúgos főzés hatására gyakorlatilag teljesen, az enzimes kezeléssel azonban csak részlegesen távolítható el a pamuton levő viaszréteg. A nyers pamut és a részlegesen, illetve teljesen viasztalanított pamut felületi szabadenergiájában mért különbségek a valóságban nagyobbak, mint az IGC-vel mért felületi feszültségből számítható különbség, mivel a módszer során a felületek szabadenergiájának diszperziós részét a szilárd felület és a különböző normál szénhidrogének kölcsönhatására jellemző adszorpciós szabadentalpia változásból származtatjuk, amit egyértelműen befolyásol (növel) a felületi viaszréteg²⁴³. A viasszal borított felületnél ugyanis az apoláris molekulák és a viaszréteg kölcsönhatása következtében nagyobb lesz az adszorpciós képesség a normál alkánoknál, ami nagyobb felületi energiát eredményez. Ez a hatás a telje-

sen viasztalanított (lúgos főzött) pamutnál nem érvényesül, ezáltal kisebb különbség mérhető a minták felületi feszültsége között.

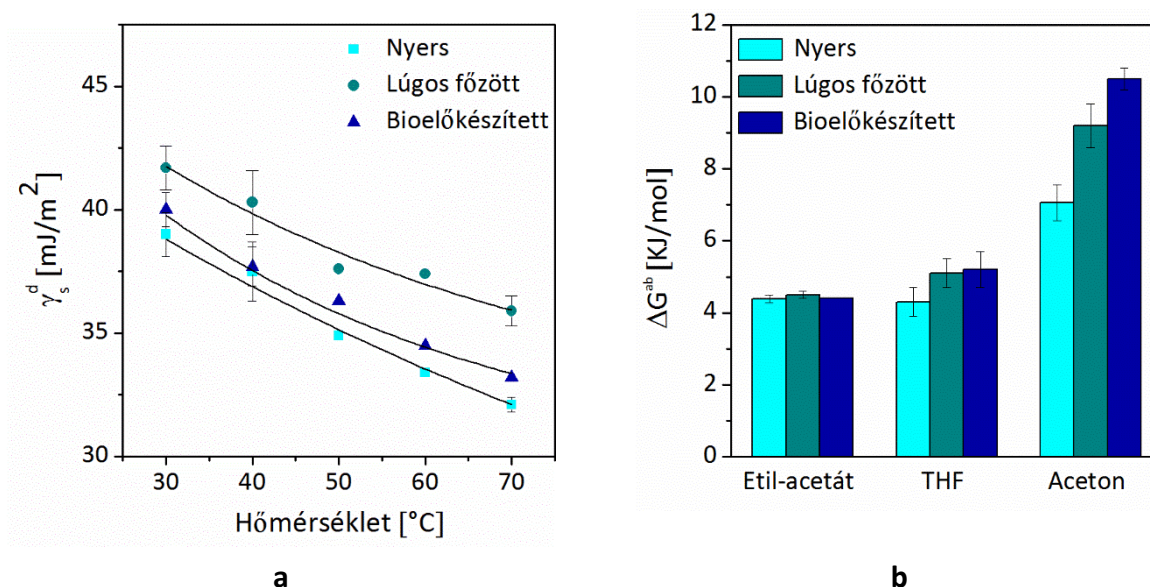
Egyes szerzők kisebb értéket publikáltak a felületi szabadenergia diszperziós komponensére a nyers, viasszal borított pamutra, mások viszont nagyobb értékeket kaptak olyan mintáknál, ahol a felületet nem-cellulóz anyagok (pl. viasz, hidrofobizáló szer) borították. A nyers pamutra a γ_s^d értéke $41,9 \text{ mJ/m}^2$, a fehérítettre pedig $30,2 \text{ mJ/m}^2$ volt^{185,186}. Az IGC-vel meghatározott felületi jellemzők közötti különbség elsősorban az eltérő előéletű és tulajdonságú – de gyakran azonos módon megnevezett – vizsgált mintákra, a változatos minta előkészítésre és az eltérő mérési körülményekre vezethető vissza. Egyetértés van viszont a szakirodalomban arra vonatkozóan, hogy a γ_s^d értéke csökken a hőmérséklet növelésével (33.a ábra), ami a fiziszorpciós kölcsönhatások erősségének hőmérséklet emelés hatására bekövetkező gyengülésével magyarázható^{185,186}.

A poláris molekulák adszorpciója is bizonyítja, hogy a viaszos külső réteg eltávolításának köszönhetően növekszik a felületi energia. A poláris folyadékok különböző pamut tölteteken mérhető retenciós ideje elsősorban az adszorbens és az adszorbátum közötti kölcsönhatás erősségétől függ. Mivel a kétféle előkészített (enzimes, vegyszeres) hidrofil laza pamut sokkal erősebb kölcsönhatást tud kialakítani poláris oldószerekkel, mint a hidrofób kezeletlen pamut, előbbieknél az adszorbátum és a nem adszorbeálódó metán retenciós csúcsai elváltak, a nyers, laza pamuttölteten azonban nem. Mérhető retenciós idők eléréséhez és a pamut hozzáférhetőségének növeléséhez a nyers laza pamutot megőröltük, és az őrölt nyers pamuttölteten már mindkét alkalmazott hőmérsékleten (30 és 40 °C) lehetett mérni a poláris adszorbátum molekulákat. A lúgos főzés és a bioelőkészítés javította a poláris adszorbátumok mérhetőségét laza pamuton, és alacsony hőmérsékleten (30 °C) már laza minták esetén is mérhető volt a poláris oldószerek retenciós ideje. Ennek megfelelően a felületi donor-akceptor számokat a poláris molekulák adszorpciós szabadentalpia változásának a specifikus komponenséből (ΔG^{ab}) határoztuk meg. A 30 °C-on meghatározott ΔG^{ab} értékeket a 33.b ábra, a számított sav-bázis együtthatókat pedig a 13. táblázat szemlélteti.

A viasszal borított szálfelület bázikus karakterű. A nyers (őrölt) pamuthoz képest jelentősebb K_D értékekkel jellemezhetők a viasz eltávolítását célzó előkezelések után visszamaradt hidrofilebb szálfelületek. A K_D/K_A értékek 6,2 és 6,6 között változnak. A 30 °C-on meghatározott értékek – ha figyelembe vesszük a meghatározás során alkalmazott közelítéseket és a meghatározás hibáját – nem mutatnak jelentős különbséget, így a lúgos főzéssel és a bioelőkészítéssel viasztalanított szálfelületek bázicitása hasonló.

A pamutra publikáltak hasonló sav-bázis jellemzőket¹⁸⁵⁻¹⁸⁷, mások viszont a nyers és fehérített pamutot amfoter jellegűnek mérték, és a fehérített pamut esetén a savas karakter

valamivel erősebb volt, mint a bázikus (K_A : 0,2695; K_D : 0,1439)¹⁸⁸. Az eredményekben fellelhető ellentmondás a korábban már említett okokra, valamint a paraméterek eltérő kiszámítási módjára vezethető vissza. Például a K_A és K_D konstansok az adszorpció entalpiaváltozásából (ΔH^{ab}), vagy a szabadentalpia változásból (ΔG^{ab}) is kiszámíthatók. Eltérést okozhat az is, hogy milyen, az irodalomban közölt akceptor (AN) és donor (DN) értékekkel számolnak.



33. ábra. (a) Nyers, lúgos főzött és pektináz enzimmel kezelt laza pamut felületi szabadenergiájának diszperziós komponense a hőmérséklet függvényében IGC-vel meghatározva; (b) Az adsorbens felületi szabadentalpiájának poláris komponenséhez rendelhető, 30 °C-on mérhető adszorpciós szabadentalpia változás specifikus komponense különböző pamut/oldószer párokra²³². (A „Nyers” érték őrlött pamuton mérve)

13. táblázat. Lúgos főzött és enzimmel kezelt laza pamutminták, valamint az őrlött nyers pamut sav-bázis együtthatói 30 °C-on^{a, 232}

Pamutminta	K_A (-)	K_D (-)	K_D/K_A	R^b
Lúgos főzött	0,052	0,340	6,6	0,9412
Enzimezett ^b	0,060	0,372	6,2	0,9197
Őrlött nyers ^c	0,038	0,149	3,9	0,9676

^a A K_A és K_D értékek a 30 és 40 °C-on meghatározott ΔG^{ab} -ból származnak;

^b Beisol PRO pektináz enzim (1 ml/l enzim, pH 6,5-8,5; f=1:50, 55 °C, 15 perc);

^c Nem publikált eredmények.

A heterogén fázisú textilkémiai folyamatokban egy adott kémiai reakció lejátsszódását megelőzően a fázishatáron fellépő molekuláris kölcsönhatásoknak kiemelkedő jelentősége van. A kémiai reakció lejátsszódásának ugyanis előfeltétele a szálfelület jó nedvesedőképessége és a folyadékfázisban oldott vegyszerek adszorpciója a szálfelületen. Mindkét folyamatot jelentősen befolyásolja a felület elektrondonor/akceptor jellege. Érdemes még megje-

gyezni azt is, hogy az enzimezett minta felületén visszamaradó kb. 15 % pektin [poli(galakturonsav) és annak metilezett származéka] nem változtatja meg a felület bázicitását. Ez azt bizonyítja, hogy a pektin a szálfelület külső rétegei alatt helyezkedik el, nem hozzáférhető az IGC során alkalmazott poláris oldószer molekulák számára, így nem befolyásolja azok adszorpcióját.

Az őrléssel jelentősen változik a szálak felületkémiája, ami befolyásolhatja az IGC-vel nyert eredményeket. Többféle módszerrel bizonyítottuk, hogy őrlés hatására új, és oxigénben gazdag tiszta cellulóz felületek alakulnak ki, és feltételezhető, hogy az őrlött minta felületi energiája nagyobb, mint a szál, viasszal borított pamuté. Röntgendiffrakcióval pedig azt bizonyítottuk, hogy az őrlött pamut a szálhoz képest egy több hibahelyet tartalmazó kristályszerkezettel jellemezhető^{233,236}. Irodalmi adatok alapján a kevésbé kristályos, a kevésbé sima, a több hibahelyet tartalmazó kristályos felületen az apoláris és poláris próbamolekulák megkötődése gátolt¹⁸⁵. Mindkét hatás befolyásolja a minta viselkedését az IGC-s mérések során és a kapott értékeket. Az utóbbi jelentősebb lehet, mivel – várakozásunkkal ellentétben – kisebb felületi energiát mértünk az őrlött pamut (és len) esetén, mint a szál pamutnál (és lennél)²⁴³. A felület kémiai összetételén kívül tehát a felület nanomorfológiája is jelentős hatást gyakorol az IGC-vel meghatározható felületi kölcsönhatásokra.

Bár az IGC mérések egyértelműen bizonyították a lúgos főzés és az enzimes kezelés hatékonyságát és a pamut felületi fizikai-kémiai tulajdonságaira gyakorolt hatását, a mérhető különbség a pamutot borító viasz réteg és egyéb, az adszorpciós képességet befolyásoló tényezők (morfológiai paraméterek) miatt kisebb volt, mint ami egyéb mérések alapján feltételezhető. Ezen okok miatt, továbbá a len kezelése során bekövetkező pórusszerkezet változás nyomkövetése miatt a len mintákat a pamutnál alkalmazott mérések mellett más módszerrel is vizsgáltuk.

A nyers lenben a természetes kísérőanyagok mennyisége lényegesen nagyobb, mint a nyers pamutban, emiatt az előkészítés során bekövetkező tömegcsökkenés is jelentősebb. A lúgos főzés nem specifikus, ezért eltávolítja a hemicellulózok és a pektin egy részét, a felületi viaszréteget és más lúgoldható komponenseket, kb. 5,3 %-os tömegvesztést okozva (14. táblázat). A pektinázok a pektinre hatnak és ennek révén részlegesen eltávolítják a külső viaszréteget, továbbá kioldódnak a vízdoldható komponensek a szálból. A mért tömegvesztés 2,7 % (Beisol PRO) és 4,2 % (Texazym SC). Mindegyik kezelés jól nedvesedő szövetfelületet eredményez (nedvesedési idő < 3 s). Megjegyzendő, hogy a kísérőanyag eltávolítás nem okoz számottevő szilárdságvesztést, és az egy fonálra eső relatív szakítóerő értékek nem különböznek a kezeletlen szövet értékétől. Jelentősebb a száldegradáció a H₂O₂-os fehérítés után, de az értéke nem haladja meg a 18 %-ot. Az amorf nem-cellulóz kísérőanyagok

eltávolítása a sejtközi állományból jelentősen növeli a szövet rugalmasságát (14. táblázat).

FT-IR ATR vizsgálatokkal bizonyítottuk a pektin és a szárfelületet borító viaszos anyagok mennyiségének a csökkenését a kezelések során (34.a ábra). A pektinben lévő galakturonsav vagy annak metil-észter csoportjai jellemző rezgése az 1730 cm^{-1} hullámszámnál jelentkezik, és a csúcs intenzitása a kezelés eredményességétől függően jól észrevehetően változik: a nyers lentől a lúgos főzéssel tisztított lenig csökken. A relatív intenzitás értékeket¹⁸⁹ összehasonlítva megállapítható, hogy a pektin eltávolítás mértéke a Texazym SC enzimmel a legnagyobb ($0,39 \rightarrow 0,33$). A Beisol PRO és a lúgos főzés eredményessége közel azonos ($0,37-0,36$) (14. táblázat). Emellett a nyers szövet spektrumában a 2916 és 2850 cm^{-1} hullámszámnál megjelenő (metilén aszimmetrikus és szimmetrikus CH-vegyérték rezgés), a hidrofób felületre jellemző csúcsok intenzitása a kezelések hatására csökken, illetve eltűnik, ami a felület hidrofób alkotóinak az eltávolítását jelzi.

14. táblázat. A lenseövet nem-cellulóz kísérőanyagainak a mennyiségére jellemző paraméterek, valamint a szakítószilárdság és nyúlás értékek a hagyományos lúgos főzés és a bioelőkészítés után²³⁵

Kezelés	Tömegvesztés (%)	Relatív szakítóerő (N/fonal) ^b	Szakadási nyúlás (%) ^b	Relatív intenzitás ^c	γ_s^{total} (mJ/m ²) ^d
- (Nyers)	-	$17,5 \pm 0,6$	$11,6 \pm 0,4$	0,39	23,7
Lúgos főzés	$5,3 \pm 0,4$	$16,8 \pm 0,7$ ($14,4 \pm 0,6$)	$15,4 \pm 1,0$ ($25,3 \pm 0,6$)	0,37	29,2
Beisol PRO ^a	$2,7 \pm 0,1$	$17,8 \pm 0,9$ ($14,7 \pm 0,7$)	$14,6 \pm 1,0$ ($22,1 \pm 0,1$)	0,36	29,3
Texazym SC ^a	$4,2 \pm 0,3$	$16,8 \pm 1,4$ ($14,9 \pm 0,9$)	$16,0 \pm 0,6$ ($23,0 \pm 0,8$)	0,33	31,0

^a Pektináz enzim;

^b A zárójelben a fehérített szövet értéke van megadva;

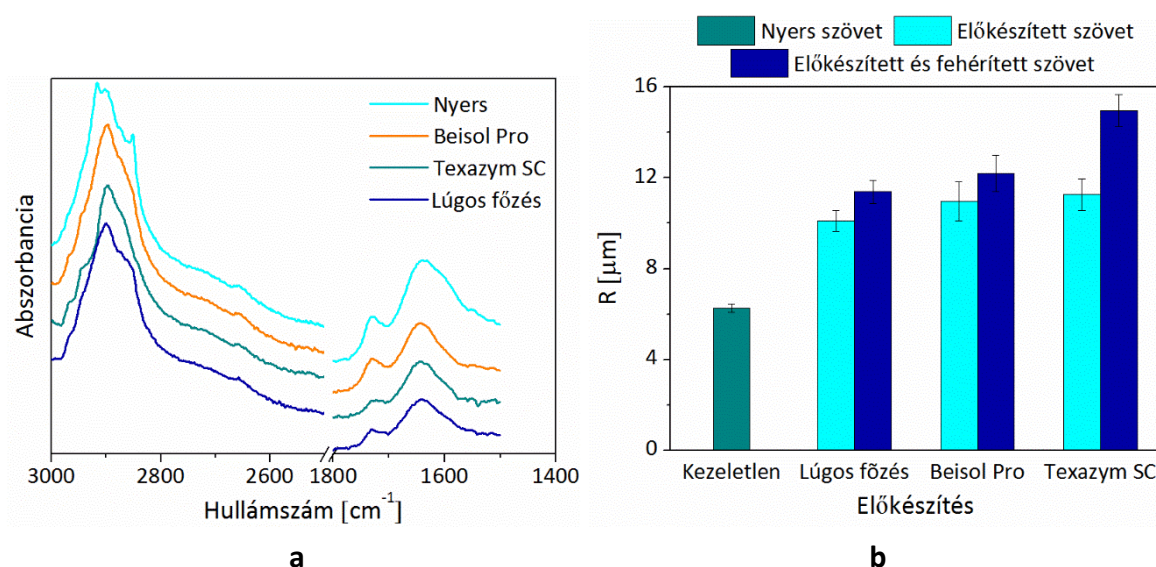
^c Az IR spektrumban az $1727-1732\text{ cm}^{-1}$ közötti intenzitás a 609 cm^{-1} hullámszámnál mérthez viszonyítva;

^d A felületi szabadenergia folyadékszívással meghatározva.

A nem-cellulóz kísérőanyagok eltávolításával megváltozik a lenrost felületi összetétele és a nedvesedőképesége. Módosul a pórusszerkezet is, hiszen a pektin jelentős része nem a kutikulában, hanem a sejtközi állományban van. A változások a folyadékszívás méréssel jól követhetők. Elsősorban a kis pórusoknak köszönhető a folyadékfront mozgása és ezáltal a nagyobb szívási sebesség¹⁹⁰. Különböző felületi feszültségű folyadékokkal meghatároztuk a szívási sebességet és kiszámítottuk a látszólagos kapilláris sugár értékét (34.b ábra). Ennek segítségével pedig meghatároztuk a különböző módon előkészített szövetek felületi szabadenergiájának diszperziós és poláris komponensét.

A nyers lenseövet látszólagos kapilláris sugár (R) értéke – vagyis annak a képzeletbeli kapillárisnak a sugara, amelynek a szívási teljesítménye megegyezik a vizsgált szövetével –

6,27 μm . A kísérőanyagok eltávolítása a szálfelületről és a sejtközi állományból új pórusok kialakulását eredményezi, nő a szövet szívási teljesítménye és a látszólagos kapilláris sugár is. A Beisol PRO enzimmel hasonló R értéket kaptunk, mint a lúgos főzés után (10,1 μm), a Texazym SC enzimmel kezelt szövetnél pedig az érték (11,3 μm) meghaladja a lúgos főzött szövetét. Az R értékből számolt felületi szabadenergia nyers len esetén 23,7 mJ/m^2 , és jelentősen nő valamennyi kezelés hatására. A kísérőanyagok lúgos vagy enzimes eltávolítása után az értékek a 29,2 – 31,0 mJ/m^2 intervallumban vannak (14. táblázat). Nyers lenre IGC-vel²³⁶ (γ_s^d : 40,0 mJ/m^2 , 40 °C) és peremszög méréssel²⁴³ (γ_s^d : 38,6 mJ/m^2 , 23 °C) nagyobb értéket határoztunk meg. Bár a mért felületi feszültség értékek nehezen hasonlíthatók össze, hiszen a módszerek számos közelítést tartalmaznak, a kezelés okozta változások követésére, a kialakuló új felületek összehasonlítására viszont az egyes módszerek jól alkalmazhatók.



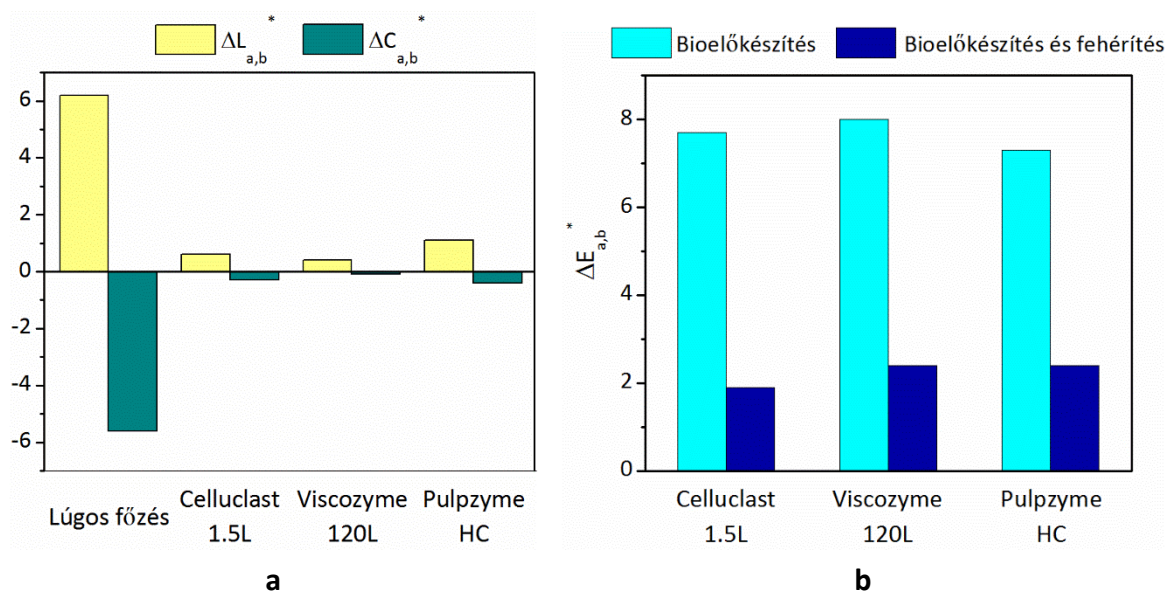
34. ábra. (a) Nyers és előkészített lencszövetek FT-IR ATR spektruma; (b) Nyers és előkészített, valamint fehérített lencszövetek látszólagos kapilláris sugár (R) értéke²³⁵

Összefoglalva elmondható, hogy anyagtudományi vizsgálatokkal a szálfelületen és a pórusszerkezetben – az alkalmazott enzimes és vegyszeres kezelés hatására – bekövetkező változások jól jellemezhetők. FT-IR ATR módszerrel a szálfelület összetételére, IGC-vel és folyadékszívással pedig a felület energetikájára és sav-bázis jellemzőire kaptunk információt. A γ_s^d értékek, valamint a pektin és az azzal arányos viasz mennyiségére vonatkozó adatok igazolják azt a korábbi megállapítást, hogy a viasz eltávolítása a pektináz enzimes kezelés során nem teljes. A viasszal borított szálfelület bázikus karakterű, de a felület polaritása nem jelentős. A nyers pamuthoz képest jelentősebb K_d értékekkel jellemezhetők a viasz eltávolítását célzó előkezelések után visszamaradt hidrofíli szálfelületek. Lencszövetek esetén a folyadékszívással meghatározott látszólagos kapilláris sugár értéke a pórusszerkezetben bekö-

vetkező változásokra utal, és a pektin, valamint a viaszok eltávolítása következtében kialakuló új szerkezetet jellemzi.

5.1.7 A bioelőkészített szövetek fehéríthetősége és színezhetősége^{224,235} [T5, T6]

Már a kutatómunka kezdetén megállapítottuk, hogy a bioelőkészített pamutszövetek színegyenletessége kiváló ($\overline{\Delta E_{ab}^*} < 0,2$), a fehérsége azonban elmarad a hagyományosan főzött szövet fehérségétől (35.a ábra). Enyhe hidrogén-peroxidos fehérítés hatására azonban a színkülönbség jelentősen csökken (fehérítés előtt $\Delta E_{a,b}^* \approx 8,0$; után $\Delta E_{a,b}^* \approx 2,0$; 35.b ábra).



35. ábra. (a) Világosság ($\Delta L_{a,b}^*$) és telítettség ($\Delta C_{a,b}^*$) különbség a kiindulási írtelenített pamutszövethez viszonyítva; (b) Színkülönbség ($\Delta E_{a,b}^*$) a bioelőkészített, a bioelőkészített és fehérített, valamint a vegyszeresen előkészített pamutszövetek között²²⁴

Két ipari pektináz enzim alkalmazásával tovább vizsgáltuk a folyamatok szövetszínre gyakorolt hatását. A lencszövet Berger fehérsége ($WI_{\text{Berger}}: -2,5$) és sárgasági indexe azonos a lúgos főzés és a Texazym SC-vel végzett bioelőkészítés után ($WI_{\text{Berger}}: \sim 4,9$; 36.a ábra; $YI_{E313}: 29,7$ és $29,3$; 15. táblázat). Ez alapján feltételezhető, hogy az enzim és lúgos kezelés után a lencszövetben visszamaradó színes komponensek mennyisége közel azonos. Mindkét kezelés növeli a világosságot és csökkenti a telítettséget. A Beisol PRO enzim szövetszínre gyakorolt hatása mérsékeltebb, hiszen a szövet fehérsége kisebb ($WI_{\text{Berger}}: < 2$), sárgasági indexe pedig nagyobb ($YI_{E313}: 32,3$), mint a lúgos főzés és a Texazym SC-vel végzett kezelés után.

A H_2O_2 -os fehérítés sokkal jelentősebb hatást fejt ki a bioelőkészített szövetekre, mint a lúgos főzöttre (36.a ábra). Ennek eredményeképpen a Texazym SC-vel kezelt szövet fehérsége lényegesen meghaladja a lúgos főzött és fehérített szövet értékét (12,6; 7,9). A

Beisol PRO-val enzimezett és a lúgos főzött szövetek között meglévő fehérség különbség pedig eltűnik a H_2O_2 -os fehérités után (36.a ábra). Az adatok azt bizonyítják, hogy a bioelőkészített szövetek fehérethetősége jobb, mint a lúgos főzött szöveté. A pektin eltávolítása a bioelőkészítés során megváltoztatja a lenrost szerkezetét, amit már a látszólagos kapilláris sugár értékek is mutattak (34.b ábra). Az enzimes kezelés után hozzáférhetőbb szál-szerkezet alakul ki, mint a lúgos főzés után. Ennek eredményeképpen, a nyitottabb szerkezettel rendelkező Texazym SC-vel kezelt szövet H_2O_2 fogyasztása 19 %-kal nagyobb, mint a lúgos főzött szöveté (36.b ábra), holott a színes anyag tartalmuk közel azonos volt a fehérités előtt. A Beisol PRO-val bioelőkészített szövet H_2O_2 fogyasztása pedig 67 %-kal nagyobb, mint a lúgos főzött szöveté, ami egyrészt a bioelőkészített szövet nagyobb hozzáférhetőségével, másrészt a színes alkotók nagyobb mennyiségével magyarázható. A nagyobb H_2O_2 fogyás pedig nagyobb fehérség különbséget és végső fehérséget eredményez (15. táblázat).

15. táblázat. A nyers lenszövet színváltozása az előkészítés (lúgos főzés, enzimes előkezelés) és az azt követő hidrogén-peroxidos fehérités után²³⁵

Alkalmazott kezelés	ΔW_{Berger}	Y_{E313}	Színkülönbség ^{c,d}		
			ΔL_{ab}^*	ΔC_{ab}^*	ΔE_{ab}^*
- (Nyers szövet)	-	$37,3 \pm 0,4$	-	-	-
Lúgos főzés	7,4 ^a	$29,7 \pm 0,5$	6,36 ^c	-2,38 ^c	6,94 ^c
Beisol PRO	4,5 ^a	$32,3 \pm 0,3$	3,41 ^c	-1,72 ^c	3,92 ^c
Texazym SC	7,4 ^a	$29,3 \pm 0,2$	3,13 ^c	-2,85 ^c	4,26 ^c
Lúgos főzés + fehérités	3,1 ^b	$30,2 \pm 0,3$	22,92 ^d	0,28 ^d	22,93 ^d
Beisol PRO + fehérités	5,5 ^b	$30,7 \pm 0,6$	23,46 ^d	0,58 ^d	23,46 ^d
Texazym SC + fehérités	7,7 ^b	$28,1 \pm 0,4$	24,12 ^d	-0,62 ^d	24,13 ^d

^a Fehérség különbség a nyers és az előkészített (lúgos főzött, illetve enzimes) szövetek között;

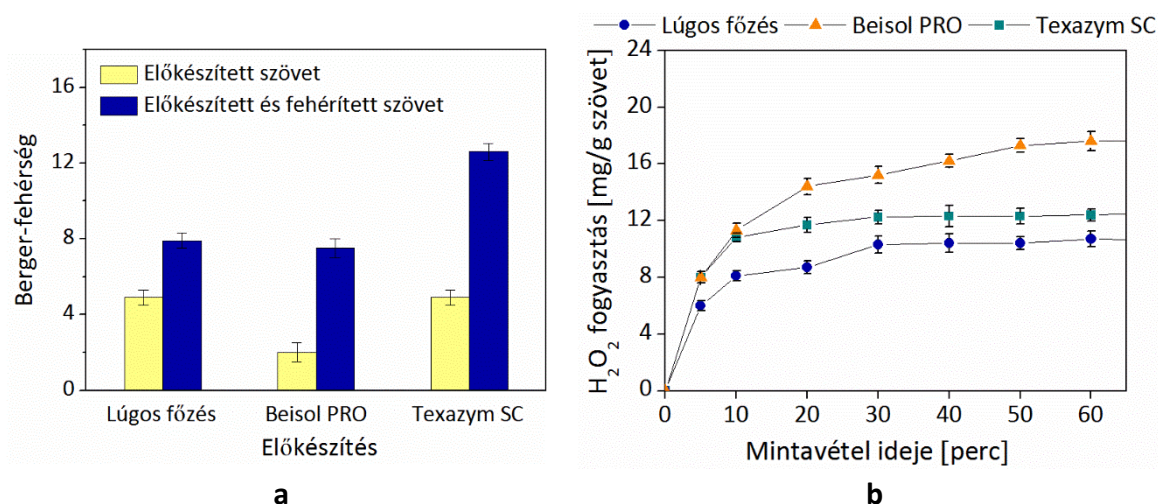
^b Fehérség különbség az előkészített és a fehéritett szövetek között;

^c Színkülönbség a nyers és az előkészített (lúgos főzött, illetve enzimes) szövetek között;

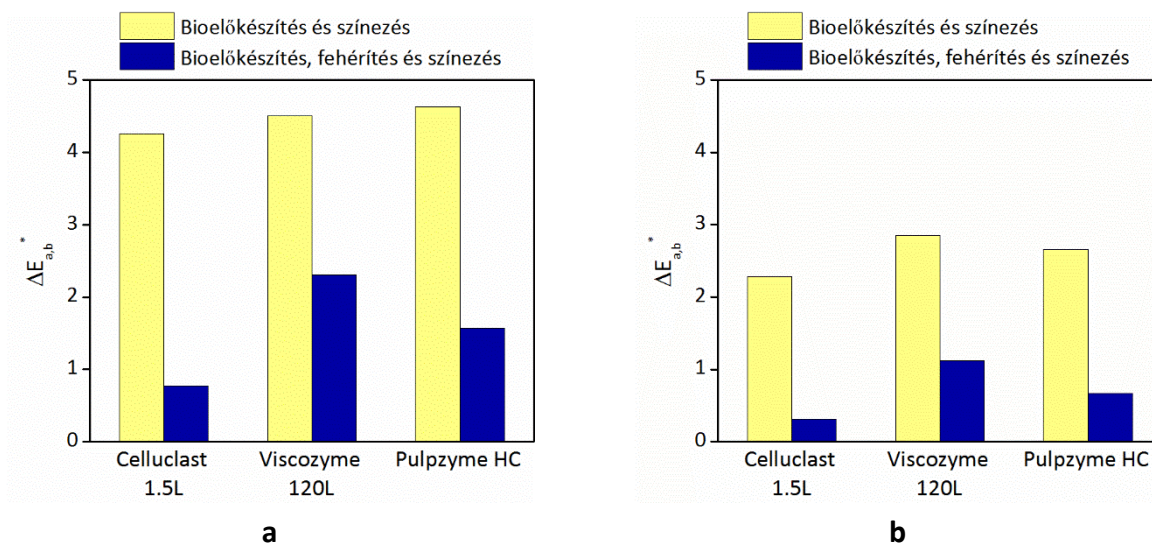
^d Színkülönbség az előkészített és a fehéritett szövetek között.

A különböző módon előkészített szövetek színe befolyásolja a színezhetőséget. Ennek jellemzésére reaktív színezést alkalmaztunk egyrészt a lúgos főzés, illetve a bioelőkészítés után közvetlenül (fehérités nélkül), másrészt a hidrogén-peroxidos fehéritést követően. A közvetlenül színezett pamutszövetek között mérhető színkülönbség lényegesen nagyobb, mint fehérités alkalmazásával. Továbbá, a nagyobb színezék koncentrációnál (2 %) kisebb a mérhető színkülönbség (37.a,b ábra). A színezett szövetek közötti színkülönbséget az előkészítés, valamint az előkészítés és fehérités után meglévő színkülönbségek határozzák meg, és különösen jelentős ez a hatása kis színezék koncentrációknál. A színezett szövetek színegyenletessége kiváló. Különböző színezéket és színezési technológiát alkalmazva igazolták a

bioelőkészített szövetek színezhetőségére vonatkozó megállapításainkat¹⁹¹⁻¹⁹³. Jelenleg a közös kezelőfürdőben végzett bioelőkészítés és színezés megvalósíthatóságát vizsgálják.



36. ábra. (a) A hagyományos lúgos főzés, a bioelőkészítés, majd az azt követő hidrogén-peroxidos fehérités hatása a lenszövetek Berger fehérségére; (b) A különböző módon előkészített lenszövetek hidrogén-peroxid fogyasztása a kezelési idő függvényében²³⁵



37. ábra. Színkülönbség a lúgos főzött és a különböző enzimekkel bioelőkészített pamutszövetek között (a) 0,2 %-os és (b) 2 %-os reaktív színezés után, fehérités közbeiktatásával vagy anélkül²²⁴

Összefoglalva megállapítható, hogy a lúgos főzés hatékonyabb a színes kísérőanyagok eltávolításában, mint a bioelőkészítés, ezért a bioelőkészített szövet fehérisége elmarad a főzött szövetétől. Enyhe H₂O₂-os fehérités hatására azonban a színkülönbség jelentősen csökken, vagy eltűnik, mivel a bioelőkészített lenszövetek fehéritethetősége jobb, mint a lúgos

főzött szöveté, ami a pektináz enzimes kezelés során kialakuló nyitottabb pórusszerkezettel és a H_2O_2 jobb hozzáférhetőségével magyarázható. A pamutszövet a bioelőkészítést követően oxidatív fehérítés nélkül is színezhető reaktív színezékekkel. Nagyobb színezék koncentráció (2 %) esetén szemmel nem érzékelhető a színekülönbség az előkészítési technológiától függően. Kisebb színezék koncentrációnál (0,2 %) azonban a színekülönbség nagy, és az előkészítés után meglévő színekülönbségre vezethető vissza, ami fehérítéssel csökkenthető.

5.2 BIOKIKÉSZÍTÉS: LEN ÉS LEN-TARTALMÚ SZÖVETEK FOGÁSJAVÍTÁSA

5.2.1 Bevezetés

A len- és len-tartalmú szövetek merevsége, nem megfelelő fogása és esése a fás részeket is tartalmazó merev rostkötegeknek tulajdonítható. A tulajdonságok javítására régóta alkalmazzák a sziloxánokkal végzett vegyszeres lágyítást, az utóbbi időben pedig egyre elterjedtebb az enzimmel végzett fogásjavítás. A biokikészítés csak akkor eredményes, ha intenzív mechanikai hatással párosul. Az enzimes kezelést ezért általában szakaszos üzemmódban végzik és olyan berendezésben, ahol a köteg alakban mozgó kelme nagy erőhatásnak van kitéve. A mechanikai igénybevételt „törésnek” nevezik és önmagában – enzimoldat nélkül – is alkalmazzák („száraz törés”). Hasonlóan intenzív mechanikai hatást laboratóriumi körülmények között nehéz elérni. Általában a kelme mozgatásával (pl. horizontális vagy vertikális rázatás/forgatás) és a kezelőoldatba helyezett adott számú fémkoronggal növelhető az enzimes reakció eredményessége¹²⁴.

Kutatómunkánkban főzött len- és len-tartalmú szövetek [100 % len, féllen és len-poliészter (33/67%)] fogásának és esésének a javítását kombinált (vegyszeres, enzimes) kikészítéssel, és intenzív mechanikai hatás alkalmazásával vizsgáltuk laboratóriumi és üzemi körülmények között. A laboratóriumi kísérletek célja a cellulóz alapú szálanyagok (főként pamut) biokikészítésére ajánlott celluláz-hemicelluláz aktivitású enzimek (Tynozim VP, Roglyr 1530 Sevosoft VCE; Függelék – F1. táblázat) lenszövetre kifejtett hatásának a jellemzése volt. A szövettulajdonságok és a technológiai paraméterek közötti összefüggések meghatározását követően a biokikészítést üzemi körülmények között vizsgáltuk. A szöveteket olyan szakaszos berendezésben kezeltük, ami alkalmas az eredményes kikészítéshez nélkülözhetetlen intenzív mechanikai hatás biztosítására (Függelék – F1.a ábra).

5.2.2 A lenszövetek kombinált enzimes-vegyszeres kikészítése²²⁵ [T7]

A laboratóriumi kísérletek során az enzimes kezelés szakítószilárdságra, tömegvesztésre, valamint a szövet fogására, esésére és színére kifejtett hatását az enzimkoncentráció és a kezelési idő függvényében, rázatott rendszerben jellemeztük. Mindegyik enzim kis-

mértékben javította a hajlékonyságot, továbbá szemmel észrevehető színkülönbséget okozott. Az enzimes tömegvesztésre és szakítószilárdságra gyakorolt hatása jelentősen különbözött. Legkisebb szövet-degradációt a Sevosoft VCE enzimmel végzett kezelés okozott. Mivel a mechanikai hatás fokozódásával az enzimes szövet-degradáció is fokozódik, ezért az üzemi kísérleteket a Sevosoft VCE enzimmel végeztük.

Két technológiai sort alkalmaztunk, amelyek csupán a lúgos főzés után beiktatott enzimes kezelésben tértek el egymástól (Függelék – *F1.b ábra, F3 táblázat*). A kikészítési technológia része a sziloxános lágyítás, amit a mechanikai kikészítés (száraz törés) előtt és után alkalmaztunk. Vizsgáltuk a végtermékek, valamint az egyes technológiai lépések után nyert szövetek tulajdonságait. Mivel az alkalmazott enzimes, vegyszeres és mechanikai kikészítési folyamatok a 100 % lencszövet tulajdonságait módosították a legnagyobb mértékben, ezért az elért hatást ennek a példáján szemléltetjük.

A lágyító hatást a hajlítási merevséggel és az esési tényezővel jellemeztük. Az alkalmazott kezelések közül a törés javítja a legnagyobb mértékben a lencszövet hajlékonyságát, jelentősen csökkentve a hajlítási merevséget és az esési tényezőt (*16. táblázat*). Az enzimes kezelést követően alkalmazott törés után mértük a legkisebb hajlítási merevség értéket (460 mg·cm). Az enzimes technológia végtermékének a hajlítási merevsége kisebb, mint az enzimes kezelést nem alkalmazó technológiáé (530 és 570 mg·cm). A kikészítés minden részfolyamata jelentős színváltozást eredményez (*38. ábra*). Különösen az enzimes kezelés (E) és a törés hatása jelentős. A színkülönbség elsősorban a világosság növekedésnek (ΔL_{ab}^*) és az elszíntelenedésnek (ΔC_{ab}^*) a következménye (*16. táblázat*).

16. táblázat. A kombinált üzemi kikészítési technológiák egyes részfolyamatainak hatása a lencszövet (100 %) fogására és színére^{a, 225}

Szövet	Hajlítási merevség (mg·cm)		Esési tényező (%)		ΔL_{ab}^*		ΔC_{ab}^*	
Nyers	4000		93		-		-	
Főzött	4070		85		4,5		-2,9	
Enzimezett ^b	-	5100	-	85	-	10,2	-	-5,8
Lágyított ^c	3050	1600	79	71	4,8	9,9	-3,1	-5,7
Tört	530	460	50	79	9,1	11,9	-3,7	-5,4
Lágyított ^c	680	690	58	58	8,0	12,3	-3,6	-5,6
Zsugorított ^d	570	530	54	54	8,3	14,1	-3,6	-5,7

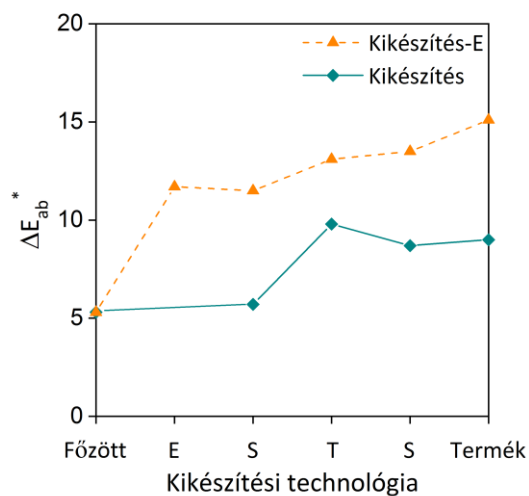
^a Világosság (ΔL_{ab}^*) és krómakülönbség (ΔC_{ab}^*) a kiindulási nyers lencszövethez viszonyítva;

^b Sevosoft VCE;

^c Sziloxános kezelés;

^d Végtermék.

Valamennyi kikészítési lépés jelentősen módosítja a szakítószilárdságot. Különösen az enzimikus kezelés és a törés alkalmazásakor jelentős a szakítóerő csökkenés (39.a ábra). A két végterméket összehasonlítva megállapítható, hogy az enzimikus technológiával nyert szövet szakítóerő értéke a kiindulási érték 44 illetve 39 %-a (lánc, vetülék), ugyanezek az értékek a nem enzimezett végterméknél 57 és 49 % (17. táblázat). Fontos megjegyezni, hogy a féllen szövet esetén a pamut láncfonalak degradációja elhanyagolható az egyes technológiai lépések során (39.b ábra). A len vetülékfonalak degradációja azonban jelentős, de kisebb a 100 % lenszövetnél mért értékeknél. Len/poliészter keverék szövetek pedig csak vetülék irányban veszítenek a szakítóerő értékükből.



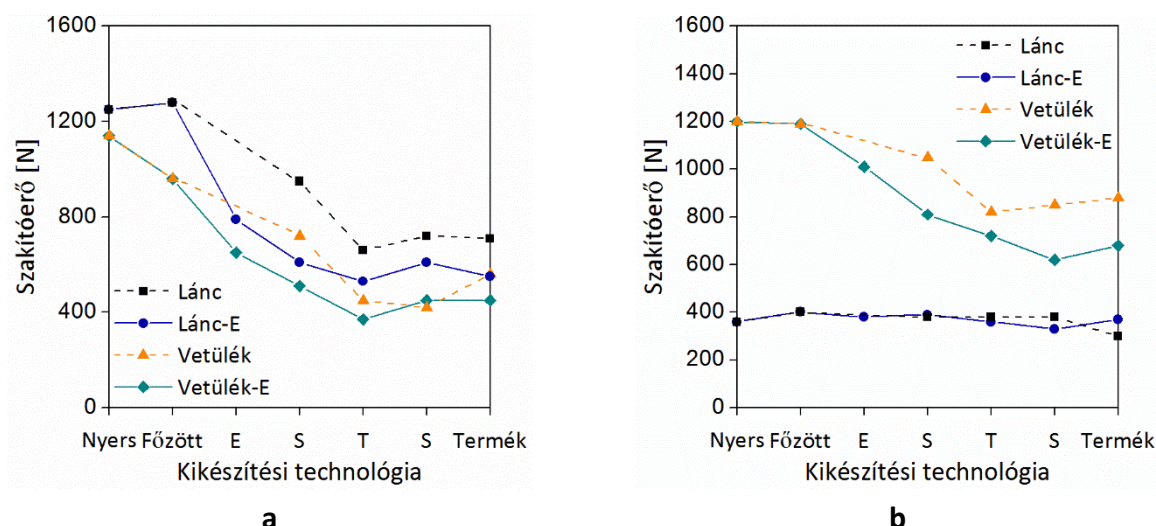
38. ábra. A nyers szövethez viszonyított színtkülönbség a kikészítési technológiák egyes részfolyamatainak után²²⁵

A kikészítési technológia fő folyamatai eltérő módon hatnak a lenre és különböző mértékben változtatják meg a szövet tulajdonságokat. A vegyszeres lágyításkor alkalmazott sziloxán vékony filmként vonja be a rostköteget, sima szárfelületet eredményezve. A törés során a lenrostban lévő fás részek „kitörnek” a rugalmas rostkötegek mellől, a rost fibrillálódásából származó elemi szálak pedig letörnek a felületről. Mindkét hatás jelentős tömegvesztést okoz és javítja a rugalmasságot. A tömegvesztés csökkenti a szövet négyzetméter tömegét, a rugalmasság növekedése pedig a hajlítási hosszt. A két paraméter együttesen a hajlítási merevség jelentős csökkenését eredményezi (16. táblázat). Ugyanakkor a törés során fellépő erők a rostkötegeket is károsíthatják, aminek következtében a szakítószilárdság romlik. A lignin-tartalmú fás részek eltávolítása jelentős világosodással jár, és kevésbé színes szövetet eredményez.

17. táblázat. A kombinált kikészítés után kapott végtermékek relatív sávszakítóerő értéke lánc és vetülék irányban, 100 % len, féllen és len/poliészter szövet esetén²²⁵

Szövet	Relatív szakítóerő (%) ^a					
	Len		Féllen		Len/PES	
	Lánc	Vetülék	Lánc	Vetülék	Lánc	Vetülék
Termék ^b	57	49	83	73	103	89
Termék-E ^b	44	39	103	57	101	81

^a A kiindulási nyers szövet szakítóerő értékéhez viszonyítva;
^b Kombinált technológia enzimikus kezelés nélkül és enzimikus kezeléssel (E); Enzim: Sevosoft VCE.



39. ábra. A kikészítési technológia egyes részfolyamatainak hatása a sávszakító erőre lánc és vetülék irányban (a) 100 % lenszövet és (b) féllen szövet esetén²²⁵

Jelölések: E: enzimes kezelés (Sevosoft VCE); S: sziloxános kezelés; T: száraz törés.

A celluláz-hemicelluláz enzimes kezelés egyrészt a sejtközi állományban hat, részlegesen degradálja a rost összetartásáért felelős mátrix polimereket, és ezáltal elősegíti az oldható (pl. színes) komponensek távozását az enzimes kezelőoldatba. Másrészt hat a rostokötegek cellulóz-hemicellulóz komponenseire is és katalizálja azok hidrolitikus degradációját. Az intenzív mechanikai kezeléssel együtt alkalmazott enzimes kezelés elsősorban a rostfelületen lévő fibrillálódott elemi sejtek degradációjának kedvez^{127,128}. Az enzimes kezelés tehát mérsékelt tömegvesztést okoz, rontja a szakítószilárdságot, javítja a rostok rugalmasságát, sima rostfelületet hoz létre, továbbá a színes komponensek kioldódása a szövet jelentős színváltozását (világosodás és elszíntelenedés) eredményezi.

Összefoglalva megállapítható, hogy a len és len-tartalmú szövetek végkikészítése során az enzimes kezelést is magában foglaló kombinált technológia nagymértékben hozzájárul a szövetek esésének és fogásának a javításához, valamint módosítja a szövetszint. Ugyanakkor, 100 % lenszövet esetén jelentős a szakítószilárdság csökkenés és a tömegvesztés. Különösen az enzimes kezelés és a magas hőmérsékleten végrehajtott törés egymás utáni alkalmazása okoz jelentős szövetkárosodást. A tömegvesztés elsősorban a száraz törés során fellépő intenzív mechanikai hatásnak tulajdonítható, ami a lenrost kevésbé rugalmas, fás alkotói eltávolítását okozza. Bár a szilárdság csökkenés jelentős, a maradó szilárdság értékek még megfelelőek ruházati célú felhasználás esetén. Enzimes kezelés alkalmazásával lágy fogású, kellemes tapintású és hamvas színű végtermékek állíthatók elő. A két technológiából származó végtermék között jelentős a színkülönbség.

5.3 HETEROGÉN FÁZISÚ ENZIMES REAKCIÓK KISFREKVENCIÁS ULTRAHANGGAL BESUGÁROZVA

5.3.1 Bevezetés

A kisfrekvenciás ultrahanggal segített heterogén fázisú enzimes textiltechnológiai folyamatokat a szakirodalomban megjelenő publikációk nagy részében fekete dobozként kezelik, holott az akusztikus kavitáció és a kavitációs buborékok összeroppanását kísérő extrém körülmények az enzimre is és a szubsztrátumra is hatnak, és mindkettő tulajdonságait jelentősen megváltoztatják. Az enzimes reakciók eredményességét tehát az 'ultrahang–enzim' és az 'ultrahang–szubsztrát' kölcsönhatások befolyásolják. Ezek ismerete pedig hozzájárulhat a heterogén fázisú enzimes folyamatok tervezéséhez, az eredmények értékeléséhez és az ultrahanggal besugárzott közegben lejátszódó reakciókkal ('ultrahang–enzim–szubsztrát') elérhető hatások optimalizálásához.

A kavitációs térben kialakuló magas hőmérséklet és nyomás, valamint a mikroáramlások módosíthatják az enzim fehérje szerkezetét és előidézhetik a denaturációját is. Mindezek pedig az enzim aktivitását és ezáltal a katalizált reakció eredményességét befolyásolhatják. Ennek ellenére elenyésző azoknak a szisztematikus vizsgálatoknak a száma, amelyekben az ultrahangos besugárzás paramétereinek a függvényében vizsgálják az enzimaktivitás alakulását. Kutatómunkánkban mi ezt vizsgáltuk, és egy ipari celluláz enzim, valamint a szilárd fázisú fermentációval előállított nyers enzimek hidrolitikus és oxidatív enzim komponenseinek az aktivitását mértük.

Heterogén fázisú reakciókban a szilárd szubsztrátum (pl. a szál) közelében szétroppanó kavitációs buborékok a felületet is módosíthatják, előidézhetik az erózióját, a rostoknál például a dezintegrációt, azaz az elemi szálakra bontást. Mindezek pedig befolyásolják a hozzáférhetőséget az enzim számára, ami végeredményben az enzim–szubsztrát kölcsönhatás módosítását jelenti. Az ultrahangos térben zajló heterogén fázisú enzimes reakciókat tehát befolyásolhatja az ultrahang enzimre és szubsztrátumra gyakorolt hatása. Az ultrahang részecskeméretre gyakorolt hatását őrlött fehérített pamut és len besugárzásával vizsgáltuk. Az ultrahanggal segített enzimes reakciók eredményességét pedig a biokikészítés és a biofehérítés során tanulmányoztuk.

5.3.2 Az ultrahang–enzim és az ultrahang–szubsztrátum kölcsönhatás heterogén fázisú enzimes reakciókban^{237,239,240} [T8]

A kisfrekvenciás ultrahang az ultrahangos tér jellemzőitől (pl. frekvencia, időtartam, reflektor alkalmazása) függően a folyadék fázisban lévő enzimre is és a szilárd cellulóz

szubsztrátumra is hat, és jelentősen módosíthatja azokat. A szakirodalomban nem egységes az álláspont az ultrahang enzimaktivitásra gyakorolt hatásáról. Egyesek szerint az ultrahang károsítja az enzimet, ami enzimaktivitás csökkenéshez vezet¹⁹⁴. Gyakoribbak azonban azok a megállapítások, amelyek szerint az ultrahang fokozza az enzimaktivitást¹⁴⁶. Számos publikációban gyakran szinonimaként használják, vagy összekeverik az ultrahangnak az enzimes reakció hatékonyságára és az enzimaktivitásra kifejtett hatását, és megállapítják, hogy például az ultrahang növeli az aktivitást, holott ezt nem támasztják alá tényleges aktivitás mérésekkel.

A textil biotechnológiában a legfontosabb enzimek a cellulázok. A cellulázokat azonban más iparágakban is elterjedten alkalmazzák, így eredményeink szélesebb területen hasznosíthatók lehetnek. A vizsgált Celluclast 1.5L enzimkeverékről már korábban megállapítottuk (5. táblázat), hogy jelentős a szűrőpapír lebontó és az endoglukanáz aktivitása. A jelen kísérletben használt friss enzim kiindulási FPA értéke $83 \pm 2,2$ FPU/ml, ami hígítás majd 65 perces mágneses kevertetést követően (kontroll) $78 \pm 1,5$ FPU/ml-re csökkent. Az ultrahangos besugárzás lényegesen nagyobb mértékű – átlagosan 20 %-os – aktivitás csökkenést okoz (18. táblázat). Jelentős a hatása a kezelés időtartamának és az amplitúdónak is. Reflektor alkalmazása csak a legkisebb vizsgált amplitúdón (40 %) okozott további aktivitás romlást. A 80 % amplitúdón 65 percig végzett kezelést követően a mért enzimaktivitás csökkenés kb. 25 %-os (40. ábra).

Vizsgáltuk a kisfrekvenciás ultrahang hatását a szilárd fázisú fermentációval (*T. virens* és *A. oryzae* törzsekkel) termelt nyers enzimekre is, és mértük a Lac, LiP, PGal és az FPA változását a besugárzás időtartamának és az amplitúdónak a függvényében. Az eredményeket a LiP és az FPA példáján szemléltetjük (41. ábra).

18. táblázat. A Celluclast 1.5L enzim szűrőpapír lebontó aktivitása az ultrahang amplitúdójának a függvényében, 65 perces kezelést követően, reflektorral (+R) és anélkül (–R). Az ultrahang intenzitása (I) reflektorral és anélkül²³⁷

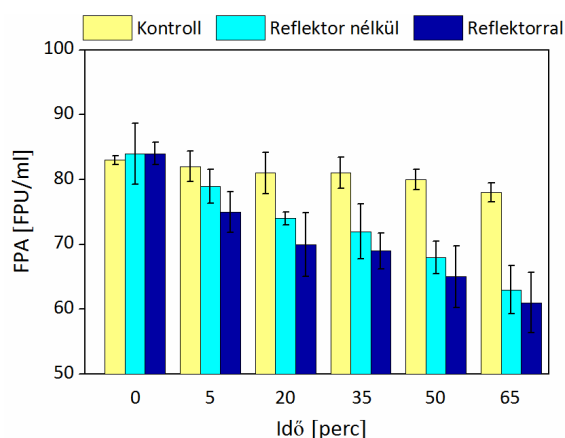
Jellemző	Amplitúdó (%)			
		40	60	80
FPA (FPU/ml) ^{a,b}	–R	73 ± 3,7 (11,7 %) ^c	67 ± 2,5 (19,2 %) ^c	63 ± 3,7 (24 %) ^c
	+R	67 ± 3,1 (19,2 %) ^c	66 ± 2,4 (20,5 %) ^c	61 ± 4,7 (26,5 %) ^c
I (W/cm ²) ^d	–R	16,2	32,2	43,4
	+R	15,7	31,9	42,8

^a Kiindulási aktivitás: $83 \pm 2,2$ FPU/ml;

^b Aktivitás a kontroll kezelést követően: $78 \pm 1,5$ FPU/ml;

^c A zárójelben az enzimaktivitás csökkenés százalékos értéke szerepel a kiindulási aktivitáshoz viszonyítva;

^d Az intenzitás (I) az akusztikus teljesítmény (W) és a bemezőfej területének (1,27 cm²) a hányadosa.



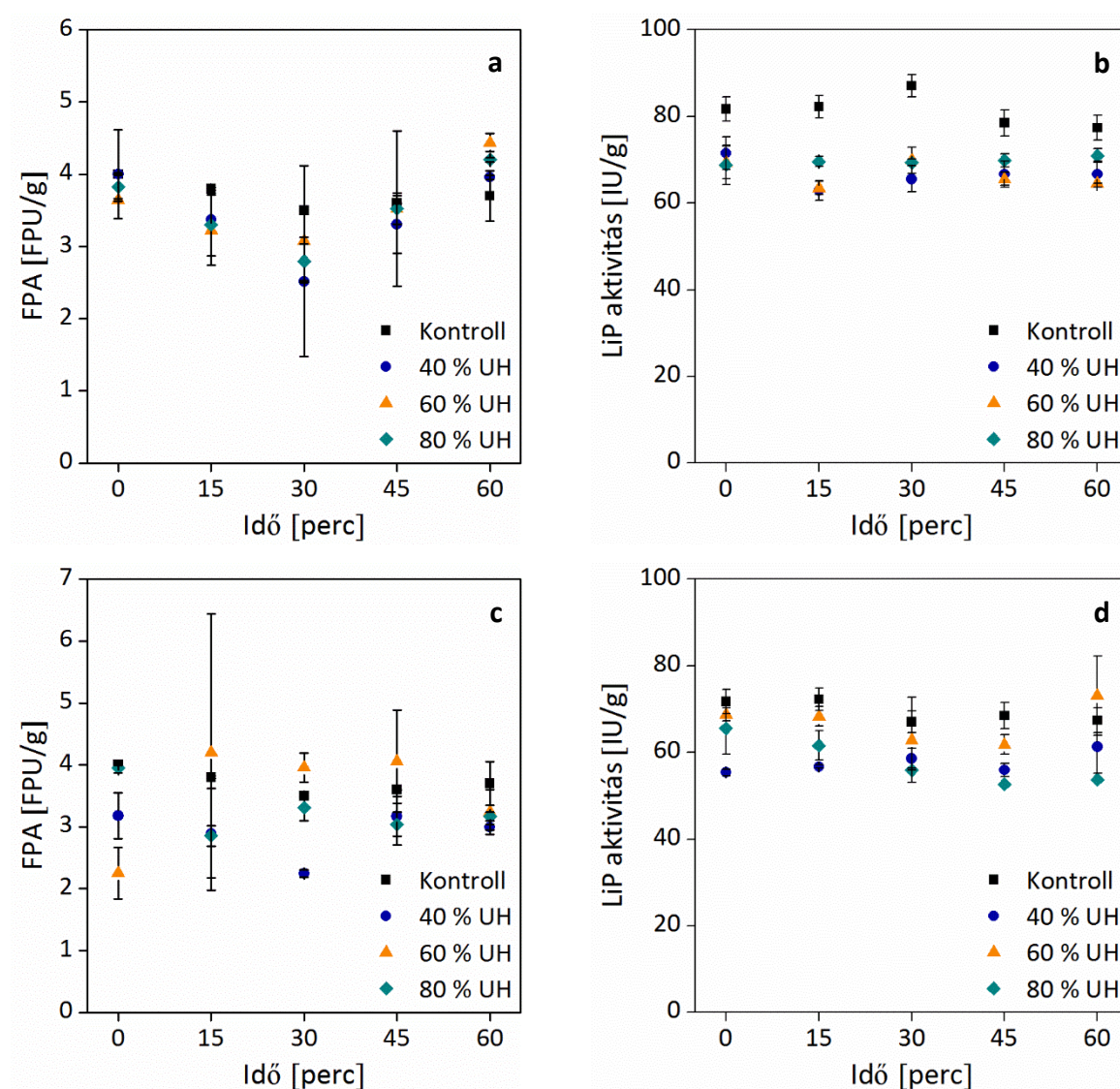
40. ábra. A Celluclast 1.5 L enzim szűrőpapír lebontó aktivitásának változása az ultrahangos kezelés időtartamának a függvényében, 80 % amplitúdón, reflektorral és anélkül²³⁷

A *T. virens*-ből származó nyers enzim kiindulási FPA (4 FPU/g) és LiP aktivitása (82 IU/g) a kontroll kezelés és az ultrahangozás során, 60 percet követően nem változik jelentősen (41.a,b ábra). Az *A. oryzae* által termelt nyers enzimdát esetén sem mértünk változást az FPA-ban, de a LiP 65,6 IU/g-ról 53,7 IU/g-ra, kb. 18 %-kal csökkent a 80 % amplitúdón végzett egy órás ultrahangozást követően (41.c,d ábra). Megjegyzendő, hogy a nyers enzimek Lac és PGal aktivitása nem változott az ultrahang hatására.

Ultrahangos térben az intenzív kavitáció következtében kialakuló extrém magas lokális hőmérséklet, a nagy sebességű mikroáramlások nyíró hatása, valamint a kavitáció során képződő szabad gyökök hatnak az enzimre, és kizárólag az ultrahangozott rendszerre jellemző enzim állapot alakul ki, amely különbözik a más rendszerekben tapasztalt pl. hő- vagy mechanikai hatás következtében kialakuló enzim állapottól¹⁹⁵. Megváltozik az enzim fehérje molekula szekunder szerkezete és nő az enzim felületének hidrofób jellege. A szerkezeti változások az enzim funkcionális tulajdonságait is megváltoztathatják. Az ipari celluláz enzim aktivitása rövid (max. 15 perc) ultrahangos kezelés hatására, kis intenzitásnál kb. 18 %-kal nőtt¹⁴⁶. A kezelés időtartamát, vagy intenzitását növelve azonban enzimaktivitás csökkenést tapasztaltak. Habár az általunk alkalmazott intenzív ultrahangos térnél lényegesen enyhébb körülményeket alkalmaztak, a fő megállapításukkal megerősítik az eredményeinket, és igazolják, hogy nagyobb ultrahang intenzitás esetén enzimaktivitás csökkenés következik be. Hasonlóan az előzőekhez, 17,33 W/cm² intenzitás és 30 perces kezelés során 25 %-os celluláz aktivitás növekedést tapasztaltak¹⁴⁸. Hosszabb kezelés vagy nagyobb intenzitás pedig aktivitás csökkenéssel járt lipáz¹⁴⁹, glükó-amiláz¹⁵¹ és peroxidáz¹⁹⁶ enzimek esetén is.

Immobilizált celluláz enzim ultrahangos besugárzása során kb. 26 %-os enzimaktivitás növekedést mértek 10 perces, kis intenzitású ultrahangos kezelés (60 W és 24 kHz) hatására¹⁴⁶. Fokozott ultrahangos besugárzást alkalmazva (29 kHz frekvencia, hosszabb kezelési idő /25 perc/ és nagyobb intenzitás /60 W/) az immobilizált enzim is veszített az aktivitásából, hasonlóan a szabad celluláz enzimhez. Azt feltételezték, hogy az immobilizálás védi az enzimet és növeli annak stabilitását, ami nagyobb ellenálló képességet jelent az ultrahangos rendszerben. Hasonló módon magyarázható az SSF-fel előállított nyers enzimek esetén az

enzimek fokozott ellenálló képessége az ultrahangos besugárzással szemben. A felülúszóban ugyanis az enzim a kisméretű szilárd – lebegő – szemcsékre adszorbeálódva van jelen, és az így létrejött fizikailag rögzített állapotban megnő az ellenálló képessége az ultrahang által keltett hatásokkal szemben.



41. ábra. A *T. virens* (felső ábrák), valamint az *A. oryzae* (alsó ábrák) törzsből nyert felülúszó (a,c) szűrőpapír lebontó és (b,d) LiP aktivitása az ultrahangos kezelés időtartamának és amplitúdójának a függvényében^{239,240}

Az ultrahang a szilárd részecskékre is hat. Bemerülőfejes ultrahangos szondával és ultrahangos kádban is vizsgáltuk a puffer oldatban diszpergált fehérített pamut és lenpor részecskeméretét a besugárzás időtartamának a függvényében. A szálanyagok azonos paraméterek mellett végrehajtott őrlése (golyós malom) után az átlagos részecskeméret jelentősen különbözik (19. táblázat). A pamut elemi szálak keresztirányú degradációja következtében a pamutból kisebb átlagos részecskeméretű és szűkebb részecskeméret

eloszlású port kaptunk (42.a ábra, fekete görbe), mint a lenből. A lent erős rostkötegek alkotják. Őrlés során a rostok keresztirányú degradációja mellett bekövetkezik a rostkötegek részleges bontása elemi szálakra. A két folyamat együttes hatása nagyobb átlagos részecskeméretű és széles részecskeméret eloszlású port eredményez (42.b ábra, fekete görbe). Sem a részecskeméret, sem a részecskeméret eloszlás nem változik számottevően a kontroll kezelés hatására.

19. táblázat. Fehérített pamut- és lenpor részecskeméretének alakulása a mágneses kevertetés (kontroll), valamint az ultrahangos kezelés (bemerülőfejes szonda és kád) hatására a kezelési idő függvényében^{a,b}

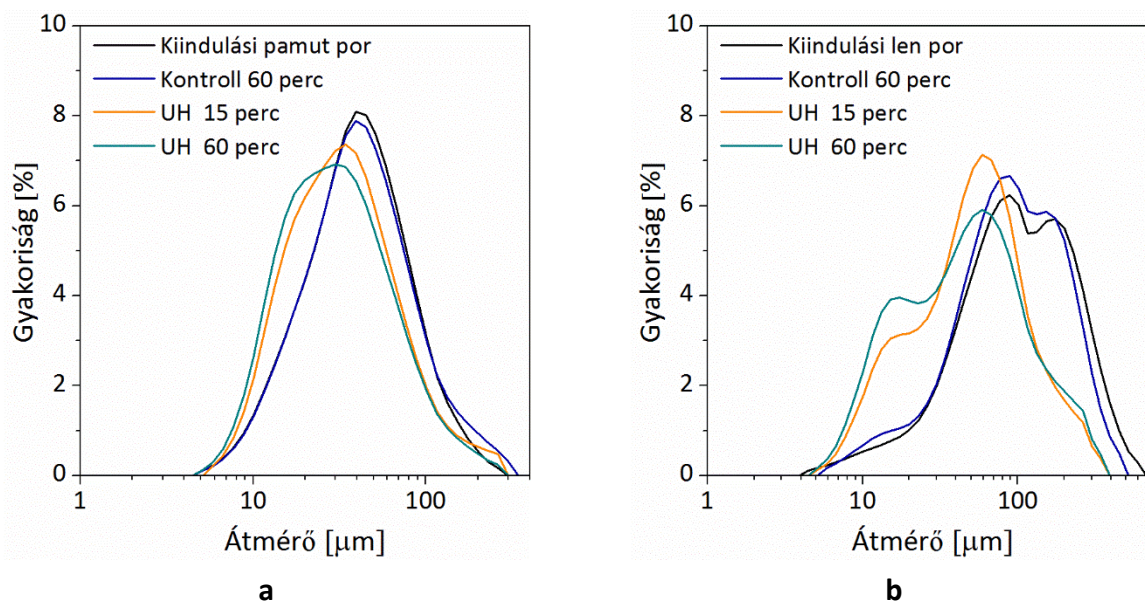
Alkalmazott kezelések	Kezelés időtartama (perc)	Részecskeméret (μm)	
		Pamut	Len
-	-	49 ± 2	123 ± 3
Kontroll	60	49 ± 1	110 ± 5
UH – bemerülőfejes	15	41 ± 0,3	63 ± 1
	60	38 ± 1	62 ± 0,5
UH – kád	15	42 ± 1	86 ± 0,5
	60	43 ± 1	79 ± 2

^a UH – bemerülőfejes szonda: 20 kHz, amplitúdó 60 %; UH – kád: 37 kHz;

^b Saját nem publikált eredmények.

Heterogén fázisú rendszerben a kavitációs buborékok összeroppanása során aszimmetrikus és nagy sebességű mikroáramlások érik el a szilárd felszínt, és ezek hatása a pufferben szuszpendált len részecskékre lényegesen nagyobb, mint a pamutra. Míg a pamut átlagos részecskemérete maximum 22 %-kal csökken (49 μm-ről 38 μm-re), addig len esetén a csökkenés kb. 50 %-os. Pamutnál csupán az őrlés során degradálódott szálrészek szétválasztása következhet. Len esetén megváltozik az eloszlásgörbe alakja, megjelenik egy új csúcs, amely jelzi, hogy a 15-20 μm méretű részecskék száma jelentősen megnő a rendszerben (42.b ábra, zöld és kék görbék). Ez az érték megfelel a rostkötegből ultrahang hatására szabaddá váló elemi szálak átmérőjének. A len esetén tehát a kavitáció hatására végbemenő fő folyamat a rostkötegek dezintegrálása. A változás nagy része az ultrahangos kezelés első 15 percében végbemegy.

A bemerülőfejes ultrahangos reaktor és az ultrahangos kád részecskeméretre kifejtett hatása jelentősen különbözik, ami az intenzitásban meglévő különbségen túl arra vezethető vissza, hogy míg az első esetben a hanghullámok közvetlenül a mintát tartalmazó szuszpenzióban keletkeznek és ott fejtik ki a hatásukat, addig az ultrahangos kádban vivőközegen (víz) keresztül érvényesül a hatásuk.



42. ábra. Őrölt fehéritett (a) pamut és (b) len részecskemérete a bemerülőszondás ultrahangos kezelés (20 kHz, amplitúdó 60 %) időtartamának a függvényében.

Kontroll: mágneses keverővel kevertetett rendszer. (Saját, nem publikált eredmények.)

Összefoglalva tehát elmondható, hogy a kisméretű ultrahangos kezelés a kereskedelmi cellulóz enzimes szűrőpapír lebontó aktivitását csökkenti. A csökkenés mértékét az ultrahangos besugárzás intenzitása és időtartama befolyásolja. Az FPA csökkenése 80 %-os amplitúdó és 60 perces besugárzás esetén 24-26 %. Sokkal ellenállóbbak az ultrahangos besugárzással szemben az SSF-fel előállított nyers enzimek. A *T. virens* által termelt nyers enzimek esetén nem mértünk FPA, LiP, Lac és PGal aktivitás csökkenést. Az *A. oryzae* által termelt nyers enzimkeveréknek pedig csak a LiP aktivitása csökkent és a besugárzás paramétereitől függően maximum 18 %-kal. A kisméretű ultrahang csökkenti az őrölt pamut és len részecskeméretét. A csökkenés az ultrahangos besugárzás első 15 percében jelentős, azt követően mérsékelt. A lenpor részecskemérete nagyobb mértékben csökken, mint a pamutporé, ami elsősorban a len rostköteg dezintegrálódásának a következménye. A bemerülőfejes ultrahangos reaktor részecskeméretre kifejtett hatása felülmúlja az ultrahangos kádét. Az ultrahanggal segített enzimes folyamatok optimalizálásához az ultrahang–enzim és az ultrahang–szubsztrátum kölcsönhatás megismerése elengedhetetlenül fontos, mivel mindkettő nagymértékben befolyásolja az enzimes reakciók eredményességét.

5.3.3 A heterogén fázisú enzimes reakciók eredményessége kisméretű ultrahanggal besugárzott közegben^{237,239,244} [T9]

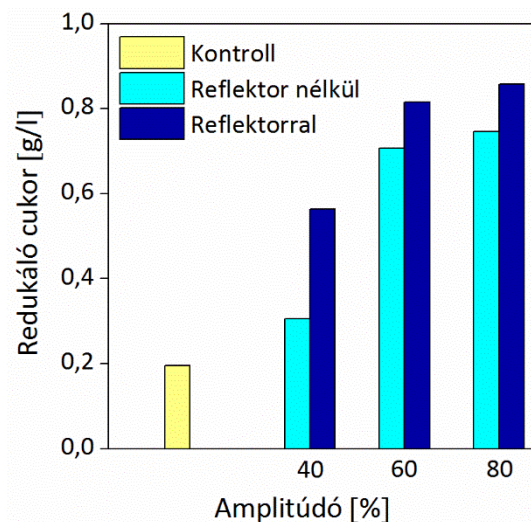
Bizonyítottuk, hogy a kisméretű ultrahang hat a folyadék fázisban lévő enzimre és a szilárd cellulóz szubsztrátumra. A folyadékfázisban indukált kavitáció azonban az enzim-

reakció egyes részfolyamatait is befolyásolja. A kavitáció eredményeképpen a szilárd felszín közelében kialakuló mikroáramlások (1) elősegítik az enzimet tartalmazó folyadék áramlását és átjutását a szilárd-folyadék fázishatáron kialakuló folyadékfilmen, ami hozzájárul az enzim-szubsztrát kölcsönhatás létrejöttéhez; továbbá (2) fokozzák az enzimes katalízis során keletkező (bomlás)termékek eltávozását a szilárd felszín közeléből¹³⁴. A fenti folyamatoknak köszönhetően az ultrahanggal segített enzimes reakciók hatékonysága jelentősen felülmúlhatja a nem ultrahangozott rendszerben végrehajtott enzimes folyamatokét. Kutatómunkánkban az ultrahangnak a heterogén fázisú enzimes reakciók eredményességére kifejtett hatását a biokikészítésben legfontosabb cellulóz–celluláz reakció, valamint a kombinált bioelőkészítés és biofehérítés során tanulmányoztuk.

A cellulóz–celluláz reakció vizsgálata során jellemeztük az ultrahangos tér paramétereinek, valamint a cellulóz szubsztrátum (fehérített pamut) formájának (por, valamint 0,5×0,5 cm-es szövet négyzetek) a hatását a hidrolízis eredményességére. Vizsgáltuk a szilárd cellulóz szubsztrátum (pamutszövet) ultrahang-forráshoz viszonyított helyzetének a hatását is. Az őrölt pamut enzimes hidrolízisekor a kontroll (mágnessel kevertetett) fürdőben 60 perc után mért redukáló cukor koncentráció (0,19 g/l) többszörösére növelhető ultrahangot alkalmazva (43.a ábra). Reflektor nélkül, 40 % amplitúdón 0,31 g/l, míg 60 és 80 % amplitúdón 0,71 és 0,75 g/l redukáló cukor koncentrációt mértünk. A reflektor elsősorban a 40 % amplitúdón fokozta jelentősen a hidrolízist. Az őrölt pamut átlagos részecskemérete kb. 50 µm (19. táblázat), a hullámhossz pedig 7,4 cm. A hang terjedése szempontjából tehát a pamutpor híg vizes szuszpenziója homogén közegnek tekinthető. Érvényesül a reflektor hullám visszaverő hatása, ami 40 % amplitúdón kb. 80 %-kal, míg 60 és 80 % amplitúdón kb. 15 %-kal növelte a termék koncentrációt.

Az ultrahang kedvező hatása a cellulóz-celluláz reakcióra több folyamat eredőjeként értelmezhető.

- Pozitív a hatása a kavitációs buborékok szétropanásának a folyadékfázisban és a szilárd felszín közelében, mivel a kialakuló intenzív mikroáramlások jelentősen fokozzák az anyagtranszportot. A hatás az ultrahang amplitúdójának a növelésével és reflektor alkalmazásával fokozható.
- Kedvez az enzimes hidrolízisnek az ultrahang hatására bekövetkező részecskeméret csökkenés, amely (60 %-os amplitúdón, reflektor nélkül) pamutpor esetén kb. 22 %-os (19. táblázat).
- Hátrányos a folyamatban az ultrahang enzimaktivitás csökkentő hatása, amely 12-26 %-os (18. táblázat). Nagyobb mértékű enzimaktivitás csökkenés az amplitúdó növelésével és reflektor alkalmazásával következik be.



a



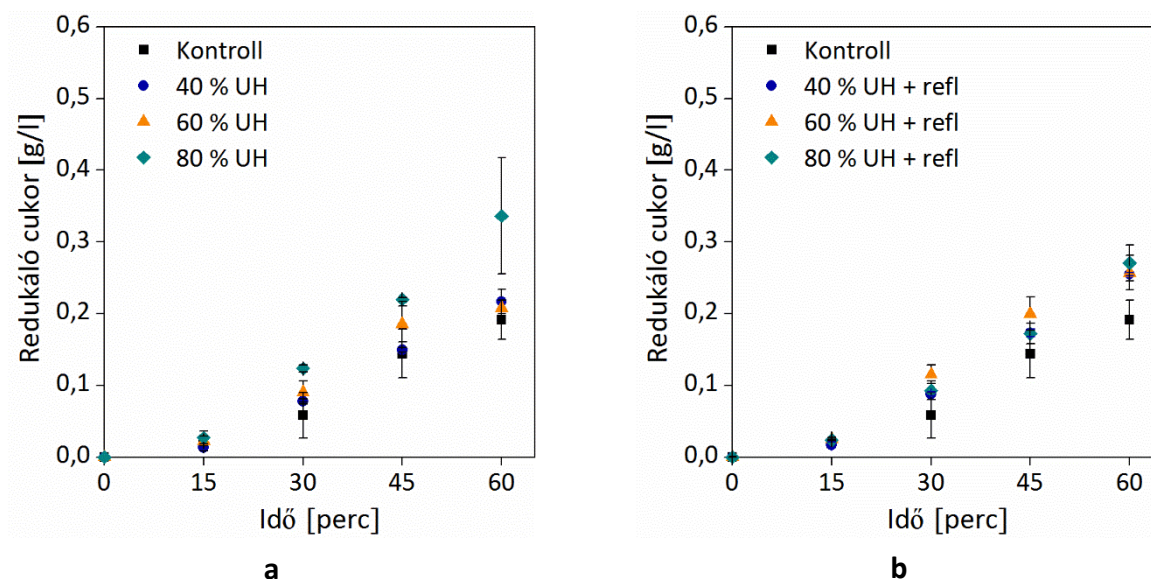
b

43. ábra. (a) Őrölt pamut 60 perces celluláz enzim (Celluclast 1.5L) kezelése során a felszabaduló redukáló cukor koncentráció az ultrahangos kezelés paramétereinek a függvényében²³⁷; (b) Pamutszövet és a rögzítésére szolgáló fémkeret, valamint a reflektor (acél korong)²⁴⁴

A négyzetre vágott pamutszövet hidrolízise során – az ultrahang amplitúdójától függően – 60 perc után, 0,21-0,34 g/l között volt a redukáló cukor koncentráció (44.a ábra). Fokozott termékfejlődés csak a legnagyobb amplitúdón volt mérhető, ami 79 %-os növekedést jelentett a kontrollhoz képest. Reflektor alkalmazása nem segítette a termékképződést (44.b ábra) és a koncentráció a folyamat végén a 0,25-0,27 g/l intervallumba esett. A kontrollhoz viszonyított növekedés 34-42 %-os volt.

Az enzimikus folyamat során a bemerülőfejes reaktor és a reakcióedény alja között 3,7 cm ($1/2 \lambda$) volt a távolság. A reaktor hatékonysága a reaktor végétől mért távolsággal jelentősen csökken¹⁹⁷. Luminol reagens alkalmazásával "láthatóvá" tettük a kavitációt, és ezáltal az ultrahangos reakcióteret¹⁹⁸. Megállapítottuk, hogy a hangforrás közvetlen közelében volt a legnagyobb a kavitáció, a hangforrástól távolodva pedig jelentősen csökkent. 80 %-os amplitúdó esetén például a hangforrástól számítva maximum 2,5 cm-en belül lehetett a fényhatást észlelni. Kisebb amplitúdók esetén ez a távolság rövidült. A hidrolízis során a pamut négyzetek a reakcióter aljára leülepedve, a reflektort befedve helyezkedtek el. 40 és 60 %-os amplitúdónál a szubsztrátum a kavitációs zónán kívül esik, így a kavitáció pozitív hatása nem érvényesülhet az enzimikus reakcióban. Ugyanakkor a kavitáció hat az enzimre és csökkenti annak aktivitását. A folyamatok eredőjeként pedig nem mértünk megnövekedett redukáló cukor koncentrációt a kontrollhoz viszonyítva. 80 %-os amplitúdónál a kavitációs zóna eléri a leülepedett szubsztrátum-réteg felső részét, ott fokozza a hidrolízist, ami számottevő termék koncentráció növekedést eredményezett (44.a ábra). A reflektor hatása

azonban nem érvényesül (44.a,b ábra), mivel a pórusos szerkezetű 'úszó' szövetdarabok befedik azt, és jó hangelnyelő réteggént csillapítják a hanghullámokat¹⁹⁹.



44. ábra. A négyzetre vágott fehérített pamut celluláz enzim (Celluclast 1.5L) hidrolízise során a felszabaduló redukáló cukor koncentráció az ultrahang amplitúdójának és a kezelés időtartamának függvényében (a) reflektor nélkül és (b) reflektorral²⁴⁴

Az ultrahangos térben lejátszódó enzim reakció hatékonyságát tehát a szubsztrátum ultrahangos térben elfoglalt helyzete is befolyásolja. Ennek további jellemzésére a pamutszövetet a hangforrástól 1, 2, ill. 3 cm távolságra rögzítettük acélkeret segítségével (43.b ábra). Az ultrahangos tér paramétereit változtatva, jelentős termék koncentráció növekedést kizárólag a 60 %-os amplitúdón és a hangforráshoz legközelebbi pozícióban (1 cm) elhelyezett szövet esetén mértünk (45. ábra). 60 perces kezelés után a termék koncentráció a kontroll érték kb. 2,6-szerese (45.c,d ábra). Reflektor alkalmazása nem eredményezett további növekedést, mivel a keretre rögzített szövet a hangforrásból induló hullámokat csillapítja, így azok valószínűleg nem jutnak el az edény alján lévő reflektorig. Érdeemes megjegyezni, hogy 40 %-os amplitúdón a 3 cm-re helyezett szövet enzim hidrolízise még a kontroll kezelés hatékonyságát is alulmúlja (45.a,b ábra), mivel ebben az esetben kizárólag a kavitáció negatív, enzimaktivitás csökkentő hatása érvényesül.

A mérési eredmények tehát bizonyítják, hogy a szubsztrátum formájától és az ultrahangos kezelés paramétereitől függően a cellulóz-celluláz reakció hatékonysága többszörösére növelhető. Őrölt fehérített pamut hidrolízise során az ultrahangos besugárzás korábban említett valamennyi pozitív és negatív hatása érvényesülhet. A másik két vizsgált szubsztrátforma esetén a pozitív hatások csak korlátozottan érvényesülnek, mivel az ultrahang lényegesen kisebb mértékben hat a reakciótér adott pontján elhelyezett (vagy elhelyezkedő)

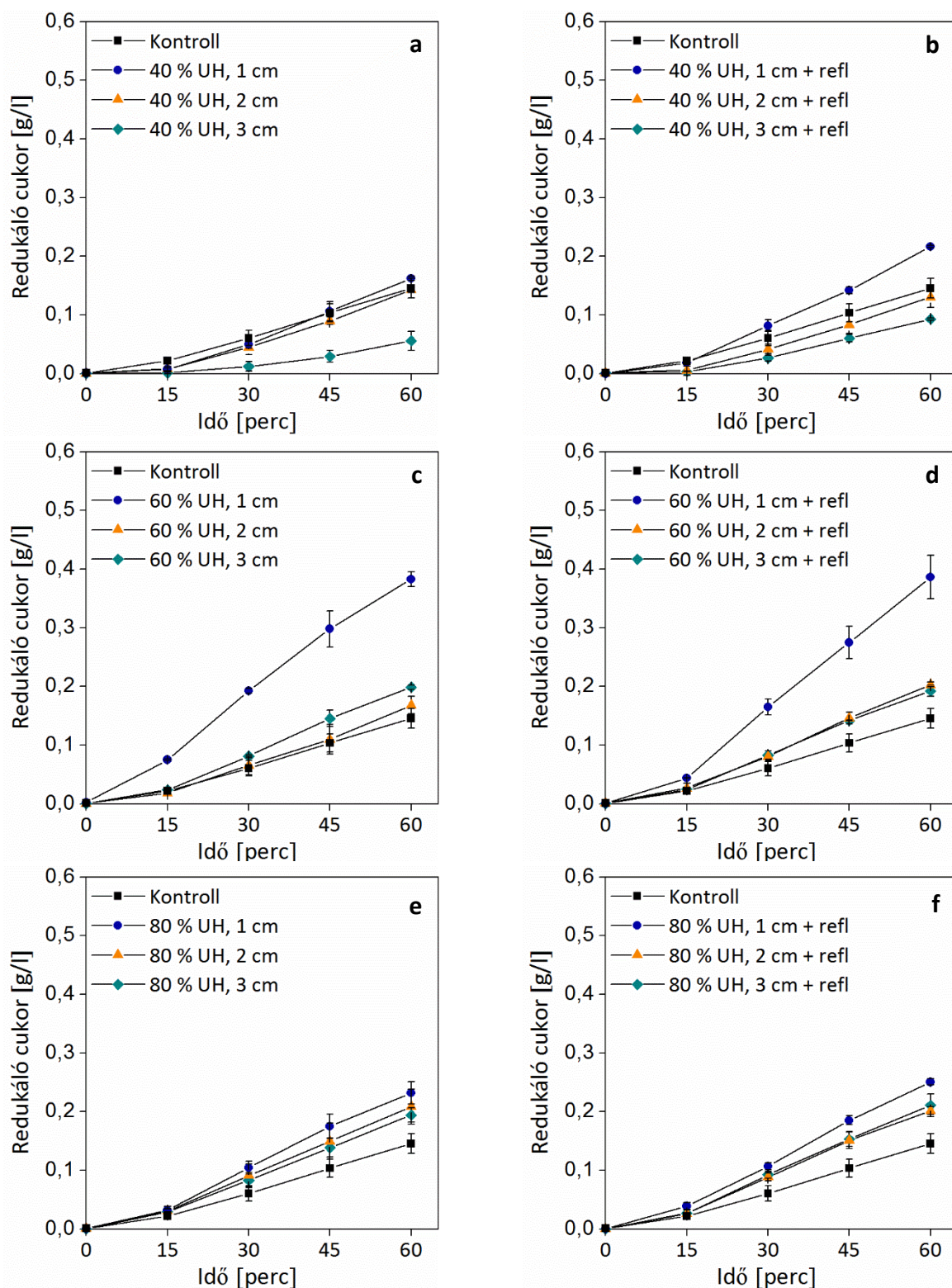
szubsztrátumra, mint a pamutporra, továbbá a kavitáció nem képes módosítani a szövet-szerkezetet. Így tehát őrlt szubsztrátum esetén, továbbá a hangforrás közelében és nagyobb amplitúdónál hatékonyabb az enzim hidrolízis. Az eredmények megerősítik az enzimaktivitásra és a részecskeméretre vonatkozó korábbi megállapításainkat.

Az ultrahangos besugárzással segített kombinált bioelőkészítés-biofehérítés folyamatban szilárd fázisú fermentációval előállított, hidrolitikus és oxidatív enzimeket is tartalmazó nyers enzimidatokat alkalmaztunk. Az SSF optimalizálása során a *T. virens* TUB-F498 törzs az átlagos relatív enzimtermelésben is, továbbá a bioelőkészítésben kiemelten fontos enzimek (PGal, LiP, Lac, MnP) átlagos relatív termelésében is a legjobbnak bizonyult (F2. táblázat). Feltételeztük, hogy a nyers enzimidat jelentős PGal aktivitása hozzájárulhat a hidrofil szálfelület kialakításához, az oxidatív enzimek (LiP, Lac, MnP) pedig a színes komponensek elszíntelenítését segíthetik a nyers lencszövet enzim kezelése során. [A kísérlet kapcsolódik a később bemutatásra kerülő extrakciós vizsgálatokhoz (5.5.2. fejezet), amelyek célja az enzimek ultrahanggal segített kinyerése a szilárd fermentumból.]

Az első kísérletben a szilárd fermentumot a lencszövettel együtt tettük a puffer oldatba, így az enzim extrakciója a szilárd hordozóról egyidejűleg (szimultán) zajlott a szövet enzim kezeléseivel (SEB). A szimultán 'extrakció-enzimes kezelés' folyamatot ultrahangozott (US, 60 % amplitúdó) közegben és rázó termosztátban (S) is végrehajtottuk. A második kísérletben a nyers enzimeket 30 percig tartó előextrakciós lépésben (PE) nyertük ki ultrahangozva vagy rázó termosztátban, majd ezt követően tettük a szövetet az enzimidatba (kétlépéses folyamat). A szövet enzim kezelését rázó termosztátban végeztük.

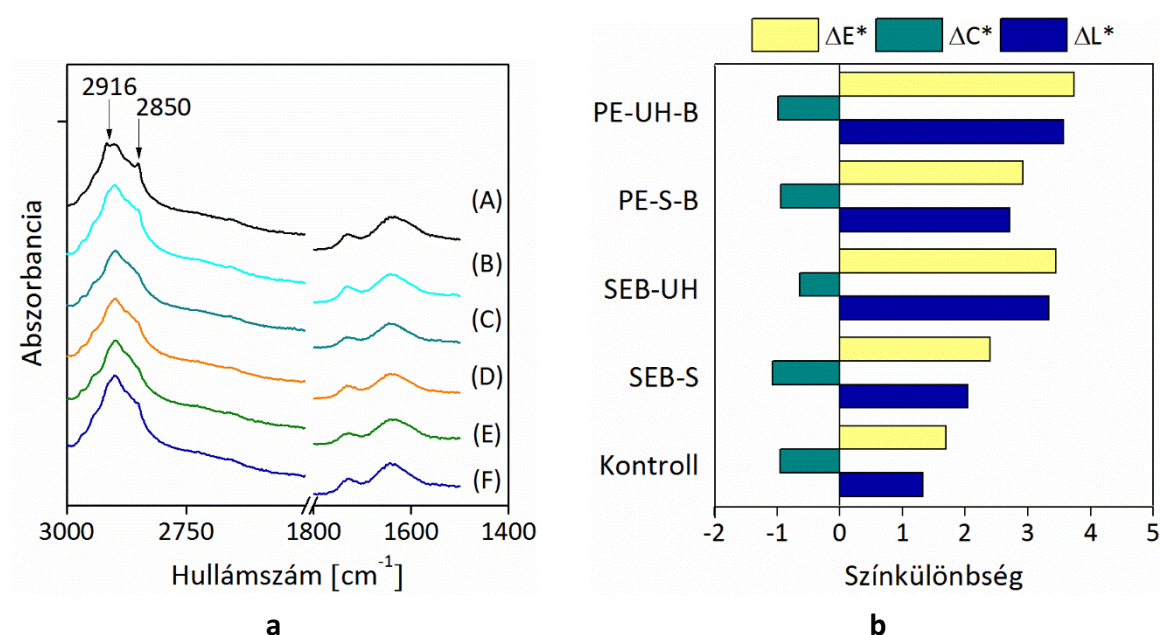
A szimultán folyamat során a fermentumból oldatba kerülő "friss" enzimek azonnal kifejthetik katalitikus hatásukat a jelenlévő szöveten. A kétlépéses folyamatban viszont a szövet az (elő)extrakciót követően került a már jelentős enzimaktivitással rendelkező enzimidatba. Mindkét esetben számolni kellett azzal, hogy az SSF fermentumot tartalmazó kezelőfürdő (szuszpenzió) színes szilárd komponensei ráakódhatnak a szövetfelületre és módosíthatják annak színét.

A nyers lencs IR spektrumában a viaszos anyagokhoz rendelhető csúcsok (2916 és 2850 cm^{-1}) az enzim kezelése hatására eltűnnek (46.a ábra), ami a hidrofób külső réteg eltávolítását jelzi. A relatív intenzitások változása is ezt erősíti meg: a nyers lencs 1,05-os értéke az enzim kezelése (c→f) hatására 0,95; 0,94; 0,91; 0,95 értékre csökkent. A hidrofil szálfelület kialakulását és az eredményes bioelőkészítést bizonyítja az enzimmel kezelt szövetek kb. 0,5 s-os átlagos nedvesedési idő értéke is²³⁹.



45. ábra. A hangforrástól adott távolságra elhelyezett pamutszövet celluláz enzim (Celluclast 1.5L) hidrolízise során a redukáló cukor koncentráció az ultrahangos kezelés paramétereinek a függvényében, (a,c,e) reflektor nélkül és (b,d,f) reflektorral²⁴⁴

Az enzimes kezelés hat a len színes komponenseire is, és ennek köszönhetően jelentős a színkülönbség a kiindulási szövethez viszonyítva (46.b ábra). Eredményesebb a biofehérítés a kétlépéses folyamatban (PE), mint a szimultán extrakció-enzimes kezelés (SEB) során. Jobb eredmények érhetők el ultrahanggal, mint rázótermosztátban. A színkülönbség (ΔE^*) elsősorban a világosodásnak (ΔL^*) köszönhető. Legeredményesebbnek az ultrahanggal segített előextrakciót követő fehérítés (PE-US-B) bizonyult ($\Delta E^* = \sim 4$). Fontos megjegyezni, hogy az ultrahanggal végzett szimultán folyamat (SEB-UH) ΔE^* és ΔL^* értékei csak kismértékben maradnak el a legjobb értékektől. Az elszíntelenítés mértéke ($\Delta C^* = -0,64$) azonban kisebb, aminek az a magyarázata, hogy az SSF fermentumok finom részecskéi viszszarakódhattak a szövetfelületre.



46. ábra. Nyers lencszövet SSF-ben (*T. virens* TUB-F498) termelt enzimekkel végzett bioelőkészítése és biofehérítése után a szövetek (a) FT-IR (ATR) spektruma; és (b) a kiindulási lencszövethez viszonyított színkülönbsége²³⁹

Jelölések: (A) nyers, (B) kontroll, (C) szimultán extrakció és biokezelés shaker-ben /SEB-S/, (D) szimultán extrakció és biokezelés ultrahangozva /SEB-US/, (E) előextrakció shaker-ben és biokezelés /PE-S-B/, (F) előextrakció ultrahangozva és biokezelés /PE-US-B/; Kontroll: kezelés citrát pufferben (pH 5)

Az eredmények alapján indokolt volt a hatékonyabb kétlépéses folyamatot tovább vizsgálni, valamint – a szilárd fermentum leválasztását követően – a felülúszóval is elvégezni a biofehérítést. A szintén hatékony *A. oryzae* NRRL 3485 törzssel nyert SSF mintákat (F2 táblázat) használva megállapítottuk, hogy a szövet világosságának javulása nagymértékben függ az enzim extrakció hatékonyságától. Az ultrahanggal segített extrakció és a hosszabb extrakciós idő alkalmazása kedvez a biofehérítésnek, a hosszú ultrahangos kezelés azonban itt is az enzimaktivitás (elsősorban a LiP) csökkenését okozhatja. Kedvezőbb a hatá-

sa a felülúszóval végzett kezelésnek, mint a szuszpenziósnak, a már említett visszaüledés miatt (nem publikált eredmények).

Összefoglalva megállapítható, hogy az SSF-fel termelt enzimek eredményesek a kombinált bioelőkészítés-biofehérítés folyamatban. A nyers enzimoldat hidrolitikus enzimek a hidrofil szálfelület kialakításában, az oxidatív enzimek pedig a biofehérítésben vesznek részt. Mindkét folyamat eredményessége jelentősen javítható ultrahangos kezeléssel. Bár a szövet fehérsége elmarad a vegyszeres fehérítéssel elérhetőtől, a biofehérítés egy ígéretes és intenzíven kutatott területe a textil biotechnológiának.

5.4 ENZIMES REAKCIÓK AZ ATMOSZFÉRIKUS HIDEGLAZMA KEZELÉST KÖVETŐEN

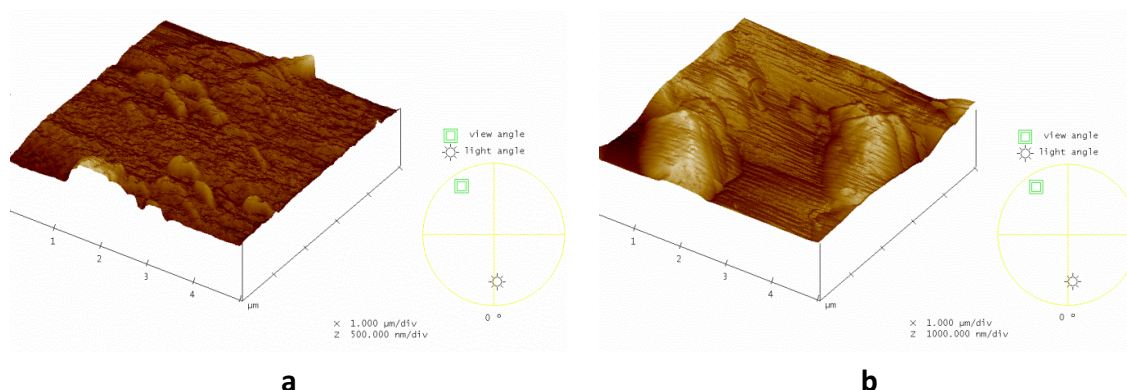
5.4.1 Bevezetés

A cellulóz alapú szálanyagok plazmakezelésekor a plazma felületet erodáló hatása révén a legkülső réteg (pl. viasz, iranyag) mennyisége csökken, elvékonyodik vagy lokálisan degradálódik, és új funkciós csoportok alakulnak ki. Az új felület jellemzői befolyásolják a szál tulajdonságokat, és ezáltal módosíthatják a heterogén fázisú enzimes folyamatok lejártságát. Kutatómunkánkban – a szálfelületen bekövetkező változások jellemzésén túl – azt vizsgáltuk, hogy a szálfelület megváltozása hogyan befolyásolja az enzimek hozzáférhetőségét a felület polimer alkotóihoz, és hogyan módosul az enzimkatalizált folyamatban a termék képződés sebessége. Vizsgáltuk a plazmakezelést követően alkalmazott bioelőkészítést és irtelenítést is, továbbá jellemeztük a plazmakezelés tartósságát.

5.4.2 A plazmakezelés hatása a nyers pamut- és lenszövet felületi és tömbi tulajdonságaira^{234,238,242} [T10]

A pamut- és lenszövet kezelésére DCSBD plazmát használtunk levegő atmoszférában, egy kísérletsorozatban azonban parázskisülés /glow discharge, GD/ plazmát alkalmaztunk levegő és argon plazmagázzal. (A továbbiakban a GD plazma alkalmazását mindig jelezzük.) A plazmakezelés hatására a nyers pamutszövet vetülék fonalaiból származó elemi szálak felületén bekövetkező változásokat atomierő mikroszkóppal vizsgáltuk (47. ábra). A plazmakezelés a szálfelületet borító, viaszban gazdag kutikulára, és a kevésbé kristályos cellulózból valamint pektinből álló primer falra hat, és akár 215 nm mély "árkokat" is létrehozhat, miközben a szekunder fal és annak kristályos cellulóz alkotója nem módosul. A felületi érdesség (R_q simasági mérőszám²⁰¹) jelentősen nő: nyers pamut esetén az R_q 25 nm, míg a plazmakezelt mintánál 67 nm. Nagyobb teljesítményű berendezéssel és 40 perces oxigén at-

moszférában végzett kezelés során 1-2 μm mélységű barázdák alakultak ki a len elemi szálak felületén²⁰⁰.

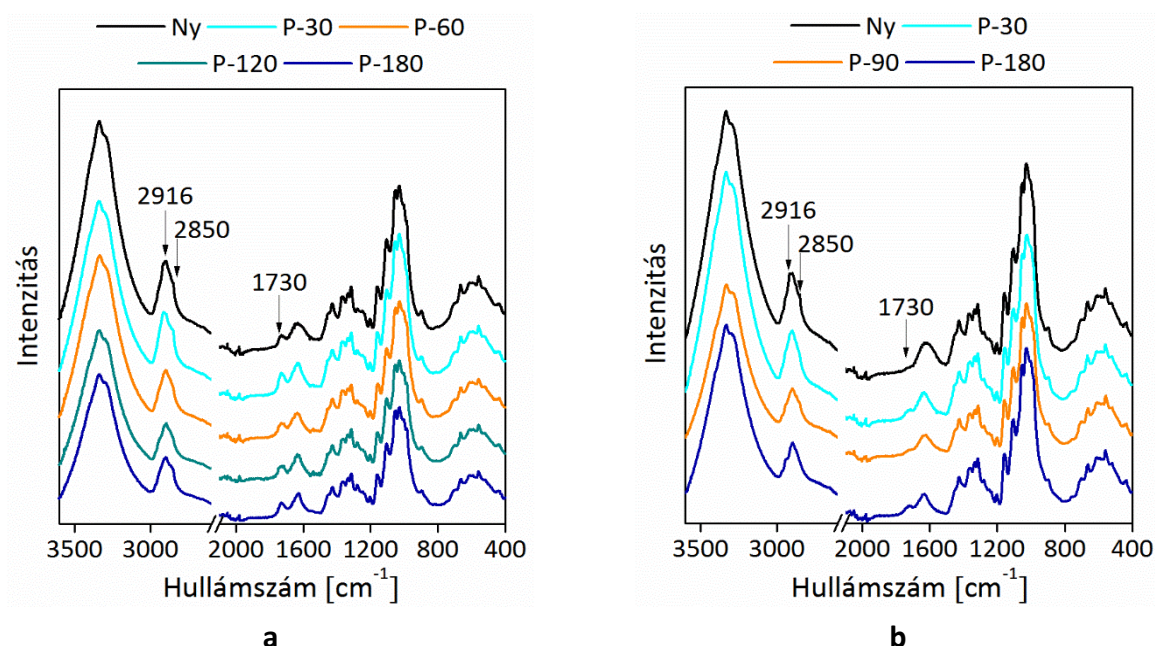


47. ábra. A nyers pamutszövet vetülék fonalaiból származó elemi szálak AFM felvételei (kontakt mérési üzemmód): (a) kezeletlen, (b) 180 s plazmakezelés (DCSBD) után²⁴²

Plazmagáz: levegő. A koordinátarendszer mérete: x és y irányban 5 μm , z irányban 1 μm .

A bemutatott AFM felvételek alapján a plazma láncfonalakra kifejtett hatására is következtethetünk. A láncfonalakat 8 és 14 μm vastag keményítő irányag borítja²⁰². A plazmakezelés tehát az irányagra hat, degradálja és részlegesen eltávolítja azt a fonalfelületről. Összefoglalva tehát, a plazma a vetülék fonalakat alkotó elemi szálak legkülső, viaszban és más kísérőanyagokban gazdag rétegére, valamint a láncfonalak felületén lévő keményítő irányagra hat, megváltoztatja eloszlásukat a felületen, lokálisan degradálja azokat és hozzájárul a részleges eltávolításukhoz.

A plazmakezelés hatására megváltozik a felület kémiai összetétele. Az FT-IR ATR spektrumok azt mutatják (48. ábra), hogy a nyers len és pamut viasszal borított felületén a 2916 és 2850 cm^{-1} hullámszámnál megjelenő csúcsok intenzitása csökken a plazmakezelés időtartamával arányosan (20. táblázat), ami a viaszréteg vastagságának, és/vagy a viasszal borított felület nagyságának a csökkenését jelzi. A pektin jelenlétére az észterek vegyérték rezgési sávja, azaz a 1730 cm^{-1} hullámszámnál megjelenő csúcs utal. A nyers len pektin tartalma – és az 1730 cm^{-1} hullámszámnál megjelenő csúcs intenzitása (48.a ábra) – lényegesen nagyobb, mint a pamuté (48.b ábra). A plazmakezelés időtartamának a növelésével jelentősen nő mindkét szálanyag felületén az 1730 cm^{-1} hullámszámnál mért intenzitást, és nő a relatív intenzitás is: a pamut esetén 0,25-ről 0,41-re, a lennél pedig 0,34-ről 0,53-ra (20. táblázat). Feltételezzük, hogy a plazmakezelés eltávolítja a felületi viaszréteget vagy elvékonyítja azt, ezáltal a pektin a szálfelületre kerül és detektálhatóvá válik. Emellett a szálfelületen lévő polimerek oxidációjának is lehet a következménye az intenzitás növekedés²⁰⁶.



48. ábra. (a) Nyers len- és (b) pamutszövet FT-IR ATR spektruma a plazmakezelés (DCSBD) időtartamának a függvényében (Plazmagáz: levegő)^{238,242}

XPS módszerrel a felület kb. 10 nm mélységben tanulmányozható^{203,204}. A cellulóz alapú szálanyagok felülete főként szén és oxigén atomokat tartalmaz, az O/C arány azonban a szárfelület egyes komponenseiben (cellulóz, viaszok, lignin) eltérő. A kezeletlen, nyers lenszövet felületén az O/C arány 0,32, ami a plazma felületet degradáló hatása révén 0,59-re nőtt (21. táblázat). A C1s csúcs felbontásából látható, hogy a viaszra utaló, 285 eV-os kötési energiánál lévő komponens aránya jelentősen csökkent, a C=O, O–C–O kötések aránya pedig nőtt a plazmakezelés idejével. Az eredmények a felületi viasz-tartalom csökkenését mutatják, és feltételezhető a karboxil-csoportot tartalmazó pektin és más poliszacharid (cellulóz, hemicellulózok) alkotók, valamint ezek oxidációs termékeinek a jelenléte a szárfelületen.

20. táblázat. A plazmakezelés (DCSBD) időtartamának hatása a pamut- és lenszövet felületi viasz és pektin-tartalmára az FT-IR ATR vizsgálat alapján (Plazmagáz: levegő)^{238,242}

Plazmakezelés időtartama (s)	Pamut		Len	
	Relatív intenzitások az alábbi hullámszámoknál (cm ⁻¹) ^a			
	2850	1730	2850	1730
0	1,01	0,25	1,27	0,34
30	0,97	0,31	1,25	0,47
60	-	-	1,25	0,47
90	0,98	0,37	-	-
120	-	-	1,25	0,47
180	0,95	0,41	1,3	0,53

^a A jelzett hullámszámnál mért intenzitás a 609 cm⁻¹-nél mérthez viszonyítva.

A nyers pamutszövet felületén az O/C arány 0,25 (21. táblázat), ami a felületi viasz (0,11) és a keményítő tartalmú irányag (0,32)²⁰⁵ elméleti értéke közé esik. A plazmakezelés időtartamának a növelésével nő az O/C arány. Megjegyzendő, hogy a három perces plazma-kezelés után mért érték (0,82) megközelíti a tiszta cellulóz értékét (0,83). A C-H és C-C kötések tartalmazó viaszos komponensek mennyisége csökken, és ezzel párhuzamosan nő a szén-oxigén kötést tartalmazó komponensek aránya, ami például a keményítő irányag oxidatív degradációjának, valamint a szerkezeti polimerek (cellulóz és pektin) szálfelületre kerülésének, ezt követő esetleges oxidációjának és/vagy degradációjának lehet a következménye. A pektinek a vetülék fonalakat alkotó pamut elemi szálak felületén lévő viasz degradációja révén válhatnak detektálhatóvá és járulhatnak hozzá a mért magas O/C értékhez (oxigén-szén arányuk 0,94; saját nem publikált adat). A cellulóz oxidációja és bomlása is feltételezhető a karbonil- és karboxil-csoportok arányának jelentős növekedése alapján²⁰⁶.

A szálfelületet borító viaszréteg megbontása és részleges eltávolítása, valamint az oxigén-tartalmú hidrofil csoportok kialakulása javítja a pamut felületének a nedvesíthetőségét. A nedvesedési idő 180 s-os plazmakezelés után 5 s (22. táblázat). A nyers lencszövetnek mérhető a nedvesedési ideje (53 s), ami plazmakezelés hatására jelentősen csökken. Megjegyzendő, hogy a kisebb teljesítményű GD plazma is javítja a lencszövet nedvesedőképességét, de kevésbé hatékony, mint a DCSBD plazma (22. táblázat). A 49.a és b ábra a plazmakezelés időtartamával arányosan növekvő O/C arányt mutatja a len felületén, továbbá szemlélteti a nedvesedési idő csökkenését.

21. táblázat. Az O/C arány és a C1s csúcs felbontásából származó csúcsok atomi százalékos összetétele a plazmakezelés (DCSBD) időtartamának a függvényében a kezeletlen és a plazmakezelt (P) nyers len- és pamutszövet esetén (Plazmagáz: levegő)^{238,242}

Szövet	Plazmakezelés időtartama (s)	O/C arány ^a	C1 % (285,0 eV)	C2 % (286,7 eV)	C3 % (288,5 eV)
			C–C, C–H	C–O	C=O, O–C–O
Len	-	0,32	67	27	6
	P - 30	0,40	67	25	8
	P - 60	0,43	67	24	9
	P - 120	0,54	65	24	10
	P - 180	0,59	54	28	17
Pamut	-	0,25	76	18	6
	P - 90	0,54	57	25	18
	P - 180	0,82	45	38	17

^a Elméleti O/C arány a viaszokban: 0,11, a ligninben: 0,31 és 0,4 között, a cellulózban: 0,83²⁰³

A plazmakezelés növeli a szálfelület érdességét és új pórusokat hoz létre, továbbá az oxigénben gazdag hidrofil csoportok kialakításával növeli a nedvesedőképességét. A változó-

sok összehasonlító jellemzésére a folyadékszívást alkalmaztuk, amelynek segítségével meghatároztuk a felületi energiát. A nyers lenszövet látszólagos kapilláris sugár értéke jelentősen nő ($4,9 \rightarrow 7,5 \mu\text{m}$) a plazmakezelés (DCSBD, levegő atmoszféra) időtartamának a növelésével (23. táblázat). Már a 30 s-os kezelés is jelentősen növeli a felületi energiát, a leghosszabb kezelés után pedig több, mint kétszeresére nő a γ_s^d értéke ($26 \rightarrow 56 \text{ mJ/m}^2$). Lényegesen kisebb változások mérhetők a kis teljesítményű GD-levegő plazma esetén.

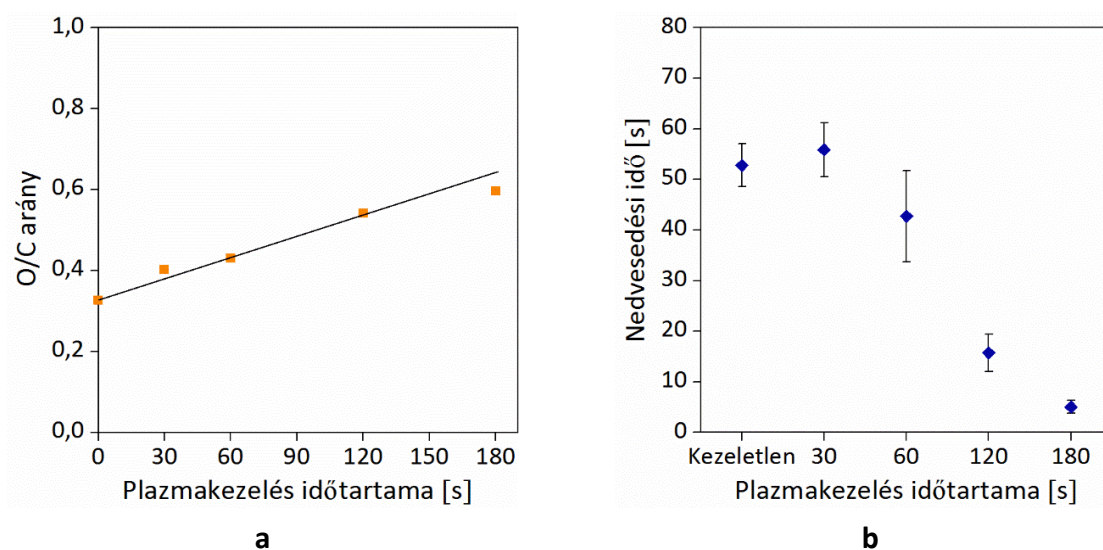
22. táblázat. Pamut- és lenszövet nedvesedőképességének jellemzése cseppentéssel, a plazmakezelés időtartamának a függvényében^{234,238,242}

Szövet	Plazmakezelés időtartama ^a (s)					
	-	30	60	90	120	180
Nedvesedési idő ^c (s)						
Pamut	> 180	143 ± 19	-	17 ± 7	-	5 ± 4
Len	53 ± 4	56 ± 5	43 ± 9	-	16 ± 4	5 ± 1

^a DCSBD plazma: levegő plazmagáz; 300 W teljesítmény;

^b GD levegő-plazma: 130 W teljesítmény; a kiindulási nyers lenszövet nedvesedési ideje > 180 s;

^c Oldószer: desztillált víz.



49. ábra. A nyers lenszövet (a) O/C aránya (XPS) és (b) nedvesedőképessége a plazmakezelés (DCSBD) időtartamának a függvényében

Plazmagáz: levegő, (b) desztillált vízzel, cseppentéssel mérve²³⁸

A plazmakezelés – az alkalmazott plazma típusától és a kezelés paramétereitől függően – módosítja a lenszövet színét. A GD plazma jelentősebb színváltozást okoz, mint a DCSBD plazma (24. táblázat). Csökken a fehérség (WI) és nő a sárgasági index (YI). A kezeletlen szövethez viszonyított színkülönbség GD plazma esetén szemmel jól észrevehető ($\Delta E_{ab}^* > 1,6$ és $1,3$), DCSBD plazmánál pedig alig észlelhető ($\Delta E_{ab}^* = 0,6-0,7$). A plazmával ke-

zelt szövetek tehát színesebbek, mint a kezeletlen lencsövet (ΔC_{ab}^* pozitív). A plazma hatására képződő reaktív gyökök a len külső rétegében kettős kötések kialakulásához vezető reakciókat keltenek. A felületi réteg oxidációja pedig aldehid-csoportokat eredményez. Mindkét változás növeli a fényabszorpciót a látható tartományban^{200,207}.

23. táblázat. A plazmakezelés időtartamának hatása a nyers lencsövet folyadékszívással meghatározott látszólagos kapilláris sugár (R) és felületi energia (γ_s^{total}) értéke^{234,238}

Jellemző	Plazmakezelés időtartama (s) ^a					
	-	30	60	120	180	300 ^b
R (μm)	4,9 $\pm$ 0,4	6,1 $\pm$ 0,5	6,1 $\pm$ 0,2	5,8 $\pm$ 0,3	7,5 $\pm$ 0,1	3,3
γ_s^{total} (mJ/m^2)	26 $\pm$ 1	45 $\pm$ 2	48 $\pm$ 4	53 $\pm$ 4	56 $\pm$ 6	25

^a DCSBD plazma: levegő plazmagáz; 300 W teljesítmény;

^b GD levegő-plazma: 130 W teljesítmény; a kiindulási nyers lencsövetre vonatkozó értékek: 2,9 μm ; 22 mJ/m^2 .

24. táblázat. A plazmakezelés paramétereinek a hatása a nyers lencsövet színére. Fehérségi és sárgasági index, valamint a színkülönbség a kezeletlen szövethez viszonyítva^{234,238}

Plazma	Időtartam (s)	WI ^a	YI ^b	ΔH_{ab}^*	ΔL_{ab}^*	ΔC_{ab}^*	ΔE_{ab}^*
DCSBD ^c	0	2,8	31,5	-	-	-	-
	30	2,6	31,5	-0,4	-0,6	-0,1	0,7
	60	2,1	32,1	-0,4	-0,5	0,1	0,6
	120	1,8	32,5	-0,4	0,2	0,4	0,6
	180	1,9	32,3	-0,4	0,3	0,3	0,6
	300 ^c	6,9	27,0	-0,6	0,9	1,2	1,6
GD	0	10	22,6	-	-	-	-
	300 ^d	6,6	27,1	-0,6	0,2	1,2	1,3

^a Fehérségi index (WI): DCSBD - WI_{Berger}; GD - WI_{E313};

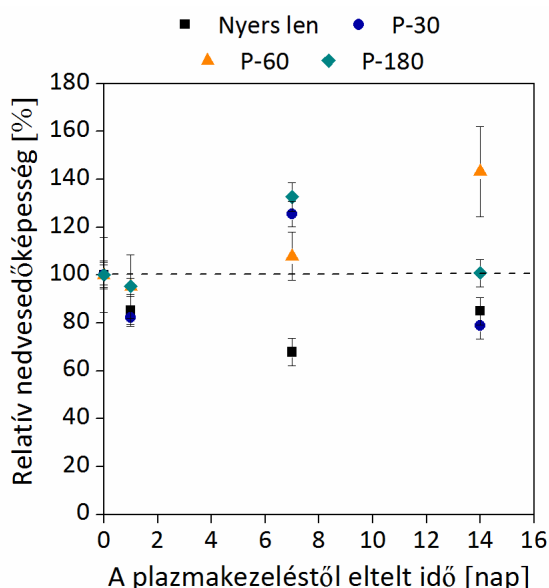
^b Sárgasági index (YI): DCSBD - YI_{E313}; GD - YI_{D1925};

^c Plazmagáz: levegő.

^d Plazmagáz: argon.

A gyakorlat számára fontos a plazmakezelés tartósságának vizsgálata, hiszen a plazmával aktivált textília feldolgozása során hosszabb idő eltelhet az egyes technológiai lépések között. A szövetek nedvesedőképességét mértük cseppentéssel a plazmakezelést követő két hétben. Az 50. ábra a relatív nedvesedőképességet mutatja. Az 1, 7 és 14 nap elteltével mért nedvesedési időt minden szövetnél a közvetlenül a plazmakezelés után (illetve kezeletlen szövetnél a plazmakezelés időpontjában) mért értékéhez viszonyítottuk. A kezeletlen lencsövetnek is változik a nedvesedőképessége a vizsgált időintervallumban, ami a szövet inhomogenitásának és a mérési módszer bizonytalanságának a következménye. A plazmázott szövetek relatív nedvesedőképességének a változása nem haladja ezt meg. A plazmake-

zeléssel elért hatás tehát nem csökken számottevően a plazmakezeléstől számított 14 napban. Ez összhangban van azokkal a publikált eredményekkel, ahol például a felületkezelést követően 96 óráig nem mértek változást a viszkóz szöveten a peremszögben és a felületi



50. ábra. A nyers és a plazmakezelt lencszövet relatív nedvesedőképessége a plazmakezeléstől eltelt idő függvényében²³⁸

DCSBD plazma, levegő plazmagáz;

Relatív nedvesedőképesség: az adott időpontban és közvetlenül a plazmakezelés után mért nedvesedési idő hányadosa %-ban;

Oldószer: desztillált víz.

oxigén tartalomban²⁰⁸. A lencszövet nedvesedési ideje és színezékfelvétele sem változott a kezelést követő egy hétben²⁰⁹.

Összefoglalva megállapítható, hogy az AFM, IR és XPS eredmények a plazmakezelés hatására a szálfelületen bekövetkező változásokat jelzik: a külső viaszréteg megbontását, a viaszos anyagok mennyiségének a csökkenését, az oxigénben gazdag szálfelület kialakulását. A kezelés időtartamának a növelésével nő a felületen az oxigén-tartalmú funkciós csoportok aránya, nő a felületi energia és javul a szövetek nedvesedőképessége. Ez utóbbi, 14 nap után sem változik számottevő mértékben. Pamut- és lencszövet plazmakezelése során a szövetek tömegváltozása nem haladta meg az 1 %-ot, és nem mértünk szignifikáns változás sem a szakítóerő, sem a szakadási nyúlás értékekben²⁴².

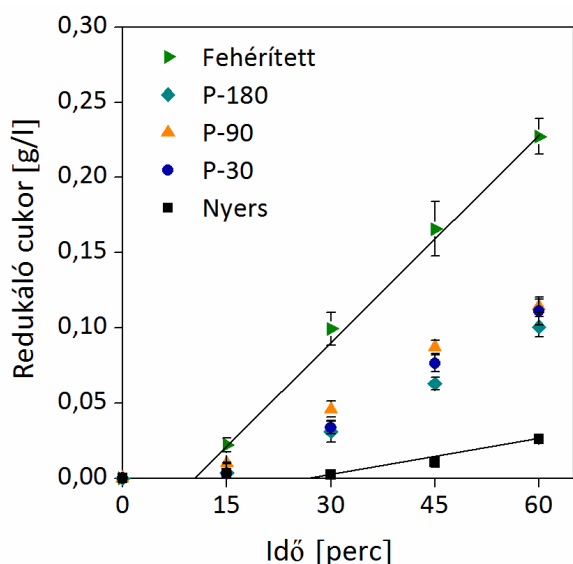
5.4.3 A szálfelület polimer alkotóinak hozzáférhetősége a nyers pamutszövet plazmakezelése (DCSBD) után²⁴² [T10]

Számos publikációban leírták a plazma előkezelés pozitív hatását egyes enzimes textiltechnológiai folyamatokra, de a plazmakezelésnek az adott enzimes folyamatra gyakorolt közvetlen hatásáról nem jelent meg publikáció a szakirodalomban. Feltételeztük, hogy a nyers pamutszövet plazmakezelése során – a pamut elemi szálak felületi eróziója következtében – megnő a szálfelületen a viasz alatt lévő polimer alkotók pl. pektin és cellulóz hozzáférhetősége az enzim számára, és ezáltal lesz hatékonyabb pl. a bioelőkészítés. Ennek a bizonyítására nyers és plazmázott pamutszövetet kezeltünk celluláz enzimmal, abból a célból, hogy a viasz alatti rétegekben lévő cellulóz hozzáférhetőségét jellemezzük.

A celluláz enzim csak kis hatékonysággal képes áthatolni a nyers pamutot borító, összefüggő viaszrétegen⁸⁷. A korábban bemutatott AFM felvételek (47. ábra) alapján azonban

feltételezhető, hogy a plazmakezéssel a viaszos kutikula degradálódik és az alatta lévő, cellulózt is tartalmazó rétegek (pl. a primer fal, valamint helyenként a tiszta cellulózból álló szekunder fal) szabaddá válnak, és hozzáférhetővé a celluláz enzim számára. A celluláz enzim kezelése tehát a cellulóz hozzáférhetőségét, és közvetve a pamut elemi szálakat borító legkülső viaszréteg épségét, vagy éppen a plazmakezelés hatására bekövetkező erózióját jellemzi. Összehasonlítás céljából fehérített pamutszövetet is alkalmaztunk szubsztrátként, amely az enzim számára tökéletesen hozzáférhető cellulóznak tekinthető. A hidrolízist az oldatba kerülő redukáló cukor koncentrációval követtük.

A nyers pamut hidrolízise során csak hosszú inkubáció után detektálható redukáló cukor a kezelőfürdőben (51. ábra), ami jelzi, hogy a pamutviasz hatékony védőréteggént vonja be a szálakat és gátolja a viasz alatt lévő polimerek (pl. cellulóz) hozzáférhetőségét az enzim számára. Kb. 27 perc szükséges ahhoz, hogy az enzim a viasz repedésein keresztül elérje a primer fal amorf cellulóz alkotóját, kialakuljon az enzim-szubsztrát komplex és a hidrolízis eredményeként mérhető mennyiségű redukáló cukor keletkezzen (51. ábra, ■). A plazmakezelés jelentősen gyorsítja a folyamatot, rövidül az inkubációs periódus és már 10-15 perc után detektálható bomlástermék a kezelőoldatban (51. ábra). A fehérített pamut hidrolízise esetén is kb. 10-15 perc után mérhető redukáló cukor az oldatban (◆), ezért feltételezzük, hogy a cellulóz hozzáférhetősége a plazmakezelt nyers pamutban hasonló a fehérített pamutcellulóz hozzáférhetőségéhez.



51. ábra. Nyers és fehérített, valamint különböző ideig plazmázott (DCSBD, levegő) nyers pamutszövet celluláz enzim hidrolízise során a képződő redukáló cukor az enzim kezelés időtartamának a függvényében²⁴²

Az inkubációs periódus után a mért adatpontok a különböző pamut szubsztrátumok esetén egyenesre illeszkednek. Ezekre a szakaszokra konstans reakciósebességet feltételezünk a termékképződésre, azaz a termék koncentrációja lineárisan nő. Az egyenesek meredeksége pedig megadja a reakciósebességet, ami jelentősen eltér a nyers, a nyers-plazmakezelt és a fehérített pamutszövetek esetén (51. ábra). A nyers szövetnél a legkisebb, az értéke 0,0008 (g/l)/perc. A 30, 90 és 180 s-ig plazmakezelt nyers szövetek esetén kb. 0,0024 (g/l)/perc, és nem mérhető szignifikáns különbség a plazmakezelés időtartamától függően. A fehérített pamut enzim kezelésekor a

leggyorsabb [0,0045 (g/l)/perc] a termékképződés. A nyers szövet celluláz enzim hidrolízise során a reakció sebességét a felületen lévő viaszréteg által korlátozott enzim-szubsztrát kölcsönhatás létrejötte határozza meg. Plazmakezelés hatására azonban a cellulóz szubsztátum hozzáférhetősége megközelíti a tiszta cellulóz (fehérített pamutszövet) hozzáférhetőségét, így tehát ebben az esetben a kisebb hidrolízis sebesség a lényegesen kisebb szubsztátum koncentrációval magyarázható.

A pásztázó elektronmikroszkópos felvételek összhangban vannak az előbb elmondottakkal, és jól szemléltetik a celluláz enzim kezelés hatására a pamutszálak felületén és belső rétegeiben bekövetkező változásokat (52. ábra). A nyers pamut enzim kezelésekor az enzim a zárt viaszréteg gátló hatása miatt nem okoz jelentős változást a szálfelületen, és csupán a legkülső réteg enyhe lehámozódása következik be (52.b ábra). A 90 s-os plazmakezelt szövet enzim kezelése után a szálfelület „bolyhosodása” figyelhető meg, ami a legkülső réteg teljes szálfelületre kiterjedő degradációját jelzi (52.c ábra). A fibrillák kirajzolódása is az eredményes enzim kezelés következménye. A 180 s-os plazmakezelt majd enzimezett nyers pamut (52.d ábra) felvétele hasonló a fehérített és enzimezett száléhoz (52.f ábra). Mindkettőre a fibrillák éles kirajzolódása, valamint az elválásukat jelző repedések megjelenése a jellemző. Mindezek a hatékony enzim hidrolízis következményei.

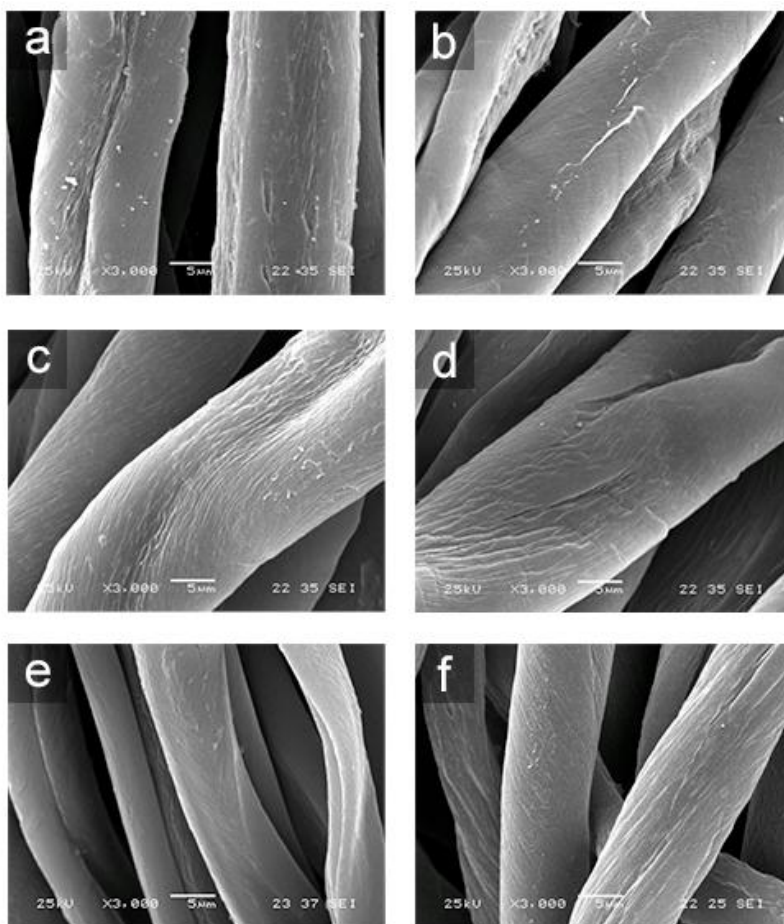
A pektin enzimek számára megnövekedett hozzáférhetőségét is célunk volt bizonyítani. A pektin enzim degradációjára jellemző bomlástermékeket azonban nem tudtunk kimutatni a kezelőoldatban, ami elsősorban a pamut kis pektin-tartalmával magyarázható (0,6-1,3 %). Bár a pektin nagy része (kb. 14 %-a) a kutikulában helyezkedik el, a bomlástermékek mennyisége túl kicsi, és ezért fotometriásan nem mérhető.

5.4.4 A plazma (DCSBD) előkezelés hatása az amiláz enzim irtelenítésre²⁴² [T11]

A nyers pamut plazmakezelése során a reaktív gyökök, ionok, elektronok a láncfonalat borító keményítő anyaggal is kölcsönhatásba lépnek, aktiválhatják, degradálhatják és részlegesen eltávolíthatják azt a felületről. Mindegyik folyamat befolyásolhatja a keményítő enzim degradációját. A plazma egyrészt növeli a szövetfelület hidrofilitását, javítja a nedvesedőképességet és ezáltal növeli a keményítő anyag hozzáférhetőségét az enzim számára, ami kedvezően hat a hidrolízisre és növeli a termékképződés sebességét. Ugyanakkor a plazma degradálja és részlegesen eltávolítja a keményítőt, azaz csökkenti a szubsztátumot az amiláz enzim reakcióban, ami nem kedvez a hidrolízis során a termékképződésnek.

Az amiláz enzim hidrolízis kezdeti szakaszában a plazmakezelt szövetekből sokkal több redukáló cukor keletkezik, mint a kezeletlen nyers szövetből (53.a ábra). A reakció előrehaladtával azonban a plazmakezelt minták esetén lassul a termékképződés, ami a fonalfel-

lületen lévő keményítő csökkenő mennyiségének lehet a következménye. Egy óra elteltével a nyers pamutról már több redukáló cukor kerül az oldatba, mint a plazmakezelt szövetekről. Kb. 3 órás hidrolízis után pedig már nem nő számottevően az oldat redukáló cukor koncentrációja egyik szövetnél sem.

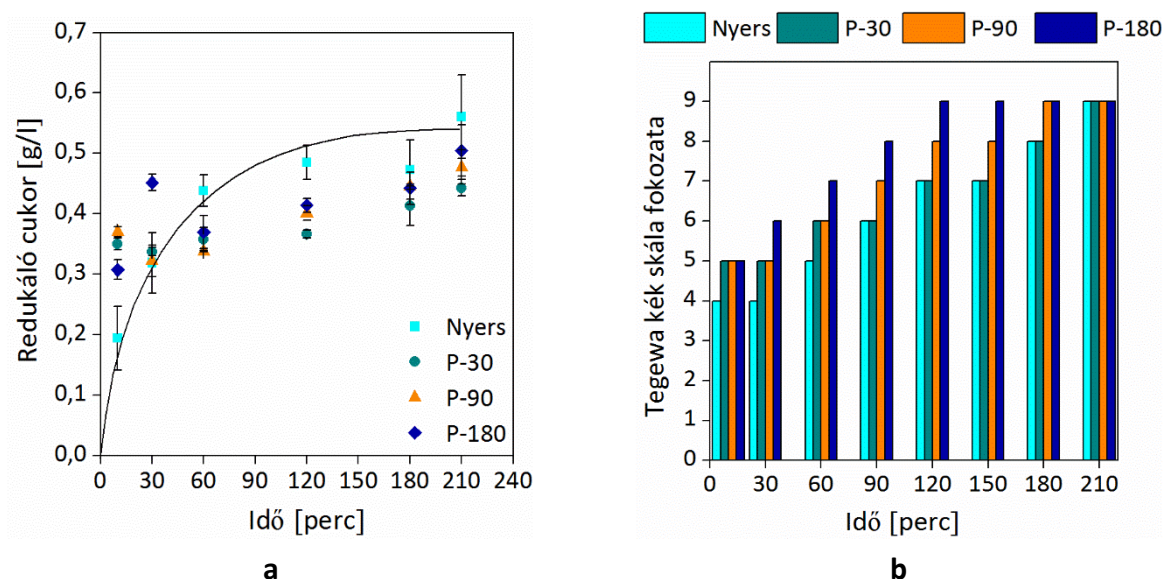


52. ábra. Pamutszövetből származó elemi szálak elektronmikroszkópos felvétele: a) nyers; b) celluláz enzimmel kezelt nyers; c-d) plazmázott (DCSBD-levegő, 90 s és 180 s) majd celluláz enzimmel kezelt nyers; e) fehérített; f) celluláz enzimmel kezelt fehérített pamut (3000 $\times$)²⁴²

A nyers szövet írtelenítése után, a hidrolízis végén, a kezelőfürdőben mért legnagyobb átlagos redukáló cukor koncentráció: 0,56 g/l. A plazmakezelt szöveteknél kisebb koncentrációkat mértünk (0,44-0,50 g/l). A plazmakezelés irányagot degradáló hatását tehát a reakció végén, a kezelőfürdőben mért redukáló cukor koncentrációk alapján – indirekt módon – sikerült igazolni. Ennek megfelelően a plazmakezelés kb. 10-20 %-kal csökkenti az irányag mennyiségét.

Az írtelenítés hatékonyságát a gyakorlatban általában a szöveten visszamaradó irányag mennyiségével jellemezzük. Jól bevált módszer a keményítő-jód színreakción alapuló Tegewa teszt, amelynek az ún. kék skálája 1-től 9-ig értékeli a szöveten maradt keményítő

mennyiségét. A nyers pamutszövetről a keményítő irányag 210 perc alatt hidrolizálható el teljesen (53.b ábra). Plazma előkezeléssel rövidül az írtelenítési reakció, hiszen a 3 perces plazmakezelt szöveten már 2 óra elteltével nem mérhető keményítő. Az ipari gyakorlatban a Tegewa skála 5-ös értéke megfelelő mértékű keményítő eltávolítást jelent. Ez az érték a nyers szövetnél 60 perces, valamennyi plazmakezelt szövet esetén pedig 10 perces enzimés hidrolízis után érhető el. Plazma előkezeléssel tehát az írtelenítés hatékonysága jelentősen növelhető, és ezáltal az enzimés kezelés időtartama például a 90 s-os plazmakezelést követően hatodára csökkenthető. 45 s-os oxigén-plazma kezelés után 1 órás enzimés kezeléssel az irányag 99 %-át tudták eltávolítani, a nem plazmázott nyers pamutról pedig a 77 %-át²⁰⁵.



53. ábra. A nyers, valamint a különböző ideig plazmázott nyers pamutszövet amiláz enzimés (Beisol LZV) írtelenítése során (a) a redukáló cukor koncentráció; és (b) a szövetek minősítése a Tegewa-teszt alapján, a hidrolízis időtartamának a függvényében²⁴²

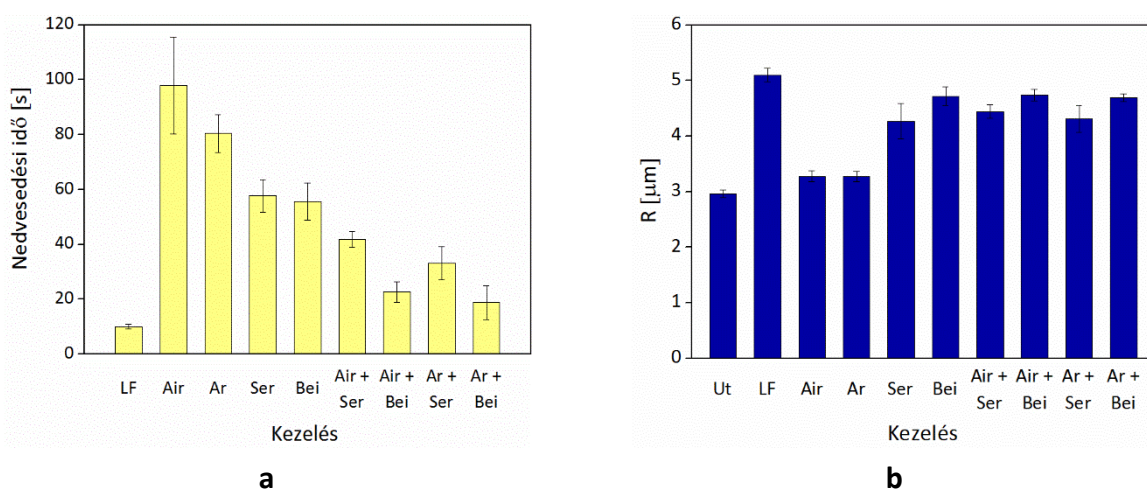
DCSBD, plazma gáz: levegő; (b): Az első oszlopsor a 10 perces enzimés kezelés eredményeit mutatja.

5.4.5 A plazma (GD) előkezelés hatása a bioelőkészítésre²³⁴ [T12]

A plazmakezelés felületmódosító hatása befolyásolja az azt követően alkalmazott pektináz enzimés kezelést is. A kisebb teljesítményű – levegő és argon atmoszférában végrehajtott – GD plazma hatására javul a nyers lenszövet nedvesedőképessége, és mérhető a különbség a plazmagáz minőségétől függően (54.a ábra). A pektináz enzimés kezelés is javítja a nedvesedőképességet, és az alkalmazott két enzim (Serazyme C-PE, Beisol PRO) hatása között nincs jelentős különbség. Hatékonyabb az enzimés kezelés a plazmakezelést követően. A legkisebb nedvesedési időt az argon-plazma előkezelés után alkalmazott Beisol PRO enzimmel értük el (16 s), ami megközelítette a lúgos főzés után mért 10 s-os értéket (54.a ábra). Az argon atmoszféra kedvező hatására magyarázat lehet, hogy az argonból a

plazmakezelés során keletkező Ar^+ ionok sokkal reaktívabbak, mint például a levegő atmoszférában az oxigénből és nitrogénből keletkező O_2^+ és N_2^+ ionok. A plazmában az Ar^+ ionok reakciója szabad gyököket eredményez, amelyek például részt vehetnek a szálfelület ionizációjában és gyökök létrehozásában. A gyökök a szálfelület alkotóinak degradációs folyamataiban képződnek. A pamut és a len felületén jelentős a szabad gyökök képződése^{210,211}.

A folyadékszívás vizsgálattal meghatározott látszólagos kapilláris sugár (R) értékek (54.b ábra) alapján a legkisebb szívási teljesítménye – és ennek megfelelően a legkisebb R értéke – a nyers lenszövetnek van ($2,9 \mu\text{m}$), a legnagyobb pedig a lúgos főzöttnek ($5,1 \mu\text{m}$). A kis teljesítményű GD plazma a nyers lent borító felületi réteg morfológiájában csak enyhe változást okoz, amelynek következtében csak kismértékben javul a szívási teljesítmény és az R értéke ($3,3 \mu\text{m}$). Sokkal jelentősebb a hatása a pektináz enzimes kezelésnek. Az enzim ugyanis nemcsak az elemi szálak felületén lévő, hanem az azok között elhelyezkedő, vagyis a rostot összetartó pektinre is hat, és eltávolítása a rost pórusszerkezetének a változását eredményezi, ami befolyásolja a szívási teljesítményt. A plazma előkezelés a hatékonyabb Beisol PRO enzimmel kezelt szövet folyadékszívását nem befolyásolja, a kevésbé hatékony Serazyme C-PE enzimmel kezeltét azonban kismértékben javítja, ami az R enyhe növekedéséhez vezet. Az Ar -plazma előkezelés és bioelőkészítés után kapott szövet, valamint a lúgos főzött szövet szívási sebessége ($0,1 \text{ cm}^2/\text{s}$) és felületi energia értéke ($25,8$ és $26,1 \text{ MJ/m}^2$) hasonló²³⁴.



54. ábra. Nyers lenszövet plazmakezelése (GD, 300 s) és pektináz enzimes előkészítése után a (a) szövet nedvesedőképessége (desztillált vízzel, cseppentéssel mérve); (b) a látszólagos kapilláris sugár (R) értéke²³⁴

Jelölések: UT: kezeletlen nyers lenszövet; Alk: lúgos főzés; Air, Ar: levegő, argon plazmagáz; Bei: Beisol PRO enzimes kezelés; Ser: Serazyme C-PE enzimes kezelés

Korábban már tárgyaltuk a GD plazma szövetszín módosító hatását (24. táblázat). A plazmakezelést követően alkalmazott pektináz enzimes kezelés hatására azonban eltűnik a

plazmakezelés okozta elszíneződés (25. táblázat). A színváltozás a szálfelületen lejátszódó és a plazma által indukált oxidációs folyamatok eredménye. Az enzim is a szálfelületen hat, vagyis a plazma által módosított legkülső rétegekben katalizálja a pektin hidrolízisét. Az enzimes kezelés során a pektin és a legkülső rétegek eltávolítása a színes alkotók eltávolítását is eredményezi. Ennek köszönhetően a bioelőkészített és a plazma előkezelés után bioelőkészített szövetek nyers szövethez viszonyított színkülönbsége azonos ($\Delta E_{ab}^* < 0,8$).

25. táblázat. A GD-plazmakezelés (időtartam: 300 s) és az azt követően alkalmazott pektináz enzimes kezelés hatása a lencszövet színére^{a, 234}

Kezelés	WI _{E313}	YI _{D1925}	ΔH_{ab}^*	ΔL_{ab}^*	ΔC_{ab}^*	ΔE_{ab}^*
-	10	22,6	-	-	-	-
Lúgos főzés	10,4	23,5	-0,4	2,1	0,3	2,2
Beisol PRO	10,2	21,9	0,1	-0,6	-0,2	0,6
Serazyme C-PE	10,5	21,6	0,1	-0,6	-0,3	0,7
Levegő – Beisol PRO	9,8	22,3	0,1	-0,8	-0,1	0,8
Levegő – Serazyme C-PE	10,1	22,2	0,1	-0,3	-0,1	0,3
Ar – Beisol PRO	9,8	22,5	0,1	-0,4	-0,1	0,4
Ar – Serazyme C-PE	10,1	22,1	0,1	-0,8	-0,2	0,8

^a Plazmagáz: levegő, argon;

Jelölések: WI: fehérségi mérőszám; YI: sárgasági mérőszám;

Színkülönbség: a kezeletlen nyers szövethez viszonyítva.

A plazma előkezelés enzimes folyamatokra gyakorolt hatását összegezve megállapíthatjuk, hogy a levegő atmoszférában végrehajtott DCSBD plazmakezelés a szálfelület legkülső rétegének az erózióját okozza, hozzájárul a hidrofil felület kialakításához és növeli a felület polimer alkotóinak a hozzáférhetőségét az enzimek számára. Ez utóbbi elősegíti az enzim-szubsztrát kölcsönhatás létrejöttét, ami előfeltétele az enzimkatalizált reakciónak. Celluláz enzimes hidrolízissel bizonyítottuk a szálfelület cellulóz alkotóinak a megnövelt hozzáférhetőségét az enzimek számára. A plazmakezelés növeli az amiláz enzimmel végzett írtelenítés kezdeti szakaszában a keményítő hidrolízisének a sebességét is. Az enzimoldat végső redukáló cukor koncentrációja azonban elmarad a nem plazmázott nyers szövet esetén mért értéktől, ami bizonyítja, hogy a plazmakezelés csökkenti a fonalfelületen lévő keményítő anyag mennyiségét. Eredményeink alapján a kisebb teljesítményű GD-plazma argonban eredményesebb a nyers lencszövet nedvesedőképességének a javításában, mint a levegő-plazma. Kismértékben hatékonyabb a pektináz enzimmel végzett bioelőkészítés is az argon atmoszférában végrehajtott plazmakezelés után, mint a levegő-plazmagáz alkalmazásakor.

5.5 LEGÚJABB KUTATÁSI TERÜLETEK

5.5.1 Bevezetés

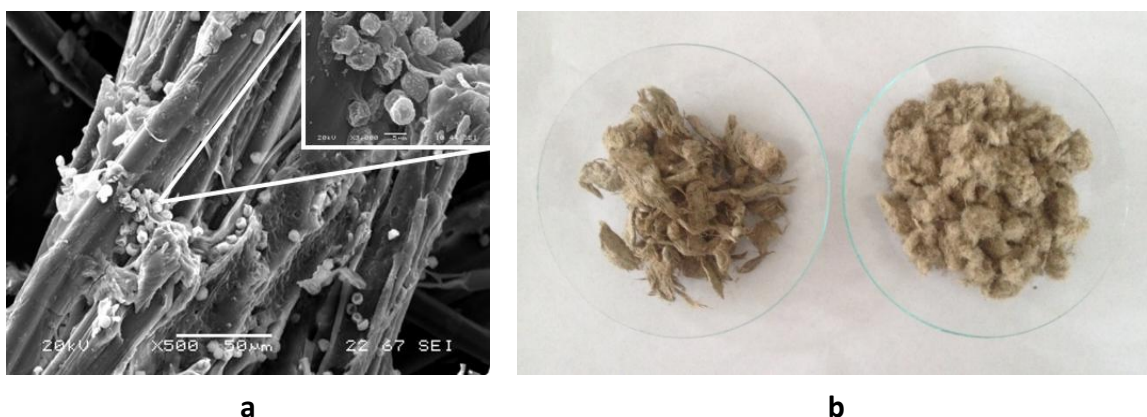
A cellulóz alapú szálanyagok felületi, morfológiai és tömbi tulajdonságainak a vizsgálata, az enzimek textilipari alkalmazása, valamint a heterogén fázisú enzimkatalizált folyamatok hatékonyságának a növelése során nyert eredményeink új és ígéretes kutatási területeket nyitottak meg számunkra az elmúlt időszakban. Két területen a kisfrekvenciás ultrahang által keltett kavitációt használtuk, és hasznosítottuk a korábbi – az ultrahang enzimekre és a folyadékfázisban szuszpendált szilárd részecskékre gyakorolt hatására vonatkozó – ismereteinket. Mindkét kutatás kapcsolódik a jelen dolgozat fő tématerületéhez, ugyanakkor más, a textil biotechnológiától különböző területek számára is hasznosítható eredményekkel szolgálhat.

Az első kutatásban – az 5.3. fejezetben ismertetett kutatómunkához kapcsolódóan – az ultrahangos térben zajló kavitációt a szilárd fázisú fermentációval előállított enzimek kinyerésére használtuk. Az SSF során a mikrobiális növekedés a szilárd szubsztrátum felületén, annak apró üregeiben, vagy annak közelében történik. A fermentációt követően a feldolgozási műveletekben (downstream) az enzimet oldószeres extrakcióval nyerik ki. Feltételeztük, hogy a szilárd felületen szétropanó kavitációs buborékok elősegíti az SSF-fel termelt enzimek hatékony kinyerését. Az enzimek extrakciója nagymértékben befolyásolja a folyamat hatékonyságát és a fermentáció költségét. Ennek ellenére, az extrakció szisztematikus vizsgálatával foglalkozó kutatómunkák száma csekély^{212,213}. Nem vizsgálták korábban az SSF-ben termelt enzimek ultrahanggal segített oldószeres extrakcióját. Az SSF területén csupán egyetlen cikket publikáltak az ultrahang alkalmazására, ahol az ultrahangot a fermentációs közeg stimulálására használták²¹⁴. Megjegyzendő, hogy a szubmerz fermentáció hatékonyságát gyakran javítják ultrahangos kezeléssel²¹⁵.

A második kutatásban a kisfrekvenciás ultrahangot a nanokristályos cellulóz kinyerése során alkalmaztuk. A CNC egy ígéretes és új nanoanyag, amely különböző cellulóz forrásokból nyerhető ki az amorf rész savas hidrolízise révén. A kristályos egységek nanoméretű, pálcika alakú részecskék formájában visszamaradnak. A folyamat során az ultrahangos besugárzással befolyásolható az egyedi nanorészecskék mérete, az aggregáció mértéke, és ezáltal a nanokristályos cellulóz szuszpenziók és az azokból készült termékek (pl. vékony filmek) egyes tulajdonságai is.

5.5.2 A kisfrekvenciás ultrahang alkalmazása a szilárd fázisú fermentációval termelt enzimek kinyerésére^{239,240} [T13]

Kutatómunkánkban őrlött lenroston, mint szilárd szénforráson, a *T. virens* és *A. oryzae* törzsekkel termeltettünk enzimeket SSF-ben. Az *A. oryzae* törzsszel nyert fermentum elektronmikroszkópos felvételén jól látható, hogy a lenrostot micélium borítja és a mikroba nemcsak a felszínen, hanem a len mátrixon belül is növekszik (55.a ábra). A nyers lenrost alapú SSF fermentum a szárítás hatására kemény, tömör, kb. 1 cm méretű egységekből áll (55.b ábra). A fermentáció során duzzadt szálak szerkezete a szárítás során megváltozik. A pórusok bezáródnak, csökken a hozzáférhetőség és a duzzadás mértéke, és esetenként a felületet egy nehezen átjárható „kéreg” borítja²¹⁶. Mindezek a változások nagymértékben nehezítik az enzim kinyerését a pufferes extrakció során.

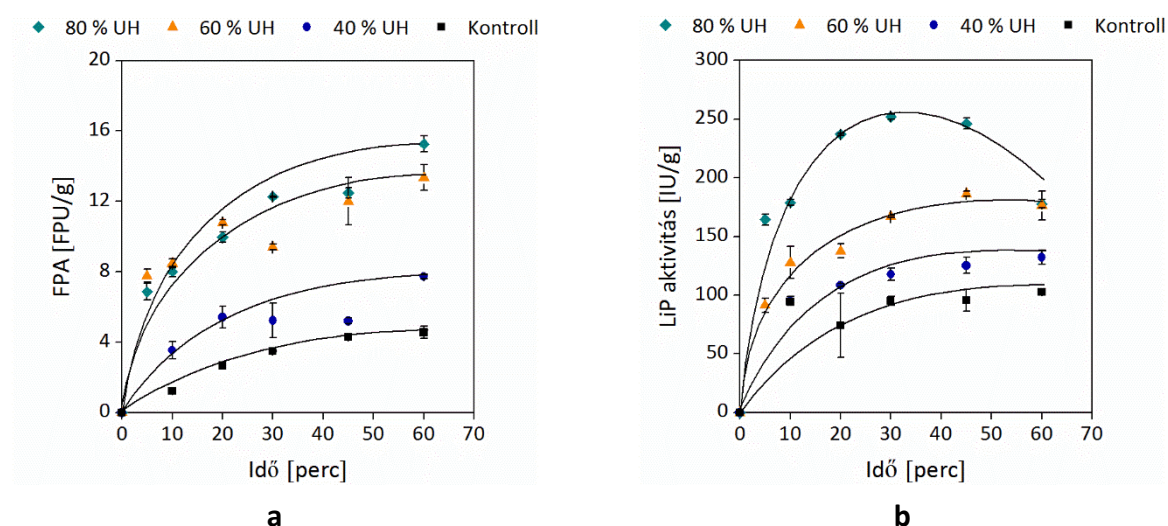


55. ábra. (a) Lenrost szubsztrátumon szilárd fázisú fermentációval elszaporított *A. oryzae* NRRL 3485 törzs elektronmikroszkópos képe (M 500x; belső kép: M 3000x). (b) A nyers fermentum (bal) és ugyanez golyósmalomban őrölve (jobb)²⁴⁰

A hagyományos módon (pl. rázó termosztátban vagy mágnesesen kevertetett rendszerben) végrehajtott extrakció során a puffer a szárított fermentum hozzáférhető pórusain keresztül bejut a micéliumba, majd lemosza a termelt enzimeket a micéliumról. A kisfrekvenciás ultrahanggal a fermentum lényegesen nagyobb hányada lesz hozzáférhető, mivel az ultrahang – a mikrojet hatásnak köszönhetően – megbontja a fermentum tömör szerkezetét, dezintegrálja azt, és ezáltal a szabaddá váló rostok felületéről és pórusaiból is extrahálhatóvá válnak az enzimek. A rostok elemi szálakra bontása a hozzáférhető felület növekedésével jár, ami szintén segíti az extrakciót.

A *T. virens* és *A. oryzae* törzsekkel nyert nyers fermentumokból az enzimeket kisfrekvenciás ultrahanggal segített extrakcióval nyertük ki. Mértük az enzimoldat aktivitását (FPA, LiP, Lac) az ultrahang amplitúdójának a függvényében. A folyamatot az FPA és LiP aktivitás értékekkel szemléltetjük. Az ultrahangos kezelésnek köszönhetően rendkívül jelentősen nőtt

a nyers enzimoldat FPA és LiP aktivitása (56.a,b ábra, *T. virens*). Az amplitúdó növelésével javult az extrakció hatékonysága. A 40, 60 és 80 % amplitúdón végzett ultrahangos kezeléssel az oldat szűrőpapír lebontó aktivitása 7,7, 13,3 és 15,2 FPU/g, ami a kontroll (4,6 FPU/g) értékének a 167, 289 és 330 %-a (vagyis a javulás 67, 189 és 220 %-os) volt. Kiváló eredményt értünk el a LiP enzim kinyerése során is, ahol a kontroll (103 IU/g) értékének a 129, 182 és 247 %-a volt elérhető. A lakkáz aktivitás a kontroll értékének 202-413 %-ára nőtt²³⁹.



56. ábra. Az ultrahangos kezelés amplitúdójának és időtartamának a hatása a nyers enzimek kinyerésére a szilárd fázisú fermentumból (*T. virens* TUB F-498). (a) Szűrőpapír lebontó aktivitás; (b) Lignin-peroxidáz aktivitás²³⁹

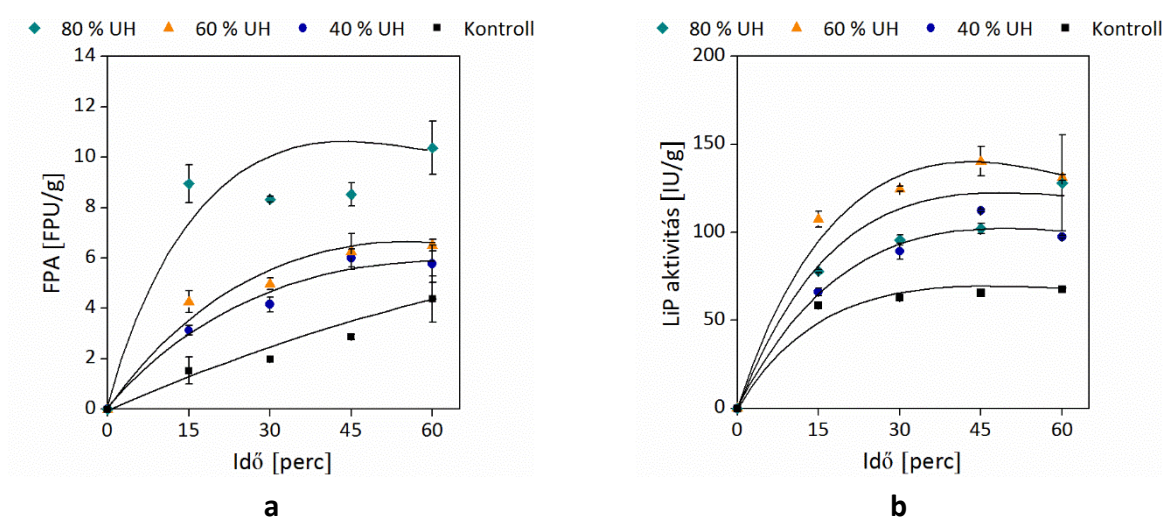
Szénforrás: lenrost; Kontroll: rázótermosztátban végzett extrakció.

Az *A. oryzae* törzzsel nyert fermentumok ultrahangos extrakciója (57. ábra) hasonló eredményeket hozott: az amplitúdótól függően az FPA-ban 32-111 %-os, az LiP aktivitásban pedig 44-94 %-os növekedést értünk el²⁴⁰. A kisfrekvenciás ultrahang enzimextrakciót elősegítő hatását számos esetben igazolták már például pektináz, CMC-áz és xilanáz²¹⁷, valamint proteáz, amiláz²¹⁸ és más enzimek esetén.

Korábban bizonyítottuk, hogy az intenzív ultrahangos kezelés (80 % amplitúdó) hatása kedvezőtlen a LiP enzimekre és kb. 20 %-os aktivitás csökkenést okoz. Feltételezhetően ezzel magyarázható a nyers enzimoldatok LiP aktivitásában tapasztalt visszaesés 80 %-os amplitúdón és hosszabb kezelési idő esetén (56.b és 57.b ábra). A folyamat során tehát a kisfrekvenciás ultrahang extrakcióra gyakorolt pozitív és a LiP aktivitásra kifejtett negatív hatása eredőjeként, a 80 %-os amplitúdón és hosszabb kezelési idők esetén a LiP aktivitás csökkenésével kell számolni.

A továbbiakban – a LiP aktivitás csökkenés mérséklése érdekében – az extrakciós kísérleteket 60 %-os amplitúdón végeztük, és az enzim kinyerését a nyers fermentumok őrlé-

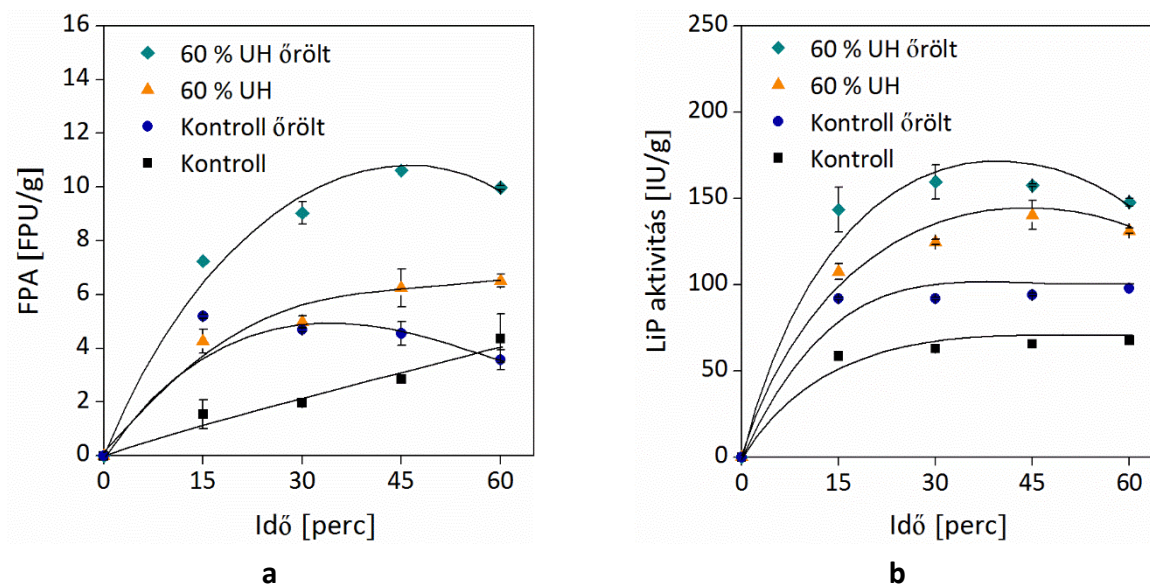
sével, valamint többlépéses extrakcióval javítottuk. Korábban részletesen tanulmányoztuk a len őrlésének hatását a száltulajdonságokra és megállapítottuk, hogy az őrlés jelentős változásokat okoz a szálasanyagban²³⁶. A nyers fermentumok extrakcióját elsősorban a részecskeméret csökkenése, a vízgőzszorpciós kapacitás növekedése, valamint oxigénben gazdag új felületek kialakulása befolyásolhatja kedvezően. A őrlés megbontja a nyers, szárított fermentumok tömör szerkezetét (55.b ábra), jelentősen javítva a hozzáférhetőségét a pufferoldat számára. Az őrlésnek köszönhetően, a kontroll (nem őrlött fermentum) extrakcióhoz képest, jelentősen nő a celluláz (1,5 FPU/g → 5,2 FPU/g) és a LiP aktivitás (58 IU/g → 92 IU/g) már 15 perces extrakciót követően is (58. ábra). Még hatékonyabb a nyers enzimek kinyerése, ha az őrlött fermentumok extrakcióját ultrahangos térben végezzük. A szilárd fermentumok bontása tehát őrléssel valósult meg, a szabaddá váló rostok elemi szálakra bontását és az enzimek oldatba vitelét pedig a kavitáció segítette^{219,18,220}.



57. ábra. Az ultrahang amplitúdójának és a kezelés időtartamának a hatása a nyers enzimek kinyerésére a szilárd fázisú fermentumokból (*A. oryzae* NRRL 3485); (a) Szűrőpapír lebontó aktivitás; (b) Lignin-peroxidáz aktivitás²⁴⁰

Szénforrás: lenrost; Kontroll: rázótermosztátban végzett extrakció.

Az extrakció hatékonysága az extrakciós lépések számával is növelhető. Háromlépéses szilárd-folyadék extrakciót végeztünk 60 %-os amplitúdón. Az enzimaktivitást minden extrakciós lépést követően mértük, majd az extraktumok egyesítésével a végső enzimaktivitást is meghatároztuk (26. táblázat). Az extrakciós lépések számát háromra növelve, a kontroll kísérletekben az FPA 4,4 FPU/g-ról 5,3 FPU/g-ra, a LiP aktivitás pedig közel a kétszeresére nőtt. Az ultrahang alkalmazása további javulást eredményezett az enzimkinyerésben. Az egylépéses, ultrahangot nem alkalmazó extrakcióhoz képest az FPA 2,3-szorosára, a LiP aktivitás pedig kétszeresére nőtt a nyers enzimoldatban.



58. ábra. A nyers fermentum (*A. oryzae* NRRL 3485) őrlésének hatása az enzimkinyerés hatékonyságára ultrahanggal vagy anélkül. (a) A szűrőpapír lebontó és (b) a lignin-peroxidáz aktivitás az extrakció időtartamának a függvényében²⁴⁰

Szénforrás: lenrost; Kontroll: rázótermosztátban végzett extrakció.

A cellulázok kb. 80 %-a már az első extrakciós lépés során oldatba vihető. A lignin-peroxidáz enzim extrakciója viszont lassú és mindhárom extrakciós lépésben jelentős a LiP kinyerése (59. ábra). Az enzim-extrakciós kísérletek eredményeit a 27. táblázatban összesítettük.

26. táblázat. Az SSF-ben termelt nyers fermentum (*A. oryzae* NRRL 3485) egy- és többlépéses extrakciója ultrahanggal vagy anélkül. A nyers enzimoldat aktivitás értékei (FPA, LiP)^{a,240}

Enzimaktivitás	Egylépéses extrakció		Három-lépéses extrakció	
	kontroll ^b	UH ^c	kontroll ^b	UH ^c
FPA (FPU/g)	4,4	6,5	5,3	10,2
LiP (IU/g)	67,7	131,2	122,8	138,1

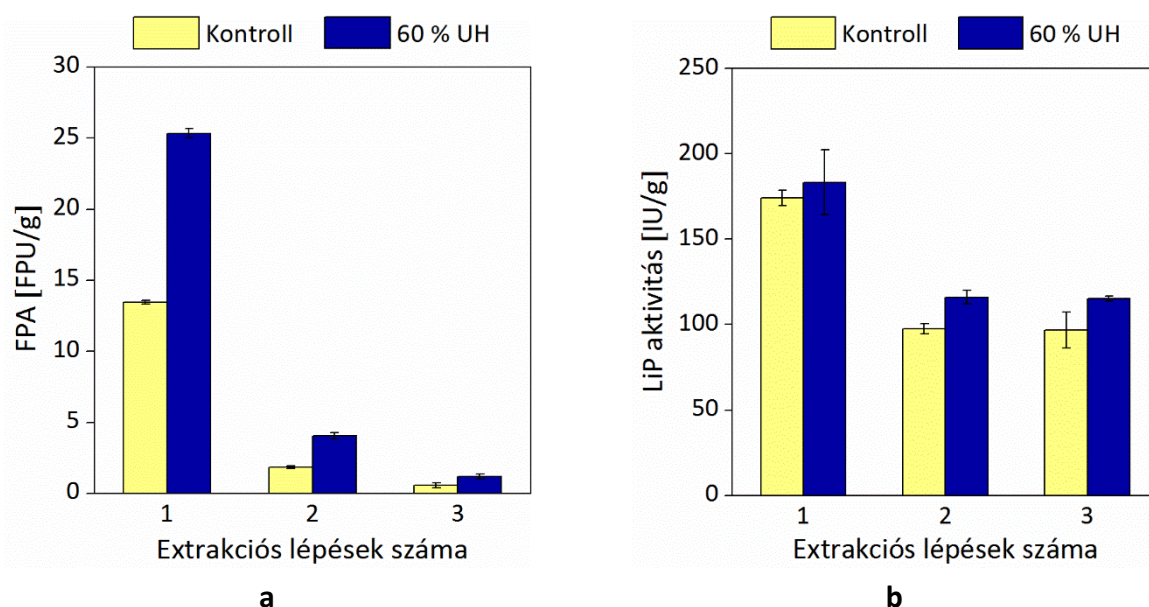
^a Szénforrás: lenrost;

^b Kontroll: mágnesesen kevertetett;

^c Ultrahang: 60 %-os amplitúdó.

Összefoglalva tehát elmondható, hogy elsőként bizonyítottuk a kisfrekvenciás ultrahang kedvező hatását az SSF-fel termelt enzimek kinyerésében. Az ultrahanggal segített extrakció során jelentősen nőtt a nyers enzimoldatok FPA, LiP és Lac aktivitása. Az ultrahang intenzitásának a növelésével általában fokozódott az extrakció, ami a mikrojet hatás révén a szilárd felszínre irányuló, illetve annak közelében kialakuló intenzív mikroáramlásoknak, valamint a részecskeméret csökkenésének köszönhető. Mindezek eredményeképpen a lenrost

felületén és belső pórusaiban megkötődött extracelluláris enzimek is kinyerhetők voltak az extrakció során és mérhetővé váltak a pufferoldatban. A kísérletek megerősítették az ultrahangnak az SSF-ben termelt nyers enzimek LiP aktivitására kifejtett – és korábban tárgyalt – negatív hatását is.



59. ábra. A nyers enzimdát (a) FPA és (b) LiP aktivitása az *A. oryzae*-vel SSF-ben termelt nyers fermentumok extrakciós lépései után, ultrahanggal segítve vagy anélkül²⁴⁰

Szénforrás: lenrost; Kontroll: rázótermosztátban végzett extrakció.

27. táblázat. Az FPA és LiP aktivitás az SSF-ben termelt fermentumok ultrahanggal segített egy- és többlépéses extrakciója során, 60 perces extrakciót követően^{a,239,240}

Törzs	Órlés	Extrakciós lépések száma	Kontroll	Ultrahang amplitúdója (%)		
				40	60	80
				FPA (FPU/g)		
<i>T. virens</i>	-	1	4,5	7,7	13,3	15,3
<i>A. oryzae</i>	-	1	4,4	5,8	6,5	9,3
	-	3	5,3	-	10,2	-
	+	1	3,6 (4,5)	-	9,9 (10,6)	-
LiP aktivitás (IU/g)						
<i>T. virens</i>	-	1	102,7	132,2	176,3 (186,5)	177,9 (252,1)
<i>A. oryzae</i>	-	1	67,7	97,3 (112,3)	131,2 (140,3)	108,6
	-	3	122,8	-	138,1	-
	+	1	97,8	-	147,8 (159,7)	-

^a A zárójelben a 0-60 perc időintervallumban mért maximális enzimaktivitás értékek vannak feltüntetve.

Megállapítottuk továbbá, hogy javítja a hozamot az SSF minták őrlése, valamint az extrakciós lépések számának a növelése. Az őrlés megbontja a zárt és a folyadék számára nehezen átjárható szilárd fermentumot és növeli a pufferoldat számára hozzáférhető felületet. Az ultrahang az őrlött SSF minták fibrillálódását (len esetén az elemi szálakra bontását) idézi elő, ami segíti a pufferoldat bejutását a pórusokba, és kedvez a belső felületeken rögzített enzimek oldatba jutásának. Három-lépéses ultrahanggal segített extrakcióval a szűrőpapír lebontó aktivitás 2,3-szorosára, a lignin-peroxidáz aktivitás pedig kétszeresére nőtt az egylépéses nem ultrahangozott extrakcióhoz képest. Az eredmények a kisfrekvenciás ultrahang egy új és rendkívül ígéretes alkalmazását bizonyítják.

5.5.3 A kisfrekvenciás ultrahang alkalmazása a kristályos nanocellulóz kinyerése és felhasználása során^{241,245} [T14]

Fehérített pamutból és lenből kontrollált kénsavas hidrolízissel, jó hozammal (kb. 40 %) állítottunk elő CNC-t. A tű alakú cellulóz nanokristályok a vizes szuszpenzióban (egymással párhuzamosan rendeződve) nagyméretű aggregátumokat képeznek, ahogy ezt a lézerdiffrakciós részecskeméret analízis adatok is bizonyítják (28. táblázat). A kisfrekvenciás ultrahang egyrészt a savas hidrolízist követően a nanorészecskék szabaddá válását, másrészt a nanorészecskék aggregátumainak a bontását segíti elő. Az ultrahangos kezelés időtartamát növelve az átlagos részecskeméret a vizsgált időintervallumban pamut-CNC esetén 14,7 μm -ról 2,2 μm -re csökken. A kezdetben szimmetrikus eloszlásgörbék (0 és 1 perc) alakja megváltozik, és a kis mérettartomány felé elnyúló görbék az ultrahang dezintegráló hatását jelzik (2, 5 és 10 perc) (60.a ábra). A szuszpenzió homályosságának a csökkenése (98,4 $\rightarrow$ 52,8 %) az ultrahangos kezelés időtartamának a növelésével, szintén a részecskeméret csökkenésével magyarázható (28. táblázat). Bár az adatok mikroméretű részecskék jelenlétét jelzik, a TEM felvételeken nanoméretű, tű-szerű részecskék láthatók (61.a ábra). Számos TEM felvétel képanalízise alapján megállapítottuk, hogy az egyedi nanokristályok hossza a pamutból előállított CNC esetén $68,5 \pm 5$ nm, a rá merőleges mérete pedig 8 ± 0 nm. A len-CNC esetén a megfelelő értékek: $57,5 \pm 5$ nm és 6 ± 0 nm²⁴⁵.

A homogén, tejszerű vizes szuszpenzió stabilitása a nanokristályok felületén kialakuló negatív töltésű szulfát-észter csoportoknak köszönhető^{2,5}. A pamut- és len-CNC vizes szuszpenziójának a zéta potenciálja negatív (kb. -35 mV). A nanokristályok kén-tartalma kismértékben különbözik és ezt alapul véve megállapítható, hogy a len-CNC-n a felületi szulfát-észter csoportok mennyisége kisebb (0,52 %), mint a pamut-CNC-n (0,62 %). Ez magyarázhatja a len-CNC részecskék nagyobb aggregációs hajlamát a vizes szuszpenzióban²⁴⁵.

A pamut-CNC szuszpenziót ultrahangozva bizonyítottuk, hogy míg a nem ultrahangozott szuszpenzióból öntött film opálos és a homályossága 73,3 %, addig a 10 perces ultra-

hangozás után tiszta, átlátszó, és 22,2 %-os homályosság értékkel jellemezhető film nyerhető (28. táblázat). Már a rövid, 1 perces ultrahangozás is jelentősen csökkenti a homályosságot, ami a részecskék aggregátumainak a megbontására utal. A CNC-filmeknek kiváló a szakítószilárdsága és kicsi a nyúlása. A szakítószilárdságot is befolyásolja a szuszpenzió ultrahangozása (60.b ábra). Legkisebb szakítószilárdsága a nem ultrahangozott szuszpenzióból öntött filmnek van (20,9 MPa), ami a szuszpenzió inhomogenitására és a nagy aggregátumok jelenlétére vezethető vissza. Legnagyobb szakítószilárdságot (32,9 MPa) a 10 perces ultrahangozás után kapott filmnél mértünk²⁴¹. A CNC filmek szerkezetére jellemző a nanokristályok irányított rendeződése (61.b ábra)²⁴⁵. Mások is beszámoltak arról, hogy az ultrahang segíti a cellulóz fibrillás szerkezetének a bontását és javítja például a heterogén fázisú kémiai reakció (keresztökötés) eredményességét. Az ultrahang tehát végső soron a termék tulajdonságainak a módosulását eredményezi²²¹.

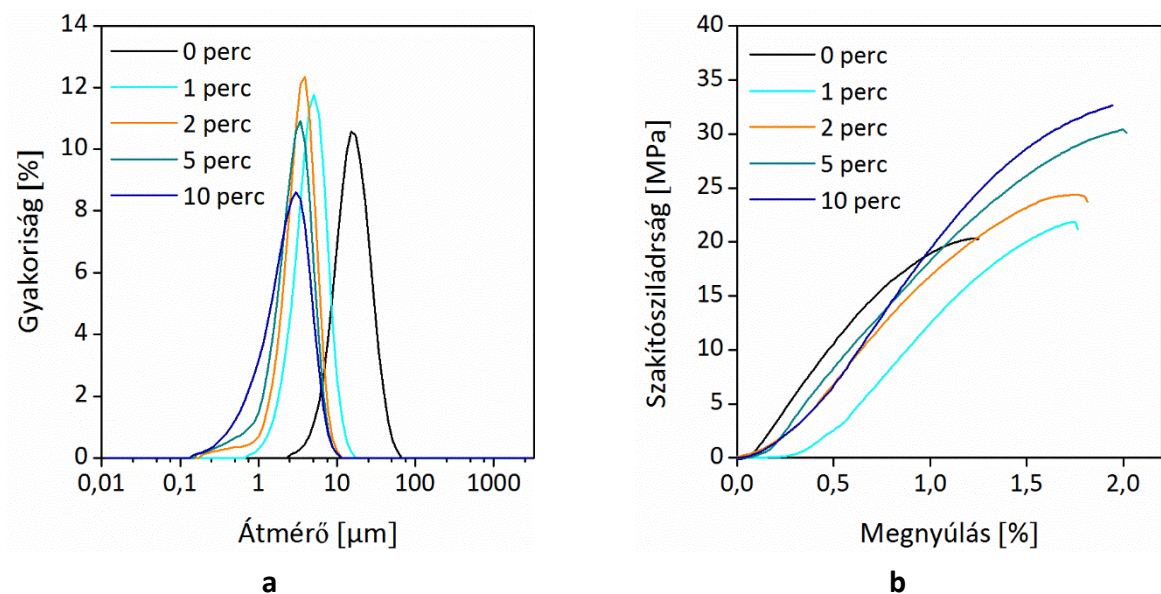
28. táblázat. Az ultrahangos kezelés (20 kHz, 60 % amplitúdó) időtartamának hatása a pamut-CNC részecskeméretére, a szuszpenzió homályosságára, valamint az ultrahangozott szuszpenzióból öntött CNC-filmek homályosságára²⁴¹

Vizsgált jellemző – anyag	Ultrahangos kezelés időtartama (perc)				
	0	1	2	5	10
Homályosság ^a – szuszpenzió (%)	98,4 ± 1,2	75,3 ± 0,8	69,1 ± 0,8	60,5 ± 0,7	52,8 ± 0,5
Részecskeméret ^b – CNC (µm)	14,7	4,3	3,1	2,7	2,2
Homályosság – film (%)	73,3 ± 0,1	28,9 ± 1,5	26,6 ± 1,6	26,2 ± 1,6	22,2 ± 0,7

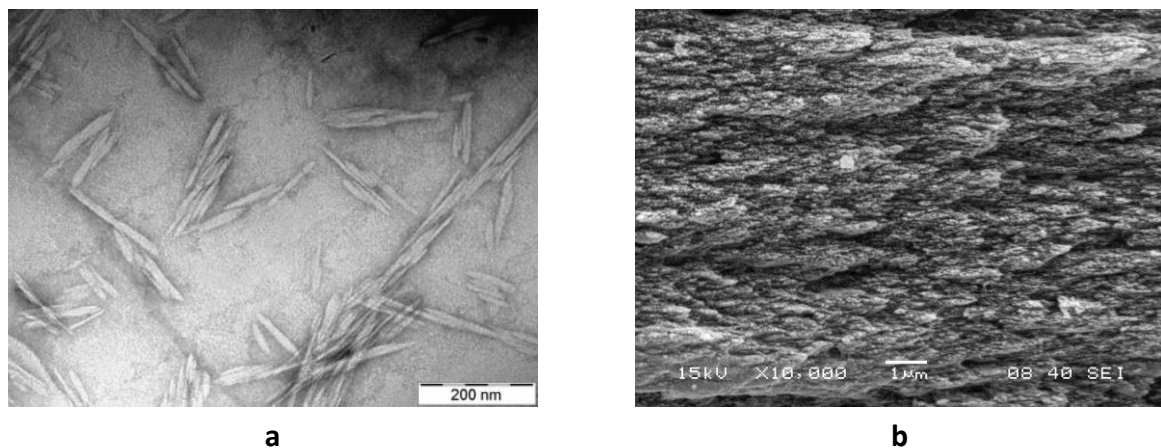
^a 0,5 %-os szuszpenzió;

^b Lézerdiffrakciós részecskeméret analízis; (D_{v50}): a részecskék 50 %-a az adott méretnél kisebb átmérőjű.

Összefoglalva megállapítható, hogy a kisméretű ultrahangnak fontos szerepe van a nanokristályos cellulóz előállítása során, és befolyásolja a CNC-szuszpensióból készült vékony filmek tulajdonságait. A kavitáció elősegíti a savas hidrolízist követően a nanorészecskék kinyerését, és hozzájárul a CNC aggregátumok egyedi részecskékre bontásához. A cellulóz nanokristályokból kiváló szakítószilárdságú, merev és átlátszó filmek készíthetők. A kevésbé aggregálódott CNC-szuszpensiókból öntéssel előállított filmeknek jobb a mechanikai és optikai tulajdonságai. A kutatás folytatásában tisztáztuk a poli-hidroxi vegyületek (lágysítók)²⁴⁵ és keresztökötő ágens²⁴⁶ hatását is a CNC filmek tulajdonságaira, és sikeresen állítottunk elő nanokristályos cellulózt színes hulladék textíliából.



60. ábra. (a) A különböző ideig ultrahangozott (20 kHz; 60 %) pamut-CNC szuszpenziók részecskeméret eloszlása; (b) Az ultrahangozott szuszpenziókból készült filmek jellemző szakítószilárdság-megnyúlás görbéi²⁴¹



61. ábra. (a) A fehérített pamutból nyert cellulóz nanokristályok TEM felvétele ($M: 40000\times$)²⁴¹; (b) A fehérített lenből nyert CNC szuszpenzióból öntéssel készített film tört felületének scanning elektronmikroszkópos képe²⁴⁵
(A CNC szuszpenzió ultrahangozásának időtartama: 10 perc)

6 A KUTATÁSI EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTÁSA

6.1 CELLULÓZ ALAPÚ KÖTÖTT KELMÉK BIOELŐKÉSZÍTÉSÉNEK ÉS BIO-KIKÉSZÍTÉSÉNEK ÜZEMI MEGVALÓSÍTÁSA

2005-ben és 2006-ban, az *Easton Kft.* telephelyén (Hódmezővásárhely), a GVOP-AKF-3.1.1.-2004-05-0520/3.0 pályázat keretében, a vállalat legfontosabb termékcsaládjainak [pamut, pamut-len (70/30 %) és pamut-kender (85/15%) kötött kelmék] a bioelőkészítését és biokikészítését üzemesítettük szakaszos technológiában. (Az üzemi megvalósításhoz kapcsolódó kutatómunka eredményeit a dolgozat nem tartalmazza.)

A nagyüzemi bioelőkészítést kereskedelmi forgalomban lévő pektináz enzim és komplexképző együttes alkalmazásával valósítottuk meg. Az enzimes és vegyszeres technológiával előállított végtermékek tulajdonságait összehasonlítva megállapítható, hogy nem különbözik a fehérség, a nedvszívóképesség és a színegyenletesség (29. táblázat), továbbá a színezett minták között a színkülönbség kisebb volt 1-nél. A bioelőkészített kelmének lényegesen nagyobb volt a szakítószilárdsága mind az előkészítés és mind a végkikészítés után, továbbá jobb volt a fogása és az esése, amit a kisebb hajlítási merevség érték bizonyít.

29. táblázat. Enzimes és vegyszeres üzemi technológiával előkészített és színezett pamut kötött kelmék tulajdonságai az előkészítés, valamint a végkikészítés után

Jellemző	Kikészítettség foka	Enzimes	Vegyszeres
Polimerizációs fok csökkenése (%)	Előkészített	17	17,7
	Kikészített	23,2	26,9
Hajlítási merevség (mg·cm)	Nyers	130 (± 11,5)	
	Kikészített	70,5 (± 7,5)	83,3 (± 7,0)
Nedvszívóképesség (s)	Előkészített	< 1	~2
Fehérség (L*)	Előkészített	93,2	93,6
Színegyenletesség (ΔE_{ab}^*)	Előkészített	< 0,5	< 0,5
	Kikészített	< 0,5	< 0,5
Színkülönbség (ΔE_{ab}^*)	Kikészített	< 1	
Relatív szakítóerő (pálca-irány) (N/négyszetmétertömeg)	Nyers	0,99	
	Előkészített	1,66	1,28
	Kikészített	1,61	1,44

A nagyüzemi biokikészítés célja lágy fogású, csökkentett pillingesedési hajlamú kelmék előállítása; színezett kelmék esetén pedig a hamvas kelmefelület és a viseletes hatást

keltő külső kép kialakítása volt. A nagyüzemi biokikészítés hatását két azonos színű, de eltérő kötéstípusú kelme példáján szemléltetjük (30. táblázat). A biokikészítés eredményes volt a szálfelületen megkötődött színezék részleges eltávolításában. A nagyobb színváltozás (ΔE_{ab}^*) együtt járt a színegyenletesség ($\overline{\Delta E_{ab}^*}$) romlásával, ami kedvezett a viseletes hatásra emlékeztető kelmekép kialakításának. A kelme kötéstípusa is befolyásolta a biokikészítéssel elérhető hatást. Az alkalmazott enzimes kezelés nem rontotta számottevően a szakítószilárdságot. Az enzimes kikészítést követően a kelmék merevsége (G) és esésése (D) kisebb volt, mint a nem enzimezett terméké.

A bevezetésre került biokikészítési technológia sikerességét jelzi, hogy az Easton Kft. a konfekcionálásra kerülő termékeinek jelentős hányadánál alkalmazta az enzimes fakítást. 2007-ben a vállalat árbevételének 71,6 %-a enzimmel kezelt (bioelőkészítés és/vagy biokikészítés) kelme értékesítéséből származott.

30. táblázat. Különböző kötéstípusú színezett pamut kötött kelmék jellemzői a nagyüzemi biokikészítést követően

Kötéstípus	ΔE_{ab}^*	$\overline{\Delta E_{ab}^*}$	Maradó szakítóerő (%) ^a	ΔG (%) ^{b,c}	ΔD (%) ^b
Egyszínoldalas	5,7 ± 0,9	2,7 ± 1,0	96	9 (399)	22
Gyöngy	1,9 ± 0,8	0,5 ± 0,2	100	6 (151)	2

^a Pálcairány. A kiindulási nem enzimezett kelméhez viszonyítva;

^b A kiindulási nem enzimezett kelméhez viszonyítva;

^c Zárójelben: a végkelme hajlítási merevség értéke (mg·cm).

6.2 LEN- ÉS LEN-TARTALMÚ SZÖVETEK NAGYÜZEMI BIOKIKÉSZÍTÉSE

Az 5.2. fejezetben ismertetett kutatómunkához kapcsolódóan (az OMFB ALK-00239/98 pályázat keretében), 2001-ben kidolgoztunk egy kombinált végkikészítési technológiát len- és len-tartalmú szövetek nagyüzemi lágyítására, amely egy enzimes kezelést is magában foglalt. Az enzimes technológia hozzájárult a szövetek esésének és fogásának a javításához, valamint nagymértékben módosította a szövetszint. A Pannon-Flax Győri Len-szövő Rt. a technológiát 2013-ig folyamatosan alkalmazta a termékei lágyítására.

A bioelőkészítés, valamint a különböző biokikészítési technológiák üzemesítését bemutató plenáris előadás (128. oldal, 8. előadás: Csiszár, 2009) a FAO/Scorena: Week of the Natural Fibers konferencián megkapta a "The Best Innovation in the Field" – Díjat.

7 ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt időszakban az ún. fehér biotechnológia térhódítása, vagyis a hagyományos technológiák biotechnológiai úton történő megvalósítása figyelhető meg számos iparágban. A kilencvenes évek közepén a textilkikészítésben is hasonló változásokat indított el a környezetbarát technológiák és az új tulajdonságú termékek iránt megnövekedett társadalmi és fogyasztói igény. Ettől az időszaktól beszélhetünk textil biotechnológiáról. Ez volt a fő kutatási területünk az elmúlt időszakban. Főként a cellulóz alapú szálanyagok enzimkatalizált folyamatait vizsgáltuk, és kezdetben olyan alapvető kérdésekre kerestük a választ, hogy milyen aktivitású enzimekkel módosíthatók a feldolgozás és felhasználás szempontjából fontos száltulajdonságok. Később az enzimes folyamatok hatékonyságának a növelésére kisfrekvenciás ultrahangos besugárzást, továbbá atmoszférikus hidegplazma előkezelést alkalmaztunk. A kutatási eredményeinket sikeresen bevezetett üzemi technológiák is megerősítették.

Kutatómunkánkban elsősorban a bioelőkészítésre és a biofehérítésre koncentráltunk, és célunk volt a természetes kísérőanyagok enzimkatalizált degradációja és eltávolítása révén jó nedvszívóképességű és megfelelő fehérségű szálanyag előállítása. Bizonyítottuk, hogy a xilanáz enzimek hatékonyak a bioelőkészítésben. Az elemi szál legkülső részének vázát egy cellulózból, hemicellulózokból és pektinekből felépülő hálós szerkezet képezi, amit egy amorf és változatos összetételű viaszos mátrix vesz körül. A polimer alkotók enzimkatalizált degradációja és eltávolítása a viaszos anyagok eltávolítását eredményezi a szálfelületről. Mivel a hemicellulózok döntően xilánok, a szakirodalomban javasolt celluláz és pektináz enzimeken kívül a xilanázokkal is jól nedvesedő szálfelület nyerhető. A pamutmaghéjban is a xilánok a legfontosabb hemicellulóz alkotók. A xilanázok egyrészt közvetlenül a xilán enzimkatalizált degradációja révén segítik a maghéjdegradációt, másrészt közvetett módon hatnak, és a lignin-szénhidrát komplex megbontásával lehetővé teszik a lignin kioldódását az enzimes kezelés után alkalmazott vegyszeres folyamatokban. A lignin eltávolítását a visszamaradó maghéj fragmentumok világosodása is bizonyítja. A folyamat hasonló a papíriparban alkalmazott xilanázos biofehérítéshez.

Hidrofil szálfelületet kapunk a pektin enzimes degradációja révén is. A folyamatot részletesen vizsgálva megállapítottuk, hogy a savas pektin molekulák között keresztkötést létesítő kalcium-ionok komplexbe vitele (például EDTA-val) egy nyitottabb és az enzim számára hozzáférhetőbb szerkezetet eredményez. Az enzim-EDTA-szubsztrát rendszerben, az enzim és az EDTA szinergizmusa révén, az enzimkatalizált reakció is és a fémion-extrakció is eredményesebb. Feltételezésünk szerint a kalcium-ionok komplexálása révén kialakuló nyitott szerkezet a lenben is és a pamutmaghéjban is elősegíti az enzimek hozzáférhetőségét a szerkezeti polimerekhez, azaz a pektinhez, a xilánhoz és a cellulózhoz, és fokozza azok deg-

radációját. Az eredmények azt is bizonyították, hogy a lignocellulózok (mint például a nyers len és a pamutmaghéj) egyes polimer alkotóinak a módosítása a többi polimer hozzáférhetőségét és reakcióképességét is módosítja. Bizonyítottuk azt is, hogy az EDTA nem módosítja a vizsgált ipari pektináz és xilanáz enzimek aktivitását.

A kétezres évek elejére nyilvánvalóvá vált, hogy a maghéjak nem megfelelő eltávolítása gátolja a bioelőkészítés széleskörű elterjedését. A bioelőkészítés során alkalmazott hidrolitikus enzimekkel ugyanis a pamutmaghéj lignin-holocellulóz rendszere csak részlegesen bontható. A lignin degradációja oxidatív enzimekkel katalizálható. Egy egyedülálló megoldást alkalmaztunk: szilárd fázisú fermentációval állítottunk elő enzimeket pamutmaghéj hulladékon, mint szénforráson, hogy elősegítsük szubsztrát-specifikus enzimkomplex indukálódását, és ezáltal a pamut bioelőkészítésében eredményes lignin-bontó enzimek előállítását. A kiválasztott törzsek hidrolitikus (celluláz, xilanáz, pektináz) enzimeket, továbbá lakkázt és lignin-peroxidázt termeltek. Az így nyert nyers enzimmoldattal és magával a szilárd fermentummal végezve a bioelőkészítést, a szöveten lévő maghéjak mennyisége (terület és/vagy darabszám) a kiindulási érték 60 %-ára csökkent, ami megegyezik a hagyományos lúgos főzéssel elérhető maghéjdegradáció mértékével. A nyers hidrolitikus és oxidatív enzimek a len lignin-tartalmú kísérőanyagainak az eltávolításában is hatékonyak bizonyultak.

A szál legkülső rétegében lévő nem-cellulóz kísérőanyagok eltávolítása révén módosultak a szálanyagok felületi és tömbi tulajdonságai. Megváltozott a felület kémiai összetétele, csökkent a pamut hidrofób jellege, ami a felületi energia, és ezáltal a felületi szabadenergia diszperziós komponensének (γ_s^d) a növekedését okozta. A szálban visszamaradó pektin mennyisége, valamint az inverz gázkromatográfiával nyert eredményeink azt bizonyították, hogy a szálfelület egy részét a pektináz enzim kezelését követően is viasz borítja. A viasz eltávolítása tehát csak részleges, de a mértéke elegendő ahhoz, hogy szálfelület jól nedvesedő legyen a kezelést követően. A színes kísérőanyagok eltávolítása is részleges, és emiatt a bioelőkészített szövet fehérsége nem éri el a lúgos főzöttét. Enyhe hidrogén-peroxidos fehérítéssel azonban a különböző módon előkészített szövetek közötti színekülönbség jelentősen csökkenthető. Az enzimmel kezelt szövet fehéríthetősége ugyanis jobb, mint a hagyományosan főzött szöveté, ami az enzim kezelés során kialakuló nyitott szálszerkezettel és a hidrogén-peroxid jobb hozzáférhetőségével magyarázható. A bioelőkészítés kisebb kísérőanyag eltávolítással eredményezett megfelelő tisztítást és nem okozott számottevő cellulóz degradációt és szakítószilárdság romlást.

A bioelőkészített pamutszövetek – oxidációs fehérítés közbeiktatása nélkül – színezhetők reaktív színezékekkel. Az enzimmel és vegyszeresen előkészített, majd színezett szövetek között a színekülönbség, kis színezék koncentrációk esetén, az előkészített szövetek

között meglévő színekülönbséggel arányos. Nagyobb színezék koncentrációknál, vagy enyhe hidrogén-peroxidos fehérités beiktatását követően azonban szabad szemmel már nem érzékelhető a színekülönbség a színezett szövetek között.

Enzimkatalizált folyamatokkal a felhasználó számára fontos végső szál tulajdonságok is módosíthatók. Kutatómunkánkban a len és len-tartalmú szövetek lágyítására egy enzimes kezelést is magában foglaló kombinált – enzimes, vegyszeres és mechanikai – folyamatot alkalmaztunk. Megállapítottuk, hogy az intenzív mechanikai hatással együtt alkalmazott celluláz-hemicelluláz enzimes kezelés javítja a szövet esését és fogását, és jelentősen módosítja a szövetszínét. Az is nyilvánvalóvá vált, hogy a kombinált folyamatban a lenrost kevésbé rugalmas fás alkotói kitörnek, a rostfelület fibrillálódásából származó elemi szálak pedig letörnek, jelentős tömegvesztést, továbbá a gyakorlatban még elfogadható mértékű szakítószilárdság romlást okozva. Kutatási eredményeink hozzájárultak egy új – és hosszú ideig sikeresen alkalmazott – ipari technológia kifejlesztéséhez.

Az elmúlt években végzett kutatásaink bizonyították, hogy a heterogén fázisú enzimkatalizált folyamatok eredményesebbek kisméretű ultrahangos besugárzás alkalmazásával. A szilárd felszín közelében szétropanó kavitációs buborékok extrém körülményeket teremtenek az enzimidatban, amelyek az enzimre is és a szubsztrátumra is hatnak, a folyadékfázisban pedig intenzív áramlásokat keltenek. Mindezek együttesen befolyásolják a heterogén fázisú enzimkatalizált folyamatok lejátszódását. Megvizsgáltuk az 'ultrahang-enzim' kölcsönhatást, és bizonyítottuk, hogy az ipari celluláz enzim szűrőpapír lebontó aktivitása akár 25 %-kal is csökkenhet az ultrahangos besugárzás intenzitásától függően. Sokkal ellenállóbbnak bizonyultak az ultrahangos besugárzással szemben az SSF-fel előállított enzimek. Az ultrahang a szilárd szubsztrátumra is hat és már rövid ultrahangos besugárzás is jelentősen csökkenti a részecskeméretet; a lenporét nagyobb mértékben, mint a pamutporét, ami elsősorban a lenrost dezintegrálódásának a következménye. Az ultrahanggal segített biokikészítés során nő a termékképződés sebessége, a bioelőkészítés során pedig fokozódik a természetes kísérőanyagok eltávolítása.

Atmoszférikus hidegplazma előkezeléssel is jelentősen befolyásolhatók a heterogén fázisú enzimes folyamatok, mivel a plazma módosítja a cellulóz alapú szálanyagok felületi tulajdonságait. Hat a nyers pamutszövet vetülék fonalait alkotó elemi szálak legkülső, viaszban és más nem-cellulóz kísérőanyagokban gazdag rétegére, valamint a láncfonalak felületén lévő keményítő irányagra. Megváltoztatja az eloszlásukat a szálfelületen, degradálja azokat és hozzájárul a részleges eltávolításukhoz. Az alkalmazott hidegplazma teljesítményétől és a kezelés időtartamától függően a szálfelület hidrofilitása jelentősen javul. Bizonyítottuk, hogy a szálfelületet borító viaszréteg eltávolítása vagy elvékonyítása következtében a

felület polimer alkotói (pektinek, cellulóz) detektálhatóvá válnak. Celluláz enzim reakcióval pedig azt bizonyítottuk, hogy a nyers pamut felületének eróziója megnöveli a felület cellulóz alkotóinak a hozzáférhetőségét az enzimek számára, és elősegíti az enzim-szubsztrát kölcsönhatás létrejöttét, ami előfeltétele az enzimkatalizált reakciónak. A plazmakezelés az enzim irtelenítést is befolyásolja. Egyrészt növeli a szövetfelület hidrofilitását, javítja a nedvesedőképességet, és ezáltal növeli a keményítő iranyag hozzáférhetőségét az enzim számára. Másrészt degradálja és részlegesen eltávolítja a keményítőt. Mindkét hatás hozzájárul az enzim irtelenítés időtartamának a jelentős csökkentéséhez. Az argon atmoszférában végzett plazmakezelés eredményesebb a nyers lenszövet nedvesedőképességének a javításában, mint a levegő-plazma. Kismértékben hatékonyabb a bioelőkészítés is az argon atmoszférában végrehajtott plazmakezelés után, mint levegő-plazmagáz alkalmazásakor.

Újabban az ultrahangos térben zajló kavitációt a textil biotechnológiától eltérő, de ahhoz kapcsolódó két kutatásban alkalmaztuk, így az eredményeink más területeken is hasznosíthatók lehetnek. A világon elsőként használtuk az ultrahangot a szilárd fázisú fermentációval előállított enzimek kinyerésére és ezzel rámutattunk az ultrahang egy új és ígéretes alkalmazására. Nyers lenroston termelt enzimek extrakcióját vizsgálva bizonyítottuk, hogy a lenrost felületén és belső pórusaiban megkötődött extracelluláris enzimek nagy hatékonysággal vihetők oldatba, és a nyers enzimoldatban – a hagyományos, rázatással végzett extrakcióhoz képest – többszörös enzimaktivitások mérhetők. Bizonyítottuk, hogy a nyers enzimek kinyerése tovább javítható a szilárd fermentumok őrlésével, valamint az extrakciós lépések számának a növelésével.

A kisfrekvenciás ultrahangos kezelésnek fontos szerepe van a nanokristályos cellulóz előállítása és a CNC-szuszpenziók felhasználása során is. A savas hidrolízist követően a nanokristályok a kavitáció révén könnyen elválaszthatók egymástól és kinyerhetők. A kavitáció segíti nanokristályok vizes suszpenziójában kialakuló aggregátumok egyedi nanorészecskékre bontását is, és ezáltal befolyásolja a CNC-szuszpenziókból előállított filmek mechanikai és optikai tulajdonságait.

A szálanyagok felületi és tömbi tulajdonságainak a módosítását célzó enzimkatalizált folyamatokat világszerte intenzíven kutatták az elmúlt években, és mostanra – elsősorban a pamutkikészítésben – több enzimmel végzett folyamat ipari technológiává vált. Mára már kialakult az a biotechnológiai háttér ipar is, amely egy adott feladat megvalósításához optimálisan alkalmazható enzimeket nagy mennyiségben és gazdaságosan képes előállítani. Az új technológiák környezetbarát megoldást kínálnak a végtermékek viselési, használati és esztétikai tulajdonságainak a módosítására. A vevői igényeknek megfelelő speciális tulajdonságok pedig hozzájárulnak a textíliák felhasználási körének a bővítéséhez.

8 TUDOMÁNYOS TÉZISEK

- T1. Elsőként bizonyítottam, hogy a xilanáz enzimek hatékonyak a cellulóz alapú szálanyagok bioelőkészítésében. A xilanázok – hasonlóan a celluláz és pektináz enzimekhez – hidrofil szálfelületet és jó nedvszívóképességű szövetet eredményeznek, amelynek a színegyenletessége kiváló. Bizonyítottam azt is, hogy a xilanázok katalizálják a pamutmagháj lignocellulóz rendszerében a xilánok hidrolitikus bontását és ezáltal elősegítik az enzimes kezelés után alkalmazott vegyszeres folyamatokban a lignin degradációját és eltávolítását. Ez utóbbit a visszamaradó pamutmagháj világosodása is bizonyít.
222, 228
- T2. Elsőként bizonyítottam, hogy a bioelőkészítés hatékonysága jelentősen növelhető az enzimoldathoz adagolt EDTA komplexképzővel. Bizonyítottam azt is, hogy az EDTA – a vizsgált koncentráció tartományban – nem csökkenti a hidrolitikus enzimek domináns (pektináz és xilanáz) aktivitásait. Az EDTA módosítja a szubsztrátum (lenszövet, pamutmagháj) szerkezetét azáltal, hogy eltávolítja a pektin makromolekulák között keresztkötést létesítő kalcium-ionokat. Az enzim és az EDTA szinergizmusa révén az enzim-EDTA-szubsztrátum rendszerben az enzimkatalizált reakció is és a fémion-extrakció is hatékonyabb. Igazoltam, hogy komplexképző alkalmazásakor a pamutmagháj enzimes degradációja, valamint a len bioelőkészítése eredményesebb.
223, 226, 227
- T3. Elsőként bizonyítottam, hogy a szilárd fázisú fermentációval pamutmagháj és lenrost szubsztrátumokon előállított szubsztrát-specifikus, hidrolitikus és oxidatív aktivitással rendelkező enzim-komplexek hatékonyak a pamutmagháj és a len lignin-tartalmú kísérőanyagainak a degradációjában. A nyers enzimoldattal végzett kezelés a szubsztrátumok (pamutmagháj, szövet) jelentős világosodását eredményezi. Ez alapján tehát bizonyítottam azt is, hogy a szilárd fázisú fermentációval termelt enzimek eredményesen alkalmazhatók a kombinált bioelőkészítés-biofehérítés folyamatban. A nyers enzimoldat hidrolitikus enzimjei a hidrofil szálfelület kialakításában, az oxidatív enzimek pedig a biofehérítésben vesznek részt. Igazoltam, hogy a szilárd fázisú fermentációval nyert fermentumok közvetlenül is alkalmazhatók a bioelőkészítésben, és eredményességük felülmúlja az extrakcióval nyert nyers enzimoldatokét.
229, 230, 231
- T4. Megállapítottam, hogy a hagyományos lúgos főzés során a pamutból eltávolított természetes kísérőanyagok mennyisége többszöröse a bioelőkészítéssel eltávolítható mennyiségnek. Anyagtudományi vizsgálatokkal bizonyítottam, hogy a bioelőkészítés során a pektin és a pamutviasz eltávolítása csak részleges, így a szálfelület egy részét a kezelést követően is viasz borítja. Csökken a szálfelület hidrofób jellege, ami a felületi energia és

ezáltal a felületi szabadenergia diszperziós komponensének a növekedését eredményezi. A bioelőkészített pamut felületi szabadenergia értéke csak kismértékben marad el a lúgos főzöttétől és mindkét előkészítési mód jól nedvesedő szövetfelületet eredményez. A nyers pamuthoz képest jelentősebb elektrondonor jelleggel bír a viasz eltávolítását célzó enzimes és vegyszeres előkezelések után visszamaradó hidrophil szálfelület.^{232, 233, 235, 236,}

243

T5. Megállapítottam, hogy a cellulóz alapú szálanyagok színes kísérőanyagainak az eltávolításában a lúgos főzés eredményesebb, mint a bioelőkészítés, így a bioelőkészített szövet fehérsége elmarad a hagyományosan főzött szövet fehérségétől. A lúgos főzés és a bioelőkészítés után a szövetek között mérhető színelkülönbség enyhe hidrogén-peroxidos fehérités hatására jelentősen csökken, vagy eltűnik. Bizonyítottam, hogy a bioelőkészített lencszövet fehéritőképesége jobb, mint a lúgos főzött szöveté. A pektin enzim eltávolítása a szálfelületről és a sejtközi állományból ugyanis a pórusszerkezet változását okozza és az oxidációs fehérités vegyszereivel szemben megnövelt hozzáférhetőségű szálszerkezetet eredményez.^{224, 235}

T6. Bizonyítottam, hogy a bioelőkészített szövetek az enzimes kezelés után, fehérités nélkül színezhettek reaktív színezékekkel. A bioelőkészített és a hagyományosan főzött szövetek között a színezést követően mérhető színelkülönbség a kiindulási szövetek között meglévő színelkülönbség, valamint az alkalmazott színezékkoncentráció függvénye. Kis színezékkoncentrációk esetén a színelkülönbség nagy és szemmel érzékelhető. A bioelőkészítés után alkalmazott enyhe hidrogén-peroxidos fehérités jelentősen csökkenti a bioelőkészített és a hagyományosan főzött szövetek között a színezést követően mérhető színelkülönbséget.²²⁴

T7. Bizonyítottam, hogy az enzimes kezelést is magában foglaló kombinált kikészítési technológia részfolyamatai a lencszövet (100 %) tulajdonságait jelentősen módosítják, a lenczetartalmú (pamut/lenc és lenc-poliészter) szövetekre pedig mérsékelt a hatásuk. Az enzimes kezelés és a magas hőmérsékleten végrehajtott mechanikai kikészítés (törés) egymás utáni alkalmazása eredményes a szövetek esésének és fogásának a javításában, ugyanakkor lencszövet esetén jelentős szakítószilárdság csökkenést okoz. Az enzimes kezelésnek köszönhetően a szövetszín világosabb és kevésbé telített.²²⁵

T8. Elsőként bizonyítottam, hogy a kisfrekvenciás ultrahang az ipari celluláz enzim szűrőpapír lebontó aktivitását csökkenti. Az enzimaktivitás az ultrahangos besugárzás intenzitásának és időtartamának a növelésével arányosan csökken. Reflektor alkalmazása a kisebb intenzitású ultrahangos besugárzás enzimaktivitásra gyakorolt hatását fokozza. Bizonyítottam azt is, hogy a kisfrekvenciás ultrahangos besugárzás lényegesen kisebb mér-

tékben hat a szilárd fázisú fermentációval előállított nyers enzimek aktivitására, mint az ipari cellulázéra. Még az intenzív ultrahangos besugárzás sem módosítja a *T. virens* TUB-F498 törzzsel termeltetett nyers enzimoldat szűrőpapírlebontó, poligalakturonáz, lakkáz és lignin-peroxidáz aktivitását. Ugyanakkor – a besugárzás paramétereitől függő mértékben – csökken az *A. oryzae* NRRL 3485 által termelt nyers enzimkeverék lignin-peroxidáz aktivitása.^{237, 239, 240}

T9. Bizonyítottam, hogy a fehérített pamutcellulóz celluláz enzimes hidrolízise ultrahanggal besugározva – az ultrahang enzimaktivitás-csökkentő hatása ellenére – sokkal eredményesebb, mint a kontrollként szolgáló mágnesesen kevertetett rendszerben. A termékképződés sebessége függ a szubsztrátum formájától (őrölt, darabolt, lapszerű) és az ultrahangos kezelés paramétereitől. Bizonyítottam azt is, hogy a kisfrekvenciás ultrahang a szilárd fázisú fermentációval termelt nyers enzimekkel végzett kombinált bioelőkészítés-biofehérítés folyamat eredményességét is fokozza.^{236, 237, 239, 244}

T10. Elsőként bizonyítottam, hogy az atmoszférikus hidegplazma kezelés, ami a pamut elemi szálak legkülső rétegének az erózióját okozza, növeli a szálfelület polimer alkotóinak (cellulóz, pektin) a hozzáférhetőségét az enzimek számára. A viaszréteg részleges degradációját követően kialakuló, oxigénben gazdag hidrofil felületen a nyers pamut celluláz enzimes hidrolízisének inkubációs periódusa a felére csökken, a végtermék koncentráció pedig többszöröse a kontroll – nem plazmázott – szövetnél mért értéknek. A plazmakezelés hatására bekövetkező felületkémi és -morfológiai változások nem módosítják számottevő mértékben a szálanyag tömbi tulajdonságait.^{234, 238, 242}

T11. Bizonyítottam, hogy a plazmakezelés fokozza a keményítő irányú enzimes degradációját. A plazmakezelésnek köszönhetően az amiláz enzimmel végzett írtelenítés kezdeti szakaszában a keményítő hidrolízise nagy sebességgel megy végbe, az enzimoldat végső redukáló cukor koncentrációja azonban elmarad a nem plazmázott nyers szövet esetén mért értéktől. Ez utóbbi indirekt bizonyítéka annak, hogy a plazmakezelés csökkenti a nyers pamutszövet láncfonalait borító keményítő irányú mennyiségét. Mindkét folyamat hozzájárul a plazmakezelést követően alkalmazott enzimes írtelenítés időtartamának a jelentős csökkentéséhez.²⁴²

T12. Bizonyítottam, hogy a GD-plazma argon atmoszférában eredményesebb a nyers lenszövet nedvesedőképeségének a javításában, mint a levegő-plazma. Kismértékben hatékonyabb a pektináz enzimmel végzett bioelőkészítés is az argon atmoszférában végrehajtott plazmakezelés után, mint levegő plazmagáz alkalmazásakor. A plazmakezelés a szövetszín megváltozását okozhatja. Az elszíneződés a plazmakezelést követően alkalmazott pektináz enzimmel végzett bioelőkészítés hatására megszűnik.²³⁴

- T13. Elsőként bizonyítottam, hogy a kislekvenciás ultrahang, mint új és ígértes "downstream" technika, alkalmas a szilárd fázisú fermentációval előállított nyers enzim kinyerésének a hatékonyabbá tételére. A kislekvenciás ultrahangos besugárzásnak köszönhetően a szilárd fermentumok pufferes extrakciója során a nyers enzimoldat oxidatív és hidrolitikus enzimaktivitása többszörösére növelhető a kontroll extrakcióhoz (rázatott rendszer) viszonyítva. A kislekvenciás ultrahang képes a fermentumok őrlésével már hatékonyabbá tett enzimextrakció, valamint a többlépéses extrakció eredményességének a további fokozására is.^{239, 240}
- T14. Igazoltam, hogy a kislekvenciás ultrahang jelentős szerepet játszik a cellulóz nanokristályok előállítása és a CNC-szuszenziók felhasználása során. A kavitáció elősegíti a savas hidrolízist követően a nanorészecskék kinyerését, és hozzájárul a CNC aggregátumok egyedi nanorészecskékre bontásához. Bizonyítottam, hogy az ultrahangos besugárzás időtartamának a növelésével csökken a nanokristályok aggregációja, és a kevésbé aggregálódott nanorészecskéket tartalmazó szuszenziókból öntéssel és szárítással előállított CNC-filmek szakítószilárdsága és optikai tulajdonságai kedvezőbbek.^{241, 245}

9 IRODALOMJEGYZÉK

- 1 Ek M., Gellerstedt G., Henriksson G. (Eds.) (2009) Pulp and paper chemistry and technology. Vol 1. Wood chemistry and wood biotechnology. Walter de Gruyter GmbH & Co., Berlin.
- 2 Dufresne A. (2012) Nanocellulose. From nature to high performance tailored materials. Walter de Gruyter GmbH., Berlin.
- 3 O'Sullivan AC. (1997) *Cellulose*, 4, 173-207.
- 4 Sakurada I., Nukushina Y., Ito T. (1962) *J. Polym. Sci.*, 57, 651–660.
- 5 Hamad WY., Hu, TQ. (2010) *Can. J. Chem. Eng.*, 88, 392-402.
- 6 Fengel D., Wegener G. (1984) Wood chemistry, ultrastructure, reactions. Walter de Gruyter & Co., Berlin.
- 7 Sjöström E. (1981) Wood chemistry. Fundamentals and applications. Chapter 3. Wood polysaccharides. Academic Press, London.
- 8 Mohnen D. (2008) *Curr. Opin. Plant Biol.*, 11(3), 266-277.
- 9 Thakur BR., Singh RK., Handa AK., Rao, MA. (1997) *Crit. Rev. Food Sci.*, 37(1), 47-73.
- 10 Grant GT., Morris ER., Rees DA., Smith PJC., Thom D. (1973) *FEBS Lett.*, 32, 195-198.
- 11 Hafrén J., Daniel G., Westermarck U. (2000) *IAWA J.*, 21(2), 157-168.
- 12 Losonczi A., Csiszár E. (2003) *Papíripar*, XLVII, 96-100.
- 13 Brown AE., Black DLR. (1985) *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 85, 625–630.
- 14 Sharma HSS. (1986) *Biotechnol. Lett.*, 8, 219–223.
- 15 Henriksson G., Akin DE., Rigsby LL., Patel N., Eriksson K-EL. (1997) *Text. Res. J.*, 67, 829–836.
- 16 Adamsen APS., Akin DE., Rigsby LL. (2002) *Text. Res. J.*, 72(4), 296–302.
- 17 Demarty M., Morvan C., Thellier M. (1984) *Plant Cell Environ.*, 7, 441-448.
- 18 Rusznák I. (1998) Textilkémia I., Tankönyvkiadó, Budapest.
- 19 Ryser U, Holloway PJ. (1985) *Planta*, 163, 151-163.
- 20 Heredia A. (2003) *Biochim. Biophys. Acta*, 1620, 1-7.
- 21 Agrawal PB. (2005) The performance of cutinase and pectinase in cotton scouring. PhD Thesis, University of Twente, the Netherlands.
- 22 Gordon S., Hsieh Y-L. (Eds) (2007) Cotton science and technology. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.
- 23 Guthrie JD. (1955) The chemistry of lint cotton. A Composition. In: Chemistry and chemical technology of cotton. Ed.: Ward K. Intersci. Publ. Inc., NY.
- 24 Haigler CH., Betancur L., Stiff MR., Tuttle JR. (2012) *Front. Plant Sci.*, 3, 1-7.
- 25 Hsieh Y-L. Honik E., Hatzell MM. (1995) *Text. Res. J.*, 65(2), 101-112.
- 26 Etters JN. (1999) *Text. Chem. Color. Am. Dyest. Rep.*, 1, 33-36.
- 27 Basra A. (Ed.) (1999) Cotton fibers. Developmental biology, quality improvement, and textile processing. The Haworth Press, Inc., Binghamton, NY.
- 28 Tripp VW., Moore AT., Rollins ML. (1951) *Text. Res. J.*, 21, 886-894.
- 29 Waterkeyn L. (1985) Light microscopy of the cotton fibre. In: Cotton fibres: Their development and properties. International Institute for Cotton. Manchester, UK.
- 30 Sharma HSS., Van Sumere CF. (Eds.) (1991) The biology and processing of flax. M Publications, Belfast.
- 31 Verschraege L. (1989) Cotton Fibre Impurities. Neps, motes and seed coat fragments. ICAC Review articles on cotton production Research. No.1. CAB International Wallingford, UK.
- 32 ASTM D 2496-80 (1980) Standard test methods for seed coat fragments and funiculi in cotton fiber samples. Annual Book of ASTM Standards.
- 33 Mangialardi GL. Jr., Shepherd JV. (1969) *Text. Res. J.*, 39, 11-14.
- 34 Heber JJ., Boylston EK., Thibodeaux DP. (1988) *Text. Res. J.*, 58, 380-382.
- 35 Koczkané Csiszár E. (1988) Lignin szerepe a pamut lúgos főzésében. Egyetemi Doktori Értekezés. BME, Vegyész-mérnöki Kar, Szerves Kémiai Technológia Tanszék.
- 36 Csiszár E., Rusznák I., Reicher J. (1987) *Melliand Textilberichte*, 6, 411-415.
- 37 Reicher J., Csiszár E. (1992) *Melliand Textilberichte*, 73, 427-430.
- 38 Koczkané Csiszár E. (1998) Natív cellulóz alapú szálasanyagok hatékony előkészítése. Kandidátusi Értekezés. MTA.

- 39 Himmelsbach DS., Akin E., Kim J., Hardin IR. (2003) *Text. Res. J.*, 73(4), 281-288.
- 40 Nierstrasz VA., Cavaco-Paulo A. (Eds.) (2010) *Advances in textile biotechnology*. Woodhead Publishing Ltd., Oxford.
- 41 Yan H., Hua Z., Qiang G., Wang M., Du G., Chen J. (2009). *Cellulose*, 16(6), 1099-1107.
- 42 Bel-Berger P., Hoven T. (1997) *Text. Res. J.*, 67(12), 857-865.
- 43 Sorigina NN., Nijazov HR. (1962) *Izv. Akad. Nauk., SSSR, Otd. Him. N.*, 13, 1121-1224.
- 44 Cavaco-Paulo A., Gübitz GM. (Eds.) (2003) *Textile processing with enzymes*. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.
- 45 Gibson LJ. (2012) *J. R. Soc. Interface*, 9, 2749-2766.
- 46 Akin DE., Condon B., Sohn B., Foulk JA., Dodd RB., Rigsby LL. (2007) *Ind. Crops Prod.*, 25, 036-146.
- 47 Akin DE. (2013) Linen most useful: Perspectives on structure, chemistry and enzymes for retting flax. ISRN Biotechnology, Hindawi Publ. Co., Article ID: 186534.
- 48 Morvan C., Andème-Onzighi C., Girault G. (2003) *Plant Physiol. Biochem.*, 41, 935-944.
- 49 Kleinert TN. (1967) *Holzforschung*, 21(3), 77-81.
- 50 Batra SK. (1998) Other long vegetable fibers. In: *Handbook of fiber chemistry*. 2nd edition. Eds.: Lewin M., Pearce EM. Marcell Dekker Inc., NY..
- 51 Vigo L. (1994) *Textile processing and properties: Preparation, dyeing, finishing and performance*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands.
- 52 Schindler WD., Hauser PJ. (2004) *Chemical finishing of textiles*. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England.
- 53 Greenwood PF. (1987) *JSDC*, 103(10), 342-349.
- 54 Dornyi B., Csiszár E., Somlai P., Sajó I. (2006) *Text. Res. J.*, 76(8), 629-636.
- 55 Dornyi B., Csiszár E., Somlai P. (2007) *J. Nat. Fibers*, 4(4), 41-57.
- 56 Dornyi B. (2010) Folyékony ammóniás kezelés hatása len és len tartalmú szövetek tulajdonságaira, PhD értekezés, BME, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Oláh György Doktori Iskola.
- 57 Csiszár E., Dornyi B., Somlai P., Bors A. (2006) *AATCC Rev.*, 6(7), 44-49.
- 58 Csiszár E., Dornyi B., Somlai P., Sajó I. (2007) Liquid ammonia treatment of linen and cotton/linen fabrics. In: *Textiles for Sustainable Development*. Eds.: Anandjiwala R., Hunter L., Kozłowski R., Zaikov, G. Nova Publishers, New York. 173-179.
- 59 Choudhury RAK. (2006) *Textile preparation and dyeing*. Science Publisher, Enfield, New Hampshire, USA.
- 60 Tomasino C. (1992) *Chemistry and technology of fabric preparation and finishing*. Department of Textile Engineering, North Carolina State University, USA.
- 61 Sójka-Ledakowicz J., Lichawska-Olczyk J., Ledakowicz S., Michniewicz A. (2007) *Fibres Text. East. Eur.*, 15(4), 86-89.
- 62 Patra AK., Madhu A., Chakraborty JN. (2010) *Indian J. Fibre Text.*, 35, 337-341.
- 63 Topalovic T. (2007) *Catalytic bleaching of cotton: Molecular and macroscopic aspects*. PhD Dissertation, University of Twente. The Netherlands.
- 64 Goswami KK., Mukherjee AK. (1993) *Indian J. Fibre Text.*, 18, 82-86.
- 65 Reicher J., (1994) *Cell. Chem. Technol.*, 28, 481-492.
- 66 Reicher J., Csiszár E. (1994) *Cell. Chem. Technol.*, 28, 585-594.
- 67 Rouette HK. (2000) *Encyclopedia of textile finishing*. Springer, Berlin.
- 68 Slater K. (2003) *Environmental impact of textiles. Production, processes and protection*. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England.
- 69 Saxena S., Raja ASM., Arputharaj A. (2017) Challenges in sustainable wet processing of textiles. In *Textiles and clothing sustainability, Sustainable textile chemical processes*, Ed.: Muthu SS. Springer, Singapore, 43-80.
- 70 Kant R. (2012) *Nat. Sci.*, 4(1), 22-26.
- 71 Rossner U. (1993) *Melliand Textilberichte*, 74(2), 144-148.
- 73 Schlaeppli F. (1998) *Text. Chem. Color.*, 30(4), 19-26.
- 74 Thiry MC. (2001) *AATCC Rev.*, 1(8), 14-19.
- 75 Shahid M., Mohammad F., Chen G., Tang R-C, Xing T. (2016) *Green Chem.*, 18, 2265-2281.
- 76 Sevela B. (2011) *Biomérnöki műveletek és folyamatok*. Typotex Kiadó, Budapest.
- 77 Thomas L., Larroche C., Pandey A. (2013) *Biochem. Eng. J.*, 81, 146-161.

- 78 Eriksson K-EL., Cavaco-Paulo A. (Eds.) (1998) Enzyme applications for fiber processing. ACS Symposium Series 687, Washington, DC.
- 79 Karmakar SR. (1999) Chemical technology in the pre-treatment processes of textiles. In: Textile Science and Technology (Vol. 12). Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands.
- 80 Kelly RM., Dijkhuizen L., Leemhuis H. (2009) *J. Biotechnol.*, 140, 184-193.
- 81 Saboury AA., Karbassi F. (2000) *Thermochim. Acta*, 362, 121-129.
- 82 Li Y., Hardin I. (1998) *Text. Chem. Color.*, 30, 23-29.
- 83 Ueda M., Koo H., Wakida T. (1994) *Text. Res. J.*, 64(10), 615-618.
- 84 Achwal WB. (1993) *Colourage*, 11, 23-24.
- 85 Bach E., Schollmeyer E. (1992) *Textilveredlung*, 27(1), 2-6.
- 86 Bach E., Schollmeyer E. (1994) *Textilveredlung*, 29(10), 284-288.
- 87 Li Y., Hardin IR. (1998) *Text. Res. J.* 68(9), 671-679.
- 88 Buschle-Diller G., El Mogahzy Y., Inglesby MK., Zeronian SH. (1998) *Text. Res. J.*, 68(12), 920-929.
- 89 Buchert J., Pere J. Puolakka A., Nousiainen P. (2000) *Text. Chem. Color. Am. Dyest. Rep.*, 32(5), 48-52.
- 90 Durden DK., Etters JN., Sarkar AK., Henderson LA., Hill JE. (2001) *AATCC Rev.*, 8, 28-31.
- 91 Pedrolli DB., Monteiro AC., Gomes E., Carmona EC. (2009) *Open Biotechnol. J.*, 3, 9-18.
- 92 Shukla R., Sharma U., Kulkarni S. (2000) *Colourage*, 2, 19-24.
- 93 Kobayashi T., Hatada Y., Higaki N., Lusterio D.D., Ozawa T., Koike K., Kawai S., Ito S. (1999) *Biochim. Biophys. Acta.*, 1427, 145-154.
- 94 Sakamoto T., Hours RA., Sakai T. (1994) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 58(2), 353-358.
- 95 Tzanov T., Calafell M., Guebitz GM., Cavaco-Paulo A. (2001) *Enzyme Microb. Technol.*, 29, 357-362.
- 96 Lenting HBM., Zwier E., Nierstrasz VA. (2002) *Text. Res. J.*, 72(9), 825-831.
- 97 Agrawal PB., Nierstrasz VA., Warmoeskerken MMCG. (2008) *Enzyme Microb. Technol.*, 42, 473-482.
- 98 Presa P., Tavcer PF. (2009) *Text. Res. J.*, 79, 76-88.
- 99 Abou-Okeil A., El-Shafie A., El Zawahry MM. (2010) *Ultrason. Sonochem.*, 17, 383-390.
- 100 Bhattacharya SD., Shan JN. (2004) *Text. Res. J.*, 74(7), 622-628.
- 101 Patra AK., Bhaumik S., Kaur H. (2006) *Indian J. Fibre Text.*, 31, 450-459.
- 102 Nikolov A. (2002) Enzymatic solutions for textile industry. 19th IFATCC Congress, október 16-18. Paris.
- 103 Csiszár E., Szakács G., Reicher J. (1996) Alkaline cotton scouring of increased efficiency. 30th International Symposium on Novelties in Textiles, Ljubljana. Proceedings of Posters, Ed.: Rijaved T. University of Ljubljana, 242-243, 1996. június 12-14. Szlovénia.
- 104 Csiszár E., Szakács G., Reicher J., Rusznák I. (1996) Combination of traditional scouring of cotton with cellulase enzyme treatment. The 66th Fiber Society Spring Conference, 1996. május 13-15. Princeton. USA.
- 105 Dhiman SS., Sharma J., Battan B. (2008) *Bioresour.*, 3(4), 1377-1402.
- 106 Garg G., Dhiman SS., Gautam R., Mahajan R., Patra AK., Sharma J. (2013) *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 85-86, 43-48.
- 107 Dhiman SS., Sharma J., Battan B. (2008). *Enzyme Microb. Technol.*, 43, 262-269.
- 108 Viikari L., Kantelinen A., Sundquist J., Linko M. (1994) *FEMS Microbiol. Rev.*, 13, 335-350.
- 109 Carmona EC., Brochetto-Braga MR., Pizzirani-Kleiner AA., Jorge JA. (1998) *FEMS Microbiol. Lett.*, 166, 311-315.
- 110 Spurway TD., Morland C., Coopers A., Sumner I., Hazlewood GP., O'Donnell AG., Pickersgill RW., Gilbert HJ. (1997) *J. Biol. Chem.*, 272(28), 17523-17530.
- 111 Eriksson K-EL., Blanchette RA., Ander P. (1990) Microbial and enzymatic degradation of wood components. Springer-Verlag, Berlin.
- 112 Ruiz-Duenas FJ., Martinez ÁT. (2009) *Microb. Biotechnol.*, 2(2), 164-177.
- 113 Whittaker MM., Kersten, PJ., Nakamura, N., Loehr, JS., Schweizer, ES., Whittaker, JW. (1996) *J. Biol. Chem.*, 271(2), 681-687.
- 114 Dwivedi UN., Singh P., Pandey VP., Kumar A. (2011) *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 68, 117-128.
- 115 Claus H. (2004) *Micron*, 35, 93-96.
- 116 Fujian X., Hongzhang C., Zuohu L. (2001) *Bioresour. Technol.*, 80, 149-151.
- Abdel-Halim ES., Fahmy HM., Fouda MMG. (2008) *Carbohydr. Polym.*, 74, 707-711.
- 117 Ren X., Buschle-Diller G. (2007) *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, 299(1-3), 15-21.
- 118 Sharma A., Thakur VV., Shrivastava A., Jain RK., Mathur RM., Gupta R., Kuhad RC. (2014) *Bioresour.*

- Technol.*, 169, 96-102.
- 119 Barr B., Hsieh Y-L., Ganem B., Wilson D. (1996) *Biochem.*, 35, 586-592.
 - 120 Miettinen-Oinonen A. (2004) *Trichoderma reesei* strains for production of cellulases for the textile industry, PhD Thesis. VTT Publications 550. Espoo, Finland.
 - 121 Nevalainen H., Penttilä M. (1995) Molecular biology of cellulolytic fungi. In: The mycota – genetics and biotechnology. Vol.2, Ed.: Kück U. Springer, Berlin, 369-390.
 - 122 Tyndall M. (1992) *Text. Chem. Color.*, 24, 23-26.
 - 123 Teeri T. (1997) *Tibtech.*, 15, 160-167.
 - 124 Cavaco-Paulo A., Almeida L. (1996) *Text. Res. J.*, 66(5), 287-294.
 - 125 Cavaco-Paulo A. (1998) *Carbohydr. Polym.*, 37, 273-277.
 - 126 Cortez JM., Ellis J., Bishop DP. (2001) *J. Biotechnol.*, 89, 239-245.
 - 127 Cavaco-Paulo A., Almeida L. Bishop D. (1996). *Text. Chem. Color.*, 28(6), 28-32.
 - 128 Lenting HBM., Warmoeskerken MMCG. (2001) *J. Biotechnol.*, 89, 217-226.
 - 129 Asaduzzaman, Miah MR., Hossain F., Li X., Quan H. (2016) *J. Textile Sci. Eng.*, 6(5), 1000274.
 - 130 Bahrum Prang Rocky AMK. (2012) *Int. J. Sci. Eng. Res.*, 3(8).
 - 131 Jegannathan KR., Nielsen PH. (2013) *J. Clean. Prod.*, 42, 228-240.
 - 132 Toprak T., Anis P. (2017) *Cellulose*, 24, 383-394.
 - 133 Opwis K., Knittel D., Schollmeyer E., Dörfler C., Bachu, H., Köppe A., Köppe U. (2006) *Melliand International*, 2(5), 130-135.
 - 134 Moholkar VS., Warmoeskerken MMCG. (2003) *Text. Res. J.*, 73, 827-837.
 - 135 Karaboğa C., Körlü AE., Duran K., Bahtiyari Mİ. (2007) *Fibres Text. East. Eur.*, 15(4), 97-100.
 - 136 Yachmenev VG., Blanchard EJ., Lambert AH. (1999) *Text. Chem. Color. Am. Dyest. Rep.*, 1(1), 47-51.
 - 137 Mason TJ. (1990) Chemistry with ultrasound. Elsevier Applied Science, London.
 - 138 Atchley A., Crum LA. (1988) Acoustic cavitation. In: Ultrasound, its chemical, physical and biological effects. Ed.: Suslick KS. VCH Publisher, New York, 1-63.
 - 139 Török B., Molnár Á. (1996) Kémiai átalakulások mikrohullámú és szonokémiai aktiválással. A kémia újabb eredményei. 82. Akadémiai Kiadó, Budapest.
 - 140 Kumar A., Gogate PR., Pandit AB., Delmas H., Wilhelm AM. (2004) *Ind. Eng. Chem. Res.*, 43, 1812-1819.
 - 141 Suslick KS. (1994) The chemistry of ultrasound. In: The yearbook of science & the future 1994. Encyclopedia Britannica, Chicago, 138-155.
 - 142 Yachmenev VG., Blanchard EJ., Lambert AH. (1998) *AATCC Book of Papers*, 472-481.
 - 143 Yachmenev VG., Bertoinere NR., Blanchard J. (2001) Effect of sonication on cotton preparation with alkaline pectinase, *Text. Res. J.*, 71(6), 527-533.
 - 144 Yachmenev VG., Blanchard EJ., Lambert AH. (2004) *Ultrasonics*, 42, 87-91.
 - 145 Hao L., Wang R., Fang K., Liu J. (2013) *Carbohydr. Polym.*, 96, 474-480.
 - 146 Wang Z., Lin X., Li P., Zhang J., Wang S., Ma H. (2012) *Bioresour. Technol.*, 117, 222-227.
 - 147 Subhedar PB., Gogate PR. (2014) *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 101, 108-114.
 - 148 Guiseppi-Elie A., Choi S-H., Geckeler KE. (2009) *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 58, 118-123.
 - 149 Nadar SS., Rathod VK. (2017) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 181, 1435-1453.
 - 150 Meng H., Li D., Zhu C. (2018) *Int. J. Biol. Macromol.*, 113, 411-417.
 - 151 Tóth A., Csiszár E. (2011) *Magyar Textiltechnika*, LXIV(4), 158-161.
 - 152 Shishoo R. (Ed.), (2007) Plasma technologies for textiles, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.
 - 153 Bhat NV., Netravali AN., Gore AV., Sathianarayanan MP., Arolkar GA., Deshmukh RR. (2011) *Text. Res. J.*, 81, 1014-1026.
 - 154 Nithya E., Radhai R., Rajendran R., Shalini S., Rajendran V., Jayakumar S. (2011) *Carbohydr. Polym.*, 83, 1652-1658.
 - 155 Ibrahim NA., El-Hossamy M., Hashem MM., Refai R., Eid BM. (2008) *Carbohydr. Polym.*, 74, 880-891.
 - 156 Bailey MJ., Nevalainen KMH. (1981) *Enzyme Microb. Technol.*, 3, 153-157.
 - 157 Bailey MJ., Bailey P., Poutanen K. (1992) *J. Biotechnol.*, 23, 257-270.
 - 158 Berghem LER., Pettersson LG. (1974) *Eur. J. Biochem.*, 46, 295-305.
 - 159 Puchart V., Katapodis P., Biely P., Kremnický L., Christakopoulos P., Vrsanská M., Kekos D., Macris BJ., Bhat MK. (1999) *Enzyme Microb. Technol.*, 24, 355-361.
 - 160 Ghose TK. (1987) *Pure Appl. Chem.*, 59, 257-268.

- 161 Papinutti Ć., Diorio LA., Forchiassin ĆF. (2003) *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 30, 157-160.
- 162 Arora DS., Gill PK. (2001) *Enzyme Microb. Technol.*, 28, 602-605.
- 163 de Souza-Cruz PB., Freer J., Siika-Aho M., Ferraz A. (2004) *Enzyme Microb. Technol.*, 34, 228-234.
- 164 Miller GL. (1959) *Anal. Chem.*, 31, 426-428.
- 165 De Boer JJ. (1980) *Text. Res. J.*, 50, 624-631.
- 166 Van Oss CJ., Giese RF., Li Z., Murphy K., Norris J., Chaudbury MK., Good RJ. (1992) *J. Adhes. Sci. Technol.*, 6(4), 413-428.
- 167 Owens DK., Wendt RC. (1969) *J. Appl. Polym. Sci.*, 13, 1741-1747.
- 168 Csiszár E., Szakács G., Rusznák I. (1997) Biocoupling of cotton with cellulase enzyme. ACS Symposium, San Francisco, California, 1997. április 13-17.
- 169 Csiszár E., Szakács G., Rusznák I., Reicher J. (1997) *Magyar Textiltechnika*, 50(1), 39-42.
- 170 Csiszár E., Szakács G., Rusznák I. (1998) *Text. Res. J.*, 68(3), 163-167.
- 171 Kaur A., Singh A., Patra AK., Mahajan R. (2016) *J. Cleaner. Prod.*, 131, 107-111.
- 172 Singh A., Kaur A., Patra AK., Mahajan R. (2018) *3Biotech.*, 8, 184.
- 173 Aty AAAE., Saleh AAA., Eid BM., Ibrahim NA., Mostafa FA. (2018) *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 14, 129-137.
- 174 Dhandapani R. (2013) Evaluation of xylanase and laccase enzymes with microwave treatment, to break down cotton seed coat fragments. PhD Értekezés, University of Georgia, Athens, Georgia, USA.
- 175 Dochia M., Chambre D., Gavrilas S., Moisa C. (2018) *J. Therm. Anal. Calorim.*, 123(3), 1489-1498.
- 176 Eriksson KE., Petterson B. (1975) *Eur. J. Biochem.*, 51, 193-206.
- 177 Leisola MSA., Thanei-Wyss U., Fiechter A. (1985) *J. Biotechnol.*, 3, 97-107.
- 178 Szakacs-Dobozi M., Szakacs G., Bruschi CV. (1992) *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 3466-3471.
- 179 Kapich AN., Prior BA., Botha A., Galkin S., Lundell T., Hattakka A. (2004) *Enzyme Microb. Technol.*, 34, 187-95.
- 180 Christopher L., Bissoon S., Singh S., Szendefy J., Szakacs G. (2005) *Process Biochem.*, 40, 3230-3235.
- 181 Li M., Fang G., Hinks D. (2014) An image-based mote counting method. AATCC Int. Conference, 2014 April 1-3. Asheville, USA, 117-131.
- 182 Li M., Fang G., Xu C., Hinks D. (2016) *AATCC J. Res.*, 3(1), 14-20.
- 183 Liu J., Zhu B., Jiang H., Gao W. (2013) *Fiber. Polym.*, 14(7), 1208-1214.
- 184 Buschle-Diller G., Yang XD., Yamamoto R. (2001) *Text. Res. J.*, 71(5), 388-394.
- 185 Papirer E., Brendle E., Balard H., Vergelati C. (2000) *J. Adhes. Sci. Technol.*, 14, 321-337.
- 186 Rjiba N., Nardin M., Dréan J., Frydrych RA. (2007) *J. Colloid Interface Sci.*, 314, 373-380.
- 187 Cantergiani E., Benczedi D. (2002) *J. Chromatogr.*, 969, 103-110.
- 188 Buschle-Diller G., Inglesby MK., Wu Y. (2005) *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Aspect.*, 260, 63-70.
- 189 Song KH., Obendorf SK. (2006) *Text. Res. J.*, 76(10), 751-756.
- 190 Hsieh Y-L. (1995) Liquid transport in fabric structures, *Text. Res. J.*, 65, 299-307.
- 191 Ismal OE., Ozguney AT., Arabaci A. (2007) *AATCC Rev.*, 7(10), 34-43.
- 192 Choe EK., Nam CW., Kook SR., Chung C., Cavaco-Paulo A. (2004) *Biocat. Biotransfor.*, 22(5/6), 375-382.
- 193 Öner E., Shinbaskan BY. (2011) *J. Clean. Prod.*, 19(14), 1668-1675.
- 194 Özbek B., Ülgen KÖ. (2000) *Process Biochem.*, 35, 1037-1043.
- 195 Gülseren I., Güzey D., Bruce BD., Weiss J. (2007) *Ultrason. Sonochem.*, 14, 173-183.
- 196 Tsikrika K., Chu B-S., Bremner DH., Lemos MA. (2018) *LWT- Food Sci. Technol.*, 89, 591-595.
- 197 Gogate PR., Tayal RK., Pandit AB. (2006) *Curr. Sci.*, 91(1), 35-46.
- 198 Olosz-Szabó OE. (2016) Cellulóz alapú szálanyagok enzimikus folyamatainak hatékonyságnövelése kisfrekvenciás ultrahanggal és hidegplazma előkezeléssel. PhD értekezés. BME.
- 199 Jiang N., Chen JY., Parikh DV. (2009) *Bioresour. Technol.*, 100, 6533-6536.
- 200 Wong KK., Tao XM., Yuen CWM., Yeung KW. (2000) *JSDC*, 116, 208-214.
- 201 Bhushan B. (2001) Surface roughness analysis and measurement techniques. In: Modern tribology handbook. Ed.: Bhushan B. CRC Press LLC, London, Vol I., Chapter 2, 1-71.
- 202 Hari PK., Behera BK., Prakash J., Dhawasn K. (1989) *Text. Res. J.*, 59, 597-600.
- 203 Laine J., Stenius P., Carlsson G., Ström G. (1994) *Cellulose*, 1(2), 145-160.
- 204 Buchert J., Carlsson G., Viikari L., Ström G. (1996) *Holzforschung*, 50, 69-74.
- 205 Li X., Qiu Y. (2012) *Appl. Surf. Sci.*, 258, 7787-7793,
- 206 Calvimontes A., Mauersberger P., Nitschke M., Dutschk V., Simon F. (2011) *Cellulose*, 18, 803-809.

- 207 Lewin M., Epstein JA., Ben-Bassat A., Albeck M. (1965) *Text. Res. J.*, 35, 935-943.
- 208 Zemljic LF., Persin Z., Stenius P. (2009) *Biomacromolecules*, 10, 1181-1187.
- 209 Ibrahim NA., Hashem MM., Eid MA., Refai R., El-Hossamy M., Eid BM. (2010) *J. Text. Inst.*, 101(12), 1035-1049.
- 210 Benerito RR., Ward TL., Soignet DM., Hinojosa O. (1981) *Text. Res. J.*, 51(4), 224-232.
- 211 Wakida T., Takeda K., Tanaka I., Takagishi T. (1989) *Text. Res. J.*, 59(1), 49-53.
- 212 Ikasari L., Mitchell DA. (1996) *Enzym. Microb. Technol.*, 19, 171-175.
- 213 Chandra MS. Reddy BR. Choi Y-L. (2008) *J. Appl. Biol. Chem.*, 51, 155-159
- 214 Sakthiselvan P., Naveena B., Partha N. (2012) *Afr. J. Biotechnol.*, 11, 12067–12077.
- 215 Vargas LHM., Piao ACS., Domingos RN., Carmona EC. (2004) *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 137-142.
- 216 Minor JL. (1994) *Prog. Pap. Recycl.*, 3(2), 93-95.
- 217 Li P-J., Xia J-L., Shan Y., Nie Z-Y. (2015) *Biprocess Biosyst. Eng.*, 38, 2013-2022.
- 218 Salim, A.A., Grbavcic, S., Sekuljica, N., Sekulic, V.M., Jovanovic, J., Tanakovic, S.J., Lukovic, N., Jugovic, Z.K. (2019) Enzyme production by solid-state fermentation on soybean meal: A comparative study of conventional and ultrasound-assisted extraction methods. *Biotechnol. Appl. Biochem.* doi.org/10.1002/bab.1732
- 219 Shirsath SR., Sonawane SH., Gogate PR. (2012) *Chem. Eng. Proc., Proc. Intens.*, 53, 10-23.
- 220 Moholkar VS., Warmoeskernen MMCG. (2004) *AIChE Journal*, 50(1), 58-64.
- 221 Udoetok, I.A., Wilson, L.D., Headley, J.V. (2018) Ultra-sonication assisted cross-linking of cellulose polymers, *Ultrason. Sonochem.*, 42, 567-576.
- 222 Csiszár E., Urbánszki K., Szakács G. (2001) *Journal of Molecular Catalysis, B: Enzymatic*, 11, 1065-1072.
- 223 Csiszár E., Losonczi A., Szakács G., Rusznák I., Bezúr L., Reicher J. (2001) *Journal of Biotechnology*, 89, 271-279.
- 224 Losonczi A., Csiszár E., Szakács G., Kareela O. (2004) *Textile Research Journal*, 74(6), 501-508.
- 225 Csiszár E., Somlai P. (2004) *AATCC Review*, 4(3), 17-21.
- 226 Csiszár E., Losonczi A., Szakács G., Bezúr L., Kustos K. (2004) *Biocatalysis & Biotransformation*, 22(5/6), 369-374.
- 227 Losonczi A., Csiszár E., Szakács G., Bezúr L. (2005) *Textile Research Journal*, 75(5), 411-417.
- 228 Csiszár E., Losonczi A., Koczka B., Szakács G., Pomlénny A. (2006) *Biotechnology Letters*, 28(10), 749-753.
- 229 Csiszár E., Szakács G., Koczka B. (2007) *Enzyme and Microbial Technology*, 40, 1765-1771.
- 230 Csiszár E., Szakács G., Koczka B. (2008) *Biocatalysis & Biotransformation*, 26(5), 422-429.
- 231 Csiszár E. (2008) *Cellulose Chemistry and Technology*, 42(9-10), 577-581.
- 232 Csiszár E., Fekete E. (2010) *Textile Research Journal*, 80(13), 1307–1316.
- 233 Csiszár E., Fekete E. (2011) *Langmuir*, 27, 8444-8450.
- 234 Karaca, B., Csiszár E., Bozdogan F. (2011) *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 31(4), 623-633.
- 235 Csiszár E. (2012) *Textile Research Journal*, 82(19), 2030-2040.
- 236 Csiszár E., Fekete E., Tóth A., Bandi É., Koczka B., Sajó I. (2013) *Carbohydrate Polymers*, 94, 927-933.
- 237 Szabó OE., Csiszár E. (2013) *Carbohydrate Polymers*, 98, 1483-1489.
- 238 Szabó OE., Csiszár E., Tóth A. (2015) *Open Chemistry*, 13, 1-7.
- 239 Szabó OE., Csiszár E., Tóth K., Szakács G., Koczka B. (2015) *Ultrasonics & Sonochemistry*, 22, 249-256.
- 240 Szabó OE., Csiszár E., Koczka B., Kiss K. (2015) *Biomass and Bioenergy*, 75, 161-169.
- 241 Csiszár E., Kalic P., Köböl Á., Ferreira EP. (2016) *Ultrasonics & Sonochemistry*, 31, 473-480.
- 242 Szabó OE., Csiszár E., Koczka B., Tóth A., Klébert Sz. (2016) *Textile Research Journal*, 86(8), 868-877.
- 243 Fekete E., Csiszár E. (2017) *Fibers and Polymers*, 18(7), 1255-1262.
- 244 Szabó OE., Csiszár E. (2017) *Carbohydrate Polymers*, 156, 357-363.
- 245 Csiszár E., Nagy S. (2017) *Carbohydrate Polymers*, 156, 740-749.
- 246 Nagy, S., Csiszár E., Kun, D., Koczka, B. (2018) *Carbohydrate Polymers*, 194, 51–60.
- w1 <https://www.lenzing.com/en/investors/facts-and-figures/factsheet/>
- w2 <https://www.statista.com/statistics/741296/world-fiber-consumption-distribution-by-fiber-type/>
- w3 http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cellulose_strand.svg

10 KÖZLEMÉNYEK *

A DOLGOZAT ANYAGÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

1. Csiszár, E., Urbánszki, K., Szakács, G. (2001) Biotreatment of desized cotton fabrics by commercial cellulase and xylanase enzymes. *Journal of Molecular Catalysis, B: Enzymatic*, 11, 1065-1072.
IF: 1,408;
2. Csiszár, E., Losonczi, A., Szakács, G., Rusznák, I., Bezúr, L., Reicher, J. (2001) Enzymes and chelating agent in cotton pretreatment. *Journal of Biotechnology*, 89, 271-279.
IF: 1,651;
3. Losonczi, A., Csiszár, E., Szakács, G., Kareela, O. (2004) Bleachability and dyeing properties of biopretreated and conventionally scoured cotton fabrics. *Textile Research Journal*, 74(6), 501-508.
IF: 0,54;
4. Csiszár, E., Somlai, P. (2004) Improving softness and hand of linen and linen-containing fabrics with finishing. *AATCC Review*, 4(3), 17-21.
IF: 0,434;
5. Csiszár, E., Losonczi, A., Szakács, G., Bezúr, L., Kustos, K. (2004) Influence of EDTA complexing agent on biopreparation of linen fabric. *Biocatalysis & Biotransformation*, 22(5/6), 369-374.
IF: 1,053;
6. Losonczi, A., Csiszár, E., Szakács, G., Bezúr, L. (2005) Role of the EDTA chelating agent in bioscouring of cotton. *Textile Research Journal*, 75(5), 411-417.
IF: 0,54;
7. Csiszár, E., Losonczi, A., Koczka, B., Szakács, G., Pomlénny, A. (2006) Degradation of lignin-containing materials by xylanase in biopreparation of cotton. *Biotechnology Letters*, 28(10), 749-753.
IF: 1,134;
8. Csiszár, E., Szakács, G., Koczka, B. (2007) Biopreparation of cotton fabrics with enzymes produced by solid-state fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*, 40, 1765-1771.
IF: 1,969;
9. Csiszár, E., Szakács, G., Koczka, B. (2008) Effect of hydrolytic and oxidative enzymes produced by solid-state fermentation on greige linen fabric. *Biocatalysis & Biotransformation*, 26(5), 422-429.
IF: 1,17;

* A textilkémia területén viszonylag kevés nemzetközileg elismert folyóirat van, és ezek közül csak néhánynak van impakt faktora. A tudományterület elfogadottan legjelentősebb folyóirata az elsősorban kutatási eredményeket közlő amerikai *Textile Research Journal*, amelynek az impakt faktora 2017-ben csupán 1,443 volt (2004-ben 0,54). A legjelentősebb, elsősorban technológiai jellegű kutatási eredményeket közlő folyóirat pedig a szintén amerikai *AATCC Review*, amelynek impakt faktora 2017-ben csupán 0,33 volt (2004-ben 0,43).

10. Csiszár, E. (2008) Enzymes in preparatory and finishing processes of cotton and linen fabrics. *Cellulose Chemistry and Technology*, 42(9-10), 577-581.
IF: 0,262;
11. Csiszár, E., Fekete, E. (2010) Characterization of the surface properties of differently scoured cotton by inverse gas chromatography at infinite dilution. *Textile Research Journal*, 80(13), 1307–1316.
IF: 1,102;
12. Csiszár, E., Fekete, E. (2011) Microstructure and surface properties of fibrous and ground cellulosic substrates. *Langmuir*, 27, 8444-8450.
IF: 4,186;
13. Karaca, B., Csiszár, E., Bozdogan, F. (2011) Effects of atmospheric plasma pre-treatments on pectinase efficiency in bioscouring of linen fabrics. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 31(4), 623-633.
IF: 1,798;
14. Csiszár, E. (2012) Surface properties and residual chromophore content of differently pretreated linen fabrics. *Textile Research Journal*, 82(19), 2030-2040.
IF: 1,135;
15. Csiszár, E., Fekete, E., Tóth, A., Bandi, É., Koczka, B., Sajó, I. (2013) Effect of particle size on the surface properties and morphology of ground flax. *Carbohydrate Polymers*, 94, 927-933.
IF: 3,916;
16. Szabó, OE., Csiszár, E. (2013) The effect of low-frequency ultrasound on the activity and efficiency of a commercial cellulase enzyme. *Carbohydrate Polymers*, 98, 1483-1489.
IF: 3,916;
17. Szabó, OE., Csiszár, E., Tóth, A. (2015) Enhancing the surface properties of linen by non-thermal atmospheric air-plasma treatment. *Open Chemistry*, 13, 1-7.
IF: 1,127;
18. Szabó, O.E., Csiszár, E., Tóth, K., Szakács, G., Koczka, B. (2015) Ultrasound-assisted extraction and characterization of hydrolytic and oxidative enzymes produced by solid state fermentation. *Ultrasonics & Sonochemistry*, 22, 249-256.
IF: 4,556;
19. Szabo, OE., Csiszár, E., Koczka, B., Kiss, K. (2015) Ultrasonically assisted single stage and multiple extraction of enzymes produced by *Aspergillus oryzae* on a lignocellulosic substrate with solid-state fermentation. *Biomass and Bioenergy*, 75, 161-169.
IF: 3,249;
20. Csiszar, E., Kalic, P., Köböl, Á., Ferreira, E.P. (2016) The effect of low frequency ultrasound on the production and properties of nanocrystalline cellulose suspensions and films. *Ultrasonics & Sonochemistry*, 31, 473-480.
IF: 4,218;
21. Szabó, OE., Csiszár, E., Koczka, B., Tóth, A., Klébert, Sz. (2016) Enhancing the accessibility of starch size and cellulose to enzymes in raw cotton woven fabric by air-plasma pretreatment. *Textile Research Journal*, 86(8), 868-877.

IF: 1,443;

22. Fekete, E., Csiszár, E. (2017) Characterization of the surface energy of cellulosic fibres in fibrous and ground forms by IGC and contact angle measurements. *Fibers and Polymers*, 18(7), 1255-1262.

IF: 1,353;

23. Szabó, OE., Csiszár, E. (2017) Some factors affecting efficiency of the ultrasound-aided enzymatic hydrolysis of cotton cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 156, 357-363.

IF: 5,158;

24. Csiszár, E., Nagy, S. (2017) A comparative study on cellulose nanocrystals extracted from bleached cotton and flax and used for casting films with glycerol and sorbitol plasticisers. *Carbohydrate Polymers*, 156, 740-749.

IF: 5,158;

A TÉMÁHOZ KAPCSOLÓDÓ MAGYAR NYELVŰ KÖZLEMÉNYEK

1. Csiszár, E., Losonczi, A. Szakács, G. (2000) Biotechnológia alkalmazása a textiliparban. *Magyar Textiltechnika*, LIII, 27-34.
2. Urbánszki, K., Csiszár, E., Szakács, Gy., Klébert, Sz. (2001) Enzimes pamutelőkészítés. Celluláz, pektináz és xilanáz enzimek hatása írtelenített pamutszövetek tulajdonságaira. 1. rész. *Magyar Textiltechnika*, LIV, 35-38.
3. Csiszár, E., Urbánszki, K., Szakács, Gy., Losonczi, A. (2001) Enzimes pamutelőkészítés. Celluláz, pektináz és xilanáz enzimek hatása írtelenített pamutszövetek tulajdonságaira. 2. rész. *Magyar Textiltechnika*, LIV, 116-120.
4. Csiszár, E. (2002) Minőség és biotechnológia a textiliparban. *Magyar Textiltechnika*, LV(1), 27-29.
5. Losonczi, A., Csiszár, E., Szakács, Gy. (2002) Enzimes pamutelőkészítés komplexképző jelenlétében. 1. rész. *Magyar Textiltechnika*, LV(6), 186-189.
6. Losonczi, A., Csiszár, E., Szakács, Gy. (2002) Komplexképzők szerepe az enzimes pamutelőkészítésben. IN-TECH-ED '02 Műszaki Fejlesztés és Oktatás a textil- és ruházati iparban. TMTE 2002, 208-214.
7. Losonczi, A., Csiszár, E., Szakács, Gy. (2003) Enzimes pamutelőkészítés komplexképző jelenlétében. 2. rész. *Magyar Textiltechnika*, LVI(1), 22-25.
8. Losonczi, A., Csiszár, E. (2003) A pektinek jellemzője és enzimes degradációja. *Papír-ipar*, XLVII(3), 96-100.
9. Losonczi, A., Csiszár, E. (2004) Komplexképzők és alkalmazásuk a textiliparban. *Magyar Textiltechnika*, LVII(3), 54-57.
10. Csiszár, E. (2009) Kiváló minőségű cellulóz alapú textíliák előállítása környezetbarát technológiákkal. *Magyar Textiltechnika*, LXII(2), 56-58.
11. Szabó, OE., Csiszár, E. (2011) Enzimes textiltechnológiai folyamatok hatékonyságának növelése kisfrekvenciás ultrahang alkalmazásával. *Magyar Textiltechnika*, LXIV(3), 99-102.

12. Tóth, A., Csiszár, E. (2011) Az atmoszférikus plazma és alkalmazási lehetőségei a textil-kikészítésben. *Magyar Textiltechnika*, LXIV(4), 158-161.
13. Szabó, OE., Csiszár, E. (2014) Kisfrekvenciás ultrahang alkalmazása az enzimes textil-technológiai folyamatokban. *Magyar Textiltechnika*, LXVII(3), (online).
14. Csiszár, E., Nagy, S. (2017) Kristályos nanocellulóz – Egy ígéretes új nanoanyag. A kristályos nanocellulóz előállítása, jellemzése és felhasználása. *Magyar Textiltechnika*, LXIX(3), (online).
15. Nagy, S. Csiszár, E. (2018) Cellulóz nanokristályok jellemzése és felhasználása átlátszó filmek előállítására. A cellulózforrás és az adalékanyagok hatása a filmtulajdonságokra. *Magyar Textiltechnika*, LXXI(4), (online).

A TÉMÁHOZ KAPCSOLÓDÓ 10 LEGFONTOSABB ELŐADÁS

1. Losonczi, A., Csiszár, E., Szakács, G., Rusznák, I. (2001) Biopreparation of cotton. 221st ACS National Meeting, 2001. április 1- 5. San Diego, CA, USA
2. Losonczi, A., Csiszár, E., Szakács, G., Bezúr, L. (2004) Role of EDTA chelating agent in bioscouring of cotton and linen fabrics. 3rd Annual Workshop COST Action 847, 2004. június 14-16. Graz, Austria
3. Csiszár, E. (2004) Biopreparation of cotton and linen fabrics. The Fiber Society's Fall 2004 Annual Meeting and Technical Conference, Cornell University, 2004. október 11–13. Ithaca, NY, USA
4. Csiszár, E., Szakács, G., Koczka, B., Bezúr, L. (2005) Biopreparation of fabrics from bast fibres. FAO/SCORENA International Conference, 2005. október 23-27. Port Elizabeth, Dél-Afrikai Köztársaság
5. Csiszár, E., Szakács, G. (2006) Oxidative enzymes in biopreparation of cotton and linen fabrics. 4th International Conference on Textile Biotechnology (INTB06), 2006. június 4-7. Szöul, Dél-Korea
6. Csiszár, E. (2007) Biopreparation – From basics to application. 5th International Conference on Textile Biotechnology (INTB07), 2007. október 21-24. Wuxi, Kína
7. Csiszár, E. (2008) Application of enzyme technologies in finishing of cellulosic fabrics - From theory through practice. 21st IFATCC International Congress, 2008. május 6-9. Barcelona, Spanyolország
8. Csiszár, E. (2009) Application of enzymes in preparatory and finishing technologies of cellulosic fabrics. FAO/Scorena: Week of the Natural Fibers, 2009. június 21-24. Arad, Románia
9. Szabó, OE., Csiszár, E. (2013) The effect of low-frequency ultrasound on the activity and efficiency of a hydrolytic enzyme. 23rd IFATCC International Congress, 2013. május 8-10. Budapest, Magyarország
10. Szabó, OE., Csiszár, E., Tóth A. (2013) Application of nonthermal atmospheric plasma for surface modification of cellulosic fibers. 23rd IFATCC International Congress, 2013. május 8-10. Budapest, Magyarország

11 A TÉZISEKHEZ KAPCSOLÓDÓ MŰSZAKI ALKOTÁSOK JEGYZÉKE

1. *Cellulóz alapú kötött kelmék bioelőkészítésének üzemesítése*
GVOP-AKF-3.1.1.-2004-05-0520/3.0 pályázat: pamut, pamut-len és pamut-kender kötött kelmék bioelőkészítésének az üzemesítése (2005)
2. *Cellulóz alapú kötött kelmék biokikészítésének üzemesítése*
GVOP-AKF-3.1.1.-2004-05-0520/3.0 pályázat: színezett pamut kötött kelmék enzimikus kikészítésének üzemesítése (2006)
3. *Új technológiák kidolgozása a len és len-tartalmú (len-pamut, len-poliészter) szövetek fogásának és esésének a javítására*
OMFB ALK-00239/98 pályázat: len típusú ruházati szövetek kombinált (enzimes, mechanikai, kémiai) lágyításának technológiai fejlesztése (2001)

FÜGGELÉK

F1. IPARI ENZIMEK

Az ipari enzimek legfontosabb technológiai jellemzőit az *F1. táblázat* tartalmazza.

F1. táblázat. A kísérleti munka során felhasznált ipari enzimmészítmények jellemzői

Név	Gyártó/ forgalmazó cég	Optimális pH	Optimális hőmérséklet (°C)	Ajánlott koncentráció (%) ^c
Pektinázok				
Beisol HP	Bezema AG	1,5-5	20-60	1-4
Beisol PRO	Bezema AG	6-9	55	1-4
Bioprep 3000 L	Novozymes	8-9,5	50-65	1-2
Baylase EVO	Bayer AG	7-9,5	60	1-2
Roglyr Duo 98110	Rottapharm SpA	7-8,5	60-75	1-2
Viscozyme 120L	Novozymes	3,5-5,5	40-55	-
Serazyme C-PE	DyeStar GmbH	6-9	55	1-3
Texazym SC	InoTex	8-9,5	55-60	1-2
Xilanáz				
Pulprzyme HC	Novozymes	6,5-9,5	40-50	-
Amiláz				
Beisol LZV ^a	Bezema AG	5,4-8	65-75	0,5-5
Cellulázok				
Celluclast 1.5L	Novozymes	4,5-5,5	50-60	-
Cellulase	EBT ^b	4,5-5,5	40-45	-
Cellulsoft L	Novozymes	4,5-5,5	40-55	0,5-3
Denimax Acid L	Novozymes	4,5-5,5	40-55	1,5-3
Denimax L	Novozymes	6-8	50-60	1- 2,5
Roglyr Bio 1537	Rottapharm SpA	6-8	50-60	1,5-3
Roglyr 1520 NG	Rottapharm SpA	4-6	50-65	0,5-1
Roglyr 1530	Rottapharm SpA	4-6	50-65	0,5-1
Sevosoft CO	Textilcolor AG	4,5-5,5	45-55	0,5-2
Sevosoft ACP	Textilcolor AG	5,0-5,5	40-45	1-2
Sevosoft VCE	Textilcolor AG	4,0-5,5	45-55	0,5-1
Tinozym VP 7603	Ciba	4,5-5,5	45-55	0,5-3
Lakkáz				
Roglyr Lite 1540	Rotta	4,0-5,5	4,0-5,5	3

^a Csapvízben;

^b Environmental BioTechnologies, Santa Rosa, CA, USA;

^c Szövet tömegre számolva.

F2. SZILÁRD FÁZISÚ FERMENTÁCIÓ

A szilárd fázisú fermentációt a BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszékén végeztük. Előzetes szűrővizsgálatok alapján a következő fonalas gomba törzseket alkalmaztuk a kísérletek során:

- *Phanerochaete chrysosporium* NCAIM F 00740 (=ATCC 34541),
- *Phanerochaete chrysosporium* ATCC 24725,
- *Phanerochaete chrysosporium* VKM F-1767,
- *Aspergillus giganteus* NRRL 10,
- *Aspergillus oryzae* NRRL 3485,
- *Trichoderma virens* TUB F-498.

A hat törzset különböző összetételű és nedvességtartalmú fermentációs táptalajon vizsgáltuk, optimalizálva a só tartalmát (egyszerűbb /#1/ és komplexebb /#2/), valamint a nedvességtartalmát²³⁹. Minden kísérletet legalább egyszer megismételtünk.

500 ml-es Erlenmeyer lombikokba bemértünk 5 g len szénforrást és erre mértük rá a 12 illetve a 15 ml sóoldatot (#1-es vagy a #2-es) (jelölés: 12/#1 és 12/#2, illetve 15/#1 és 15/#2), lezártuk vattadugóval, ezután sterilizáltuk 120°C-on, 1 bar nyomáson, 40 percig. A kihűlt táptalajt félcsészényi erősen sporuláló tenyésztettel oltottuk. A fermentációt 30 °C-on 4-11 napig végeztük a mikroorganizmusok növekedésétől függően. A fermentáció végén a tenyészeteket szobahőmérsékleten (20-23°C) szárítottuk, majd hűtőben tároltuk (+4 °C).

Az enzimek extrakciót 0,05 M-os citrát pufferrel (pH 5, 2 h, 220 1/perc) végeztük és a felülúszókból enzimaktivitást mértünk. Az értékeket 1 g száraz SSF tenyésztetire vonatkoztattuk. Az egyes törzsek enzimtermelő képességét az enzimaktivitások alapján hasonlítottuk össze (F2. táblázat). Mértük a poligalakturonáz (PGal), a lignin-peroxidáz (LiP), a lakkáz (Lac), a mangán-peroxidáz (MnP) és az endo-xilanáz (EXyl) aktivitást, amelyek fontosak a len bio-előkészítésében és biofehérítésében a nem-cellulóz kísérőanyagok lebontásában. A cellulóz-bontó képességet a szűrőpapír lebontó (FPA), az endoglükánáz (EGlu), illetve a β -glükozidáz aktivitással jellemeztük. Legjobb eredményt a #2/12 jelölt fermentáció során értük el, azaz 12 ml tápoldattal, a #2 jelzésű sóoldat alkalmazásával, ahol a *T. virens* törzs átlagos relatív enzimtermelése (A-RET), továbbá a biokezelésben kiemelten fontos enzimek (PGal, LiP, Lac, MnP, EXyl) átlagos relatív termelése (BA-RET) bizonyult a legnagyobbaknak. Ez alapján a kutatás folytatásához a két legjobb enzimtermelő törzset (*T. virens* és *A. oryzae*) szaporítottuk el nagyobb mennyiségben az ultrahangos kísérletekhez.

F2. táblázat. Nyers len szénforráson elszaporított fonalas gomba törzsek összehasonlítása a szilárd fázisú fermentáció optimalizálása során, az enzimaktivitás értékek alapján²³⁹

Média ^a	Törzsek	Relatív enzimtermelés (RET) (%) ^b								A-RET ^{c,d} (%)
		PGal	LiP	Lac	MnP	EXyl	FPA	EGlu	β-Glu	
Len 12/#1	ATCC 24725	74	78	18	0	59	61	47	10	43 (46)
	F-00740	100	90	25	5	100	100	100	30	69 (64)
	F-1767	87	100	36	7	53	64	50	25	53 (57)
	F-498	61	86	100	100	67	85	82	55	80 (83)
	NRRL 10	27	58	23	100	21	21	18	10	35 (46)
	NRRL 3485	48	53	22	90	51	39	86	100	61 (53)
Len 12/#2	ATCC 24725	52	80	24	81	15	39	8	15	39 (50)
	F-00740	56	85	18	100	20	46	9	15	44 (56)
	F-1767	53	100	38	98	12	54	6	15	47 (60)
	F-498	100	94	100	99	60	100	47	60	83 (91)
	NRRL 10	63	83	32	42	24	64	13	15	42 (49)
	NRRL 3485	63	66	57	20	100	57	100	100	70 (61)
Len 15/#1	ATCC 24725	93	100	53	100	59	88	59	15	71 (81)
	F-00740	100	72	100	0	100	88	87	5	69 (74)
	F-1767	94	92	72	22	65	100	59	5	64 (69)
	F-498	40	73	82	6	52	75	69	50	56 (51)
	NRRL 10	24	93	92	50	18	25	17	10	41 (55)
	NRRL 3485	46	84	58	0	53	75	100	100	65 (48)
Len 15/#2	ATCC 24725	48	67	32	32	9	32	5	17	30 (38)
	F-00740	55	100	56	100	11	45	5	11	48 (64)
	F-1767	58	73	87	30	10	42	5	17	40 (52)
	F-498	100	77	100	56	64	100	58	89	81 (79)
	NRRL 10	50	59	71	53	14	39	7	11	38 (49)
	NRRL 3485	48	62	65	53	100	48	100	100	72 (66)

^a Szénforrás: len előfonal, amely 12 vagy 15 ml sóoldattal (#1 vagy #2-es jelölésű) volt nedvesítve.

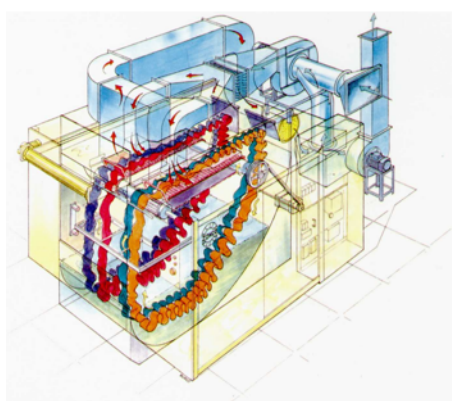
^b Relatív enzimtermelés (RET): azonos fermentációs körülmények között a legmagasabb aktivitás érték és az adott aktivitás aránya, %-ban megadva.

^c A-RET: A relatív enzimtermelés értékek átlaga

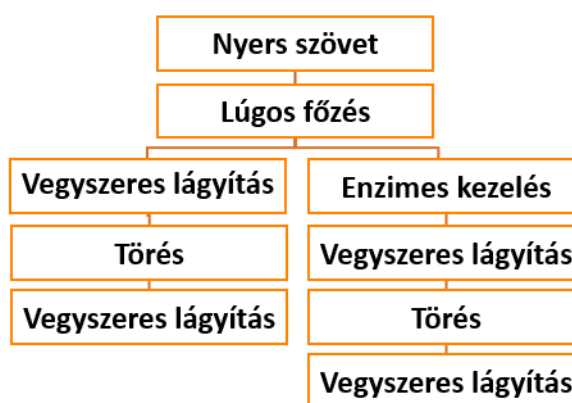
^d BA-RET: A zárójelben szereplő átlag relatív enzimtermelés, amelyet a len bioelőkészítésében fontos enzimekből számoltunk: PGal, LiP, Lac, MnP és EXyl.

F3. LENSZÖVETEK FOGÁSJAVÍTÁSÁT CÉLZÓ KÍSÉRLETEK

A len és len-tartalmú szövetek fogásának és esésének javítását célzó üzemi kísérleteket a Pannon-Flax Győri Lenszövő Rt. Combisoft-Jumbo 400 berendezésében (*F1.a ábra*; M.A.T. dIA, Olaszország) valósítottuk meg. A végtelenített szövet köteg alakban, nagy sebességgel mozog és a berendezés belső falán elhelyezett ütközőknek csapódik. Két kikészítési technológiát alkalmaztunk, amelyek a lúgos főzés után beiktatott enzimes kezelésben különböznek egymástól (*F1.b ábra*). Az egyes részfolyamatok jellemző paramétereit az *F3 táblázat* tartalmazza.



a



b

F1. ábra. (a) Combisoft Jumbo 400 berendezés; (b) Len és len-tartalmú szövetek kombinált vegyszeres- és biokikészítése során az alkalmazott technológia részfolyamatai²²⁵

F3. táblázat. A len- és len-tartalmú szövetek kombinált vegyszeres- és biokikészítése során az alkalmazott kezelések legfontosabb paramétereir^a

Technológia	Vegyszer	Koncentráció	Egyéb paraméter ^b
Vegyszeres	Sziloxános lágyító ^c	40 g/l	Telítés fuláron, szárítás rámán
Enzimes	Enzim ^d	1-2 %	Combisoft, f=1:10, 90 perc
(Száras) Törés	-	-	Combisoft, 60-90 perc; gőzölés

^a 100 % len, féllen (pamut-lánc) és len-poliészter (Len/Poliészter, 33/67 %) szöveteket vizsgáltuk;

^b Üzemi megvalósítás: berendezések és paraméterek a 100 % lenszövet kikészítése során;

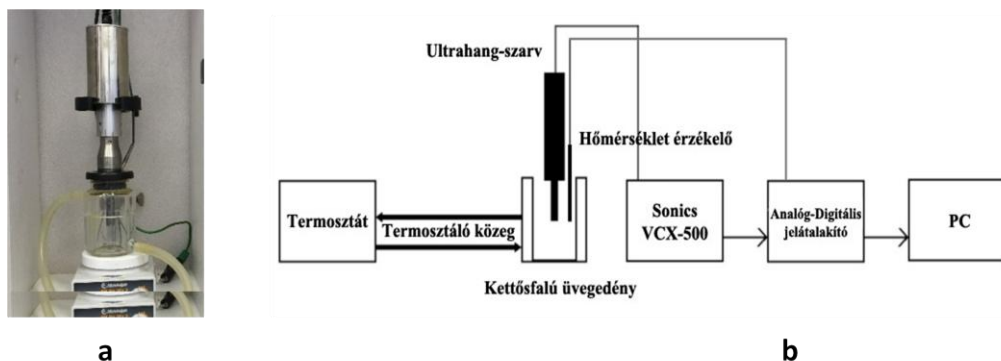
^c Softicon TRNP;

^d Sevoso VCE (F1 táblázat); pH=4,5-5,5; 55 °C; 60-90 perc.

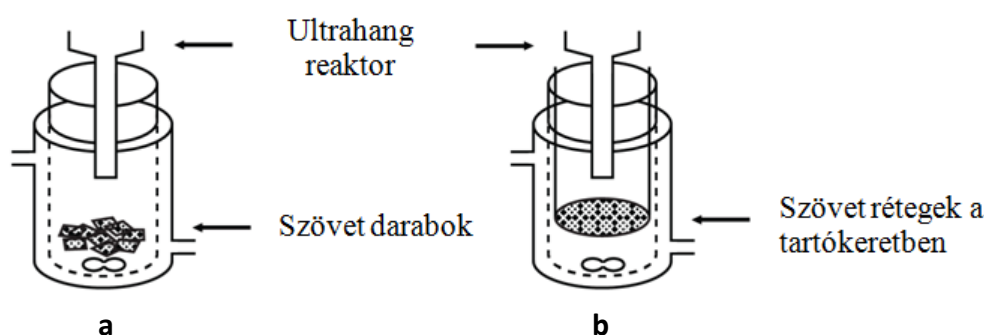
F4. ULTRAHANGOS BESUGÁRZÁSSAL VÉGZETT KÍSÉRLETEK

A bemerülőfejes ultrahangos reaktor (Vibra-Cell VCX-500, 500 W, Sonics & Materials, USA; F2.a ábra) alkalmazásával végzett kísérleteket termosztált rendszerben végeztük, ahol a bemerülőfej vége és az üvegedény alja közt fél hullámhossz volt a távolság ($\lambda/2=3,7$ cm). Mérés közben a közeg hőmérsékletét és a készülék által leadott teljesítményt a kezelőfűrdőbe merülő szenzorokkal követtük (F2.b ábra).

Golyósmalomban őrölt, négyzetre vágott (F3.a ábra), valamint korong alakú és a hangforrástól 1, 2 és 3 cm-re elhelyezett fehérített pamutszövet rétegek (F3.b ábra) celluláz enzimes hidrolízisét ultrahangos besugárzás mellett vizsgáltunk.



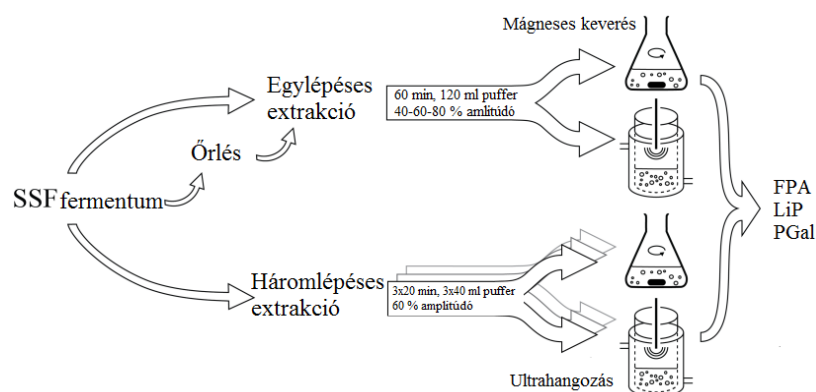
F2. ábra. (a) Bemerülőfejes ultrahangos reaktor; (b) Az ultrahangos térben végzett enzimes kezelés mérőállomása



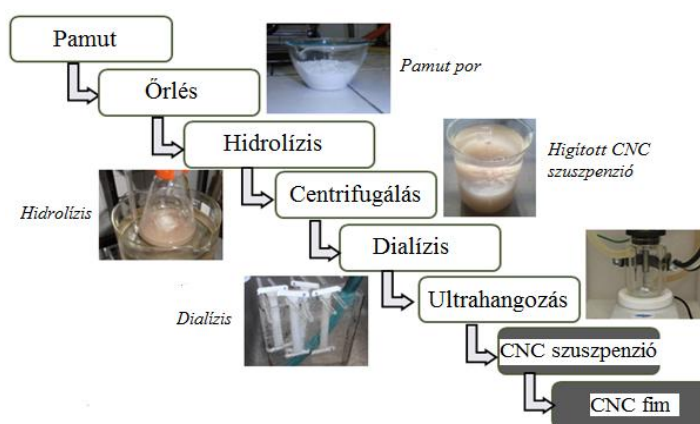
F3. ábra. (a) Négyzetre vágott és (b) keretre erősített pamutszövet az ultrahangos reaktorban

A *T. virens* és *A. oryzae* törzsekkel őrölt lenrost szubsztrátumon termelt nyers fermentumok ultrahanggal segített extrakcióját 0,05 M citrát pufferrel (pH=5; f=1:100) végeztük egy órán át, 40, 60 és 80 % amplitúdón. Az egy-lépéses extrakció során vizsgáltuk a szilárd fermentumok őrlésének a hatását is az extrakció eredményességére. Ehhez az SSF mintákat kávédarálóban megőröltük. Az enzimkinyerés eredményességét a 15 percenként vett minta FPA, LiP, PGal aktivitásának a mérésével jellemeztük. A három-lépéses szakaszos extrakció során (60 % amplitúdó) a 20 perces kezeléseket követően szűrtük az SSF szuszpenziókat, majd a visszamaradt szilárd anyag extrakcióját friss pufferrel folytattuk (F4. ábra).

A nanokristályos cellulózt különböző őrölt cellulóz forrásból kénsavas hidrolízissel (64 %, 45 °C, 25 perc) nyertük ki (F5. ábra). A hígítás és mosás után a szuszpenziót csapvízzel szemben 5 napig dializáltuk, majd különböző ideig ultrahangoztuk (0-10 perc, 60 %-os amplitúdó). Vizsgáltuk az ultrahangos besugárzás időtartamának a hatását a nanokristályok, a szuszpenzió és az öntött film tulajdonságaira.



F4. ábra. Az ultrahanggal segített egy- és három-lépéses enzim-extrakciós kísérlet vázlata

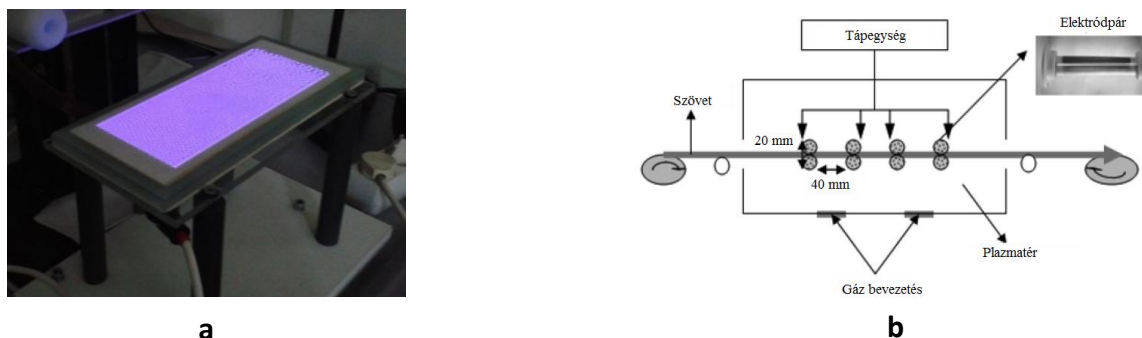


F5. ábra. A nanokristályos cellulóz előállításának részfolyamatai

F5. ATMOSZFÉRIKUS HIDEGPLAZMÁVAL VÉGZETT KÍSÉRLETEK

A szövet kezeléseket az MTA-TTK Anyag- és Környezetkémiai Intézet diffúz koplanáris felületi akadálykísülés (DCSBD) típusú plazmareaktorával (Roplase s.r.o., Brno, Cseh Köztársaság) végeztük (F6.a ábra). A kezelőfelület 9×20 cm, a frekvencia 10-20 kHz, az amplitúdó (a feszültségcsúcsok közötti távolság) pedig 20 kV volt. A szövet mindkét oldalát különböző ideig (30, 60, 90, 120, 180 s) kezeltük levegő atmoszférában.

Egy kísérletsorozatot magyar-török kooperációban végeztünk és parázskísülés (glow discharge, GD) plazmát (F6.b ábra, Ege University, Izmir) alkalmaztunk. A nyers lenszövetet levegő és argon atmoszférában 300 s-ig, 130 W teljesítmény mellett kezeltük. A plazmakezelést követően a szövetet a vizsgálatok megkezdéséig kondicionált körülmények között tároltuk.



F6. ábra. A kutatómunka során alkalmazott plazmareaktorok: (a) DCSBD; (b) GD

F6. INVERZ GÁZKROMATOGRÁFIÁVAL VÉGZETT KÍSÉRLETEK

A nyers, a Beisol PRO enzimmel bioelőkészített, valamint a lúgos főzött laza pamuttal töltöttük meg az 50 cm hosszú, 6 mm belső átmérőjű rozsdamentes acél kolonnát, majd az ismert jellemzőkkel rendelkező folyadékok gőzét (0,5-20 μ l) injektáljuk a vivőgáz áramába, és a retenciós csúcsokat lángionizációs detektorral mértük. A módszerhez kapcsolódó elméleti háttér és az általunk is alkalmazott számolás módja megtalálható a publikációinkban^{232,233,243}. Az apoláris molekulák mindhárom vizsgált minta (nyers, bioelőkészített és vegyszeresen előkészített) esetén mérhetőek voltak a szálas pamuton. A polárisokat viszont csak a két előkészített (enzimes, vegyszeres) szálas mintán tudtuk mérni, a nyers szálas mintán viszont nem. Ez volt az oka annak, hogy a nyers pamutot megőröltük. A nyers őrlött pamuttölteten már lehetett mérni a poláris molekulákat is, mindkét alkalmazott hőmérsékleten (40 és 60°C). Az őrlés okozta felületi és morfológiai változások a nyers pamut esetén tehát befolyásolhatják a poláris molekulák adszorpcióját.

A K_A és K_B konstansok az adszorpció entalpiaváltozásából (ΔH^{ab}) számíthatók, de meghatározhatók egy adott hőmérsékleten mért szabadentalpia változásból (ΔG^{ab}) is. Mivel a bio- és vegyszeresen előkészített szálas pamutok esetén a szabadentalpia változás hőmérséklet függéséből nem tudtuk meghatározni az entalpiaváltozást, ezért a szabadentalpia változásból határoztuk meg a felületi donor és akceptor konstansokat. A sav-bázis konstansok az elektrondonor/akceptor kölcsönhatásra adhatnak felvilágosítást. Értelmezésükkel kapcsolatban azonban a szakirodalomban megoszlanak a vélemények, és nincs egyetértés abban sem, hogy a K_A és K_D valódi információt hordoznak-e. Vannak olyan vélemények is, amelyek szerint nem a K_A és K_D értékekkel, hanem inkább az adszorpció entalpia sav-bázis komponensével (ΔH^{ab}) érdemes jellemezni a felület sav/bázis karakterét. Őrlés felületi tulajdonságainak jellemzésére a későbbi kutatásainkban mi is ezt az értéket határoztuk meg²⁴³. Az ellentmondásos megítélés ellenére, egy adott folyamat hatására bekövetkező felületi változások követésére a konstansok jól alkalmazhatók.