



## Zastosowanie enzymów z *Aspergillus niger* IBT-90 do obróbki wyrobów z naturalnych włókien celulozowych

Jadwiga Sójka-Ledakowicz<sup>1</sup>, Rita Pyc<sup>2</sup>, Joanna Lichawska<sup>1</sup>,  
Bogna Grabowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut Włókiennictwa Łódź

<sup>2</sup>Institut Biochemii Technicznej, Politechnika Łódzka, Łódź

### Enzymes' application from *Aspergillus niger* IBT-90 in pretreatment of textiles made of natural cellulose fibres

#### Summary

The aim of research works carried out at Textile Research Institute in Łódź and the Institute of Technical Biochemistry of the Technical University of Łódź was testing the possibility of applying pectinolytic and cellulolytic enzymes complex (from *Aspergillus niger* IBT-90) in the pretreatment process of cotton woven fabrics. Optimal conditions of pectinolytic enzymes' biosynthesis and accompanying cellulolytic enzymes and hemicellulases were developed by suitable choice of cultivation culture composition. Cotton fabric treatment was done in laboratory scale using different amounts of pectinolytic enzymes. The activity of enzymes in the pretreatment of cotton fabrics was evaluated on the basis of changes of woven fabrics mass and water sorption capabilities after biotreatment. The influence of applied pectinolytic enzymes, enriched by cellulases, on the change of chemical composition and strength parameters of woven fabrics after biotreatment was also discussed. The evaluation of liquid sorption by cotton woven fabrics was presented, taking into account sorption coefficients.

#### Key words:

pectinolytic enzymes, woven fabrics biotreatment, cotton fabrics, sorption.

#### Adres do korespondencji

Jadwiga Sójka-Ledakowicz,  
Instytut Włókiennictwa,  
ul. Brzezińska 5/15,  
92-103 Łódź;  
e-mail:  
ledakowicz@mail.iw.lodz.pl

## 1. Wprowadzenie

W ostatnim okresie postęp techniczny w przemyśle włókienniczym ukierunkowany jest bardzo wyraźnie na zmniejszenie jego uciążliwości dla środowiska naturalnego. Biotechnologia

oferująca, przyjazne środowisku, alternatywne do tradycyjnych technologie uszlachetniania włókien i wyrobów włókienniczych, jest coraz szerzej stosowana we włókiennictwie. Na podstawie analizy literatury w ostatnich latach wskazuje się na ciągle poszukiwania nowych zastosowań procesów enzymatycznych w różnych etapach technologii wykończania wyrobów włókienniczych. Przedmiotem zainteresowań wielu badaczy jest wykorzystanie enzymów w obróbce wstępnej wyrobów z naturalnych włókien celulozowych (1-4).

Włókna bawełny z natury swojej są włóknami hydrofilowymi. Tę właściwość zawdzięczają podstawowemu składnikowi, jakim jest celuloza, stanowiąca 95% masy surowego włókna. Resztę stanowią substancje niecelulozowe, powstające we włóknie w czasie jego wzrostu. Rozmieszczenie tych zanieczyszczeń we włóknie jest zróżnicowane, ilość niecelulozowych substancji jest zdecydowanie większa w warstwie zewnętrznej włókna (kutikuli) i maleje w kierunku do jego wnętrza. Zewnętrzna warstwa surowego włókna bawełny, o grubości 0,1  $\mu\text{m}$ , posiada charakter hydrofobowy; składa się z celulozy (około 52%) i zanieczyszczeń (około 48%), takich jak: woski, tłuszcze, pektyny, proteiny, związki wielkocząsteczkowe o charakterze polisacharydów zwanych hemicelulozami oraz substancje mineralne (5).

Podstawowym celem obróbki wstępnej bawełnianych wyrobów włókienniczych jest poprawa zwilżalności włókien poprzez usunięcie substancji niecelulozowych (większości wymienionych zanieczyszczeń). Tradycyjnie oczyszczanie takie wykonuje się podczas obróbki wyrobów z włókien bawełny w stężonych roztworach wodorotlenku sodu w podwyższonej temperaturze (*alkali scouring*). W warunkach tych następuje hydroliza wosków, rozpuszczeniu ulegają również substancje białkowe. Pektyny, których głównym składnikiem jest kwas  $\beta$ -galakturonowy i jego estry hydrolizują w warunkach obróbki alkalicznej, tworząc sole rozpuszczalne w wodzie, dzięki czemu są łatwo usuwane z włókna. Niekorzystnym aspektem stosowania alkalicznego oczyszczania bawełnianych wyrobów włókienniczych jest degradacja włókna celulozowego oraz powstawanie silnie obciążonych ścieków (duża alkaliczność, wysoka wartość parametru ChZT, zawartość środków powierzchniowo czynnych).

Z doniesień literaturowych wynika, że wielu badaczy zajmuje się sprawdzeniem możliwości zastąpienia alkalicznej obróbki wstępnej wyrobów z bawełny, za pomocą metody z wykorzystaniem enzymów (6-8).

## 2. Część doświadczalna

Celem wykonanych badań było sprawdzenie możliwości wykorzystania kompleksu enzymów pektynolitycznych i celulolitycznych z *Aspergillus niger* IBT-90 w obróbce wstępnej tkanin bawełnianych.

Opracowano optymalne warunki biosyntezy enzymów pektynolitycznych oraz towarzyszących im enzymów celulolitycznych i hemicelulaz dobierając skład pod-

łoża do hodowli pleśni z *Aspergillus niger* IBT-90. Zasadniczym problemem w biosyntezie enzymów przez mikroorganizmy jest dobór odpowiedniego ich producenta. Wśród mikroorganizmów produkujących enzymy celulolityczne dominują grzyby nitkowate, a spośród nich na uwagę zasługują przede wszystkim szczepy *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* (9). Ponieważ celuloza nie występuje w surowcach naturalnych w czystej postaci, zatem mikroorganizmy degradujące ją muszą również rozkładać towarzyszące jej polimery, m.in. hemicelulozy i pektyny. Stąd też wymienione szczepy grzybów zalicza się najczęściej również do dobrych producentów enzymów rozkładających te polimery (10). Do przemysłowej produkcji enzymów pektynolitycznych wykorzystuje się grzyb *Aspergillus niger* (11).

Do ustalenia optymalnych warunków biosyntezy wymienionych enzymów zastosowano metodę planowania czynnikowego eksperymentów połączoną z optymalizacją gradientową zaproponowaną przez Boxa i Wilsona (12).

## 2.1. Metodyka badań

### 2.1.1 Materiały stosowane w badaniach

#### 2.1.1.1. Wyroby włókiennicze

W badaniach zastosowano tkaninę z włókien bawełny o splocie płóciennym, surową, o masie powierzchniowej 154 g/m<sup>2</sup>.

#### 2.1.1.2. Mikroorganizmy

Szczep grzyba nitkowatego *Aspergillus niger* IBT-90 z kolekcji kultur mikroorganizmów Instytutu Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej został zastosowany do produkcji enzymów pektynolitycznych i celulolitycznych.

#### 2.1.1.3. Enzymy

Proces obróbki tkanin z włókien bawełny prowadzono w kąpielach enzymatycznych o zmiennym stężeniu enzymów pektynolitycznych (od 1518 do 6407 [°(PM)/g tkaniny]) wzbogaconych celulazami w dawce od 7,2 do 30,4 [J/g tkaniny].

### 2.1.2. Metody analityczne

1. Oznaczanie zawartości hemiceluloz wykonano metodą Ermakowa polegającą na scukrzeniu hemiceluloz za pomocą 2% roztworu kwasu siarkowego i oznaczeniu ilości powstałych cukrów metodą Somogyi-Nelsona (13).

2. Oznaczanie zawartości pektyn wykonano poprzez wyekstrahowanie ich z produktu w środowisku o pH 1,6 i wagowe oznaczenie pektynianu wapnia wytrąconego z roztworu (14).

### 2.1.3. Metody oceny tkaniny bawełnianej

Działanie enzymów oceniano na podstawie zmiany masy próbek oraz zmian wodochłonności tkanin bawełnianych poddanych wstępnej bioobróbce.

#### 2.1.3.1. Ubytek masy

Próbki tkaniny bawełnianej suszono w temperaturze 105°C do stałej masy, po czym ważono odpowiednio przed i po bioobróbce. Ubytek masy tkaniny po bioobróbce obliczano według wzoru:

$$U = \frac{M_p - M_k}{M_p} \cdot 100\%$$

gdzie:

$M_p$  – masa tkaniny przed bioobróbką [g]

$M_k$  – masa tkaniny po bioobróbce [g]

#### 2.1.3.2. Właściwości sorpcyjne

Właściwości tkanin określano zgodnie z PN-72-P-04734 „Metody badań wyrobów włókienniczych. Wyznaczanie wodochłonności”.

#### 2.1.3.3. Sorpcja cieczy ( $H_2O$ i $H_2O_2$ )

Sorpcję cieczy przez włókno bawełny badano metodą opracowaną w Instytucie Włókiennictwa w Łodzi, wyznaczając wskaźniki sorpcji cieczy na przyrządzie SORP-3 (15).

#### 2.1.3.4. Wytrzymałość na rozciąganie

Tkaniny badano zgodnie z normą PN-EN ISO 13934-1:2002.

#### 2.1.4. Obróbka wstępna tkaniny z włókien bawełny

##### 2.1.4.1. Enzymatyczna obróbka wstępna

Obróbkę wstępną tkaniny bawełnianej wykonywano w laboratoryjnym aparacie farbiarskim „Linitest” stosując różne dawki enzymów pektynolitycznych wzbogaconych celulazą.

W 0,1 M buforze octanowym o pH 4,8 przygotowywano kąpiele enzymatyczne o zmiennym stężeniu enzymów pektynolitycznych (od 1518 do 6407 [°(PM)/g tkanki]). We wszystkich eksperymentach zachowano stałą krotność kąpieli 10:1. Proces prowadzono w temperaturze 50-60°C od 30-180 min. Po obróbce próbki tkanin umieszczano w wodzie o temperaturze 80°C, gdzie w ciągu 10 minut następowała inaktywacja enzymów. Następnie próbki suszono w temperaturze 105°C do stałej masy, po czym ważono i obliczano ubytek masy po bioobróbkę.

##### 2.1.4.2. Tradycyjna, alkaliczna obróbka wstępna

W celach porównawczych wykonano operację alkalicznego obgotowania tkaniny bawełnianej w kąpieli zawierającej:

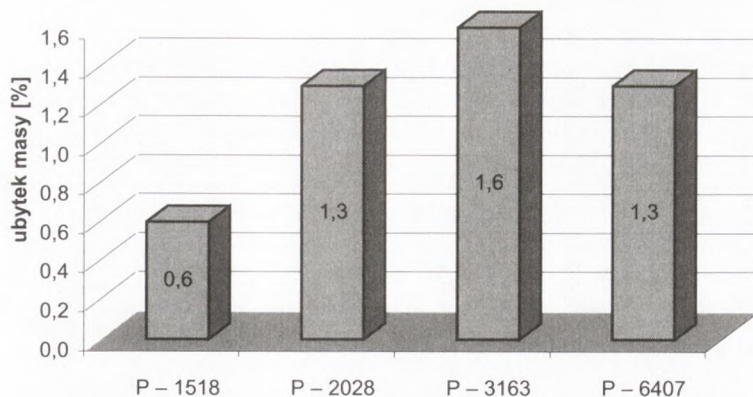
- wodorotlenek sodu 38°Be – 5 ml/l,
- środek sekwestrująco-zwilżający – 1 g/l,
- środek dyspergująco-sekwestrujący – 2 g/l.

Obróbkę prowadzono w temperaturze 98°C przez 30 minut przy krotności kąpieli 10:1.

## 2.2. Wyniki badań

Wykonane badania zastosowania kompleksu enzymów pektynolitycznych i celulolitycznych z *Aspergillus niger* IBT-90 w procesie wstępnej obróbki tkanin bawełnianych wskazują, że istnieje możliwość zastąpienia tradycyjnego alkalicznego opierania tkanin, przed ich bieleniem, proekologiczną bioobróbkę.

Uzyskane w wyniku przeprowadzonej optymalizacji najwyższe aktywności enzymów w płynie pochodzonym z *Aspergillus niger* IBT-90 wynoszą: aktywność ogólna pektynolityczna 817,7 °PM; poligalakturonaza – 37,9 J/ml; FPA – 1,15 J/ml; egzo-

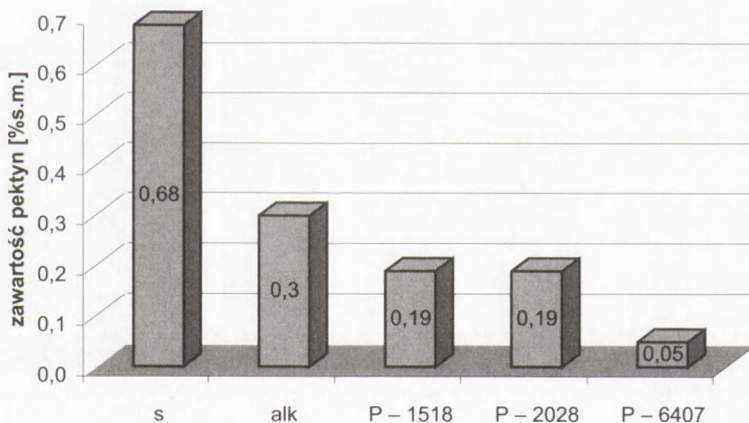


Rys. 1. Wpływ stężenia enzymów na ubytek masy tkaniny bawełnianej. P – stężenie enzymu [°(PM)/g tkaniny].

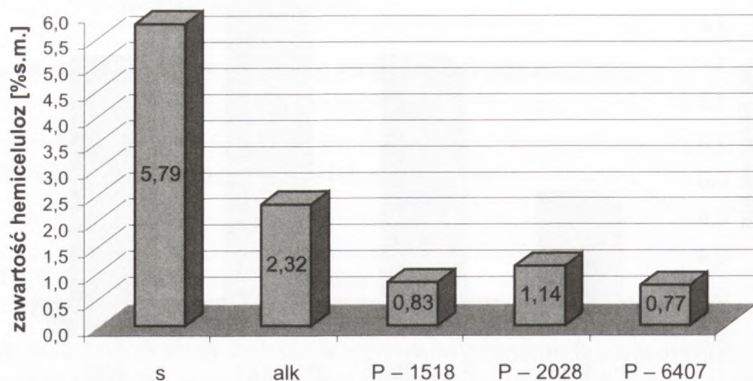
celobiohydrolaza 1,36 J/ml;  $\beta$ -glukozydaza 11,28 J/ml; endo-1,4- $\beta$ -glukanaza 11,18 J/ml; endo-1,4- $\beta$ -ksynalaza 84,8 J/ml.

Optimum aktywności zastosowanego układu enzymów pektynolitycznych i celulozowych mieści się w przedziale pH 4,6-4,8. Działanie enzymów oceniano na podstawie ubytku masy tkaniny bawełnianej poddanej bioobróbkę. Na rysunku 1 przedstawiono wpływ zastosowanej dawki enzymów pektynolitycznych na ubytek masy tkaniny po wstępnej bioobróbkę.

Porównawcza ocena składu chemicznego tkanin z włókien bawełny po wstępnej obróbkę alkalicznej oraz enzymatycznej (rys. 2 i 3) potwierdza dobrą skuteczność zastosowania bioobróbkę w procesie oczyszczania bawełnianych wyrobów włókienniczych.

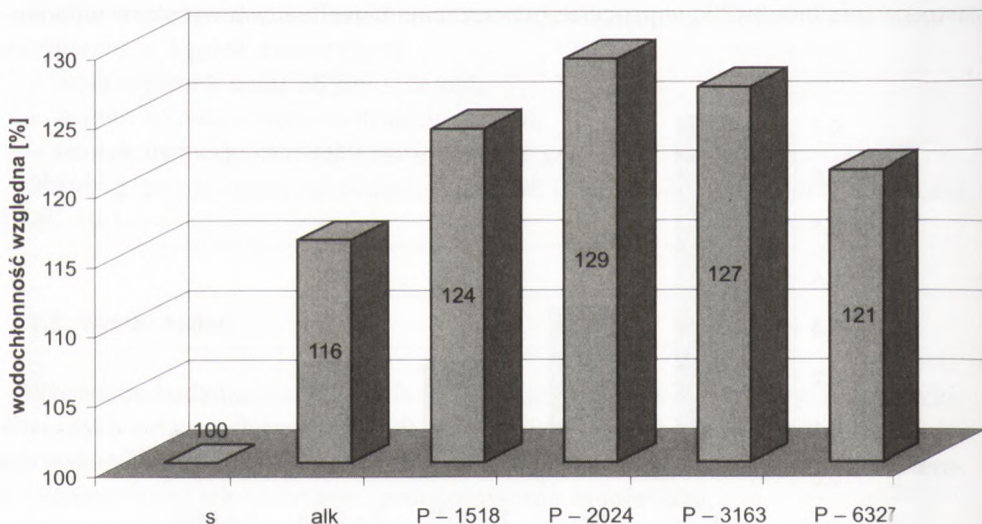


Rys. 2. Wpływ obróbki enzymatycznej tkaniny bawełnianej na zawartość w niej suchej masy pektyn. S – tkanina surowa, alk – tkanina po obróbkę alkalicznej, P – stężenie enzymów pektynolitycznych [°(PM)/g tkaniny].

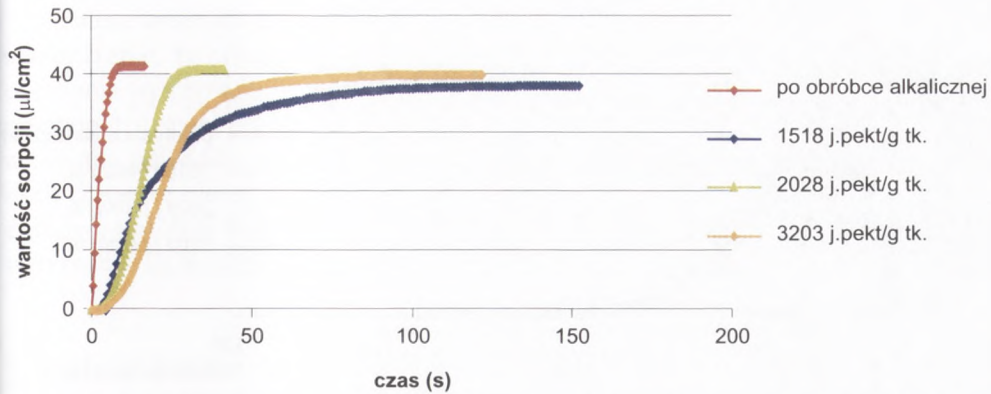


Rys. 3. Wpływ obróbki enzymatycznej tkaniny bawełnianej na zawartość w niej suchej masy hemiceluloz. S – tkanina surowa, alk – tkanina po obróbce alkalicznej, P – stężenie enzymów pektynolitycznych [(PM)/g tkaniny].

niczych. Enzymy pektynolityczne katalizując hydrolizę pektyn, zawartych we włóknie bawełny, do produktów rozpuszczalnych w wodzie, umożliwiają skuteczne ich usuwanie bez konieczności stosowania obróbki w stężonych roztworach NaOH, w podwyższonej temperaturze. Zastosowanie kompleksu enzymów pektynolitycznych wzbogaconych celulazami we wstępnej obróbce włókna bawełny powoduje poprawę jego zwilżalności. Porównanie wodochłonności tkanin bawełnianych po tradycyjnej obróbce alkalicznej oraz enzymatycznej przy zastosowaniu różnej dawki enzymów pektynolitycznych przedstawiono na rysunku 4.

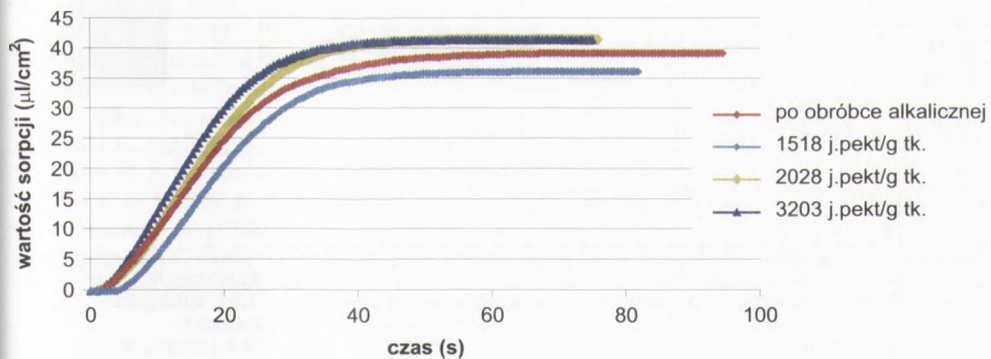


Rys. 4. Wpływ stężenia enzymów na zmiany wodochłonności względnej tkaniny bawełnianej. S – tkanina surowa, alk – tkanina po obróbce alkalicznej, P – stężenie enzymów pektynolitycznych [(PM)/g tkaniny].



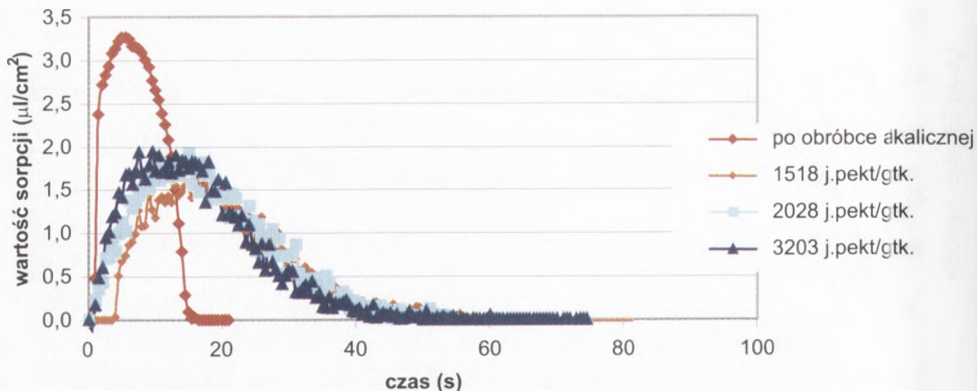
Rys. 5. Krzywe kinetyczne sorpcji H<sub>2</sub>O dla tkanin bawełnianych po obróbce enzymami pektynolitycznymi.

Zdolność wchłaniania cieczy stanowi istotną właściwość płaskich wyrobów włókienniczych nie tylko w ich ocenie użytkowej, lecz także w przebiegu procesów wykończeniowych. Tkaniny z włókien bawełny poddane wstępnej bioobróbce, przy zastosowaniu układu enzymów pektynolitycznych wzbogaconych celulazami, oceniano również pod względem ich właściwości sorpcyjnych. Dokonano oceny chłonności wody i roztworu nadtlenu wodoru (H<sub>2</sub>O i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) przez tkaniny bawełniane na podstawie wskaźników sorpcji wyznaczonych metodą analizy krzywej sorpcji. Analiza uzyskanych wyników pozwala na stwierdzenie, że obróbka enzymami pektynolitycznymi zwiększa chłonność cieczy tkaniny bawełnianej (zwłaszcza roztworu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) w porównaniu z tkaniną po obróbce alkalicznej. Efekt ten jest proporcjonalny do wielkości zastosowanej dawki enzymu (rys. 5 i 6). Na podstawie analizy kinetyki sorpcji badanych próbek wykazano wyraźnie większą dynamikę prędkości sorpcji oraz niższą wartość sorpcji dla tkaniny poddanej obróbce alkalicznej (rys. 7).

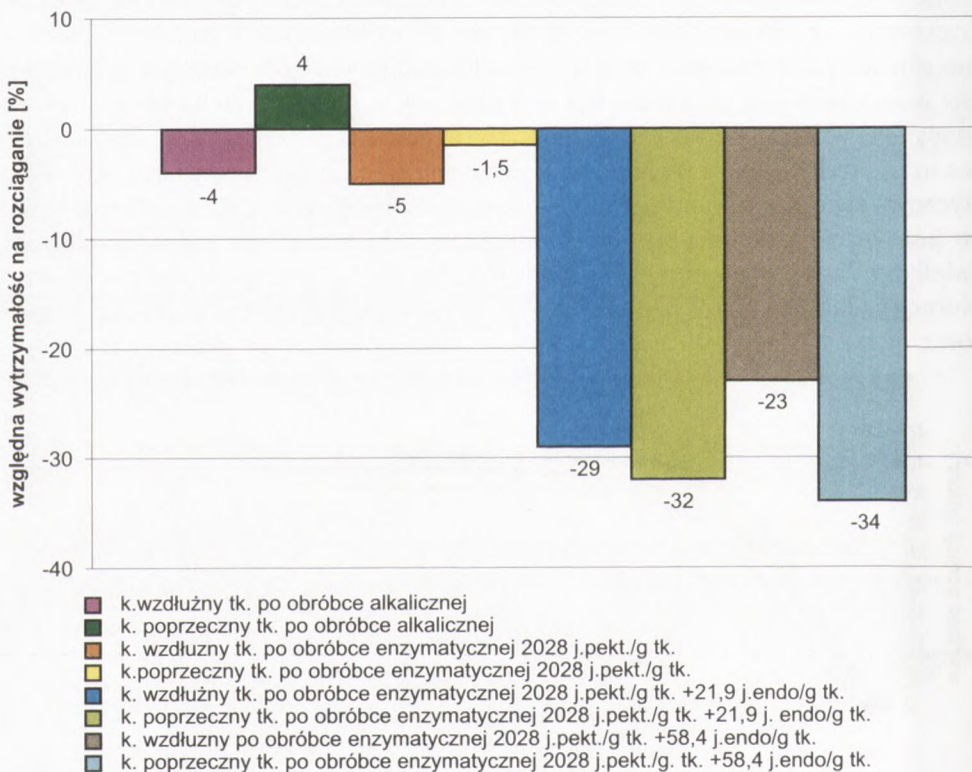


Rys. 6. Krzywe kinetyczne sorpcji H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dla tkanin bawełnianych po obróbce enzymami pektynolitycznymi.





Rys. 7. Krzywe prędkości sorpcji H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tkanin bawełnianych po obróbce enzymatycznej



Rys. 8. Wpływ rodzaju i stężenia zastosowanych enzymów na zmianę względnej wytrzymałości na rozciąganie tkaniny bawełnianej.

Analiza wytrzymałości na rozciąganie badanych tkanin bawełnianych pozwala na stwierdzenie, że celulazy, dodatkowo zastosowane w obróbce tkanin wpływają na obniżenie wytrzymałości włókna bawełny. Obróbka tkanin bawełnianych enzymami pektynolitycznymi (dawka 2028 [°(PM)/g tkaniny]), jak również tradycyjna obróbka alkaliczna powoduje porównywalne obniżenie wytrzymałości na rozciąganie badanych tkanin, o około 5% w stosunku do tkaniny nie poddanej obróbce (rys. 8). Dodatkowa obróbka kompleksem enzymów celulolitycznych powoduje zmniejszenie wytrzymałości o około 30%.

### 3. Podsumowanie

Skuteczne podwyższenie zdolności sorpcyjnych włókna bawełny w procesie wstępnej obróbki, z zastosowaniem kompleksu enzymów pektynolitycznych i celulolitycznych z *Aspergillus niger* IBT-90, stwarza możliwość zastąpienia tradycyjnego alkalicznego obgotowania tkanin bawełnianych (*alkali scouring*), przed ich bieleńiem, proekologicznym procesem bioobróbki.

Zastosowanie procesów enzymatycznych w technologiach wykończalniczych umożliwia ich ekologiczną optymalizację.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego nr: 7 T08E 01920 finansowanego przez KBN.

### Literatura

1. Cegarra J., (1999), *Revista de Quimica Textil*, 143, 44-61.
2. Dezert M. H., Viallier P., Wattiez D., (1998), *J. Soc. Dyers a. Color.*, 114, 10, 283-286.
3. Hartzell M. M., You-Lo Hsieh., (1998), *Text. Res. J.*, 68, 4, 233-241.
4. Csiszar E., Szakacs G., Rusznak I., (1998), *Text. Res. J.*, 68, 3, 163-174.
5. Urbańczyk G., (1985), *Nauka o włóknie*, WNT, Warszawa.
6. Eppers J. N., (1999), *Text. Chem. a. Color. Am. Dyest. Rep.*, 1, 3, 33-36.
7. Seshadri S., (2002), *AATCC Review*, 11, 24-27.
8. Pervin A., Hüseyin A. E., (2002), *AATCC Review*, 12, 22-26.
9. Clarke A. J., (1997), *Biodegradation of Cellulose. Enzymology and Biotechnology*, Technomic Publishing Company. Inc. Lancaster, Basel.
10. Galas E., Kubik C., Turkiewicz M., (1989), *Kosmos*, 38, 39-56.
11. Naidu G. S. N., Panda T., (1998), *Bioprocess Eng.*, 19, 355-361.
12. Box G. F., Wilson K. B., (1951), *J. Royal Stat. Soc. B.*, 13, 11.
13. Ermakow J. A., (1972), *Metody biochemicznego issledowanija rastenij*, Kolos, Leningrad.
14. Budzłowski J., Drabent Z., (1972), *Metody analizy żywności*, WNT, Warszawa.
15. Królikowska H., Goetzendorf-Grabowska B., (2002), *Przegląd Włókienniczy*, 11, 5-6.