

Detergensek és előállításuk

A detergens előállításának kialakulása

A detergens latin eredetű szó, jelentése „letörölő”. A szónak kétféle értelmezése is létezik: használják olyan amfipatikus molekulákra, melyek egy nagy szénatom számú alifás farkat és egy poláris fejet tartalmaznak, illetve átfogóan is alkalmazzák a háztartási és ipari tisztítószerre. Az alábbiakban mi az utóbbi jelentést használjuk.

A szappan előállításának már XII. században is található írásos emléke. Ekkor még zsírokat, olajokat főztek lúgos oldatokkal (elszappanosítás). Ebben az eljárásban hosszú ideig nem történt jelentős változás.

Az első enzim tartalmú mosószer az 1900-as évek elején jelent meg, amely főleg Na_2CO_3 -ot és a hasnyálmirigy nyers kivonatát tartalmazta. Az 1960-as évektől elkezdődött a bakteriális proteázok alkalmazása detergensekben, amely azonban az 1970-es években az eladások dramatikus csökkenését eredményezte. Ennek oka az volt, hogy a porózus termék allergiás reakciókat váltott ki a dolgozók szervezetébe jutva, ezért új előállítási módot dolgoztak ki, a termékeket granulálták. A detergensek jelenleg is folyadék formában és granulátumként kaphatók. Ma 3 nagy területen használnak enzim tartalmú detergenseket: háztartási mosószer, háztartási mosogatószer és ipari tisztítószerekként.

Detergensek használt enzimei és készítményei

A detergens használata során 4 nagy enzimesaládot alkalmaznak: proteázokat, lipázokat, amilázokat és cellulázokat. A proteázok a fehérje tartalmú (vér, fű, ételmaradék), az amilázok a keményítő tartalmú, a lipázok pedig a zsír és olaj alapú szennyeződések eltávolítására használhatók. A cellulázok szerepe ettől kicsit eltérő, ezeket a roncsolódott rostszálak eltávolítására használják.

Az 1970-es évektől két formában árulják a detergenseket: granulátumként és folyadékként. A granulátum egy magból és az őt körülvevő inert anyagból áll, mely megakadályozza, a proteázok levegőbe kerülését. A magban található a tisztításhoz használt enzimek, szerves sók, kötőanyagok és cellulóz rostok, melyek flexibilissé és keményre teszik a granulátumot. A magot ezen kívül egy viaszos réteggel vonják be, így kopás esetén sem szabadulhatnak ki az allergén anyagok. A folyékony detergensek célja a könnyű elegyítés. Ezekben enzimek, oldószerek, propilén-glikol és víz található.

Proteázok

A detergensben használt proteázok mindegyike szerin-proteáz, melyeket *Bacillus* törzsekkel állítanak elő. Különböző pH és hőmérséklet optimumú proteázok is léteznek, néhány akár 80 C°-on is aktív.

Az elmúlt évtizedekben sok vizsgálat történt a proteázok hatásmechanizmusának meghatározására, de még sok esetben nem ismerjük a pontos folyamatot. Ezek megismerése azért fontos, mert így azt is megtudhatjuk, hogy milyen körülmények optimálisak az enzimaktivitás szempontjából. Nagy szerepet játszik ebben a hőmérséklet, a pH (akkor

optimális, ha megegyezik a pI értékkel), illetve hogy mennyire képes adszorbeálódni a szilárd felületen (szennyezőanyagokon).

Lipázok

A lipázok olyan enzimek, melyek a zsírokat hidrolízis során zsírsavakká, mono-, digliceridekké és glicerinné bontja. Ennek köszönhetően a nagy, apoláris molekulákból kisebb, könnyebben oldható anyagok keletkeznek. A lipázokat először *Humicola lanuginosa*-ból azonosították, melyből aztán a géneket klónozással *Aspergillus oryzae*-be vitték át. Az ipari előállítások jelenleg is ezzel a törzzsel történnek. Ezen a gomba eredetű lipáz aktív szerinjén egy fedőszerű molekularész található. Ez a fedő abban az esetben nyílik ki, ha a lipáz apoláris szubsztrát felületen köt. Ez a mechanizmus feltételezhetően azért alakult ki, hogy a működés vizes környezetben gátolt legyen.

Mivel a hidrolízis során zsírsavak szabadulnak fel, az enzimek aktivitása mérhető a pH változásával. Ezért például tributyrin hidrolízis pH-mérésével határozzák meg az adott enzim pH-ját. A mérések során azt vették észre, hogy az enzimek hatása jelentősen megnőtt, ha 1-nél többször mosták a ruhákat, illetve hogy az enzim nem csak a mosás közben, hanem a száradás alatt is dolgozott. Maximális aktivitását akkor érte el, amikor 20-30 m/m% volt a nedvesség.

Amilázok

Az amilázok feladata a keményítőtartalmú foltok eltávolítása (tészta, gyümölcs, csokoládé, hús szaft által okozott folt). A gélesedett keményítőt tartalmazó anyagok könnyen a tisztítandó anyag felületéhez tapadnak és ragasztóként funkcionálva más koszt is képesek megkötni.

Az iparban használt α -amilázt *Bacillus licheniformis* és *Bacillus amiloliquefaciens* szubmerz fermentációjával állítják elő. Ez az enzim az amilózban és amilopektinben képes hidrolizálni az α -1,4 glikozidos kötések. A reakció során a kiindulási anyagokból dextrinek és oligoszacharidok keletkeznek.

Az enzim aktivitásának meghatározása történhet a pNP-G₇ bontásával. A reakció során pNP-G₃ és a pNP-G₄ keletkezik. A pNP-G₃ tovább bontható alfa-glükozidáz oldattal, melynek termékei a glükóz és a sárga színű p-nitrofenol. Utóbbi mennyisége abszorpciós módszerrel mérhető.

Cellulázok

A cellulázok glükozidáz enzimek, melyek β -1,4 észeterkötéseket képesek hidrolizálni. A celluláz enzimek hatásukat nem a ruhán található folton fejtik ki közvetlenül, hanem a ruhából kiálló roncsolt rostszálakat, illetve a mosás során keletkező mikroszálakat bontják le. Mivel ezek a rostok szórják a fényt (így szürkébbé téve a színeket), merevvé és durvává teszik a ruhát és a földtartalmú szennyeződések könnyen hozzátapadnak, ezért a cellulázok hatására a ruha fényesebb, puhább lesz és a földes szennyeződések könnyebben eltávolíthatókká válnak. Azonban az továbbra is vita tárgya, hogy az enzim milyen mértékben roncsolja a ruhát.

Az enzim aktivitása sok különböző módszerrel mérhető. Megállapítható a képződő redukáló végek reakcióival, a viszkozitás csökkenésének mérésével, festett, oldhatatlan szubsztrátokkal való reakciókkal vagy színes reagensek segítségével is.

Háztartási mosás

A mosószer hatású enzimek legnagyobb mennyiségben a háztartási mosószerek gyártásához használják fel. A hagyományos detergens összetevőket különböző enzimekkel kiegészítve jelentősen megnöveli a tisztítás határfokát. Kellő körültekintés igényel a megfelelő enzim kiválasztása. Ugyanis nem minden folt-eltávolító képességű enzim használható fel, elvárás még ezen kívül, hogy kompatibilis legyen a mosószerben található hagyományos detergens komponensekkel és a mosóközeg kémhatásán jól kell működnie. A pH-nak fontos szerepe van, a mosószer kémhatása igen változatos lehet (lúgos tartományon belül), a hozzáadott enzimet ehhez képest úgy kell megválasztani, hogy optimuma, és működési pH tartománya megfeleljen a mosóközeg kémhatásának. Általánosságban igaz, hogy a felhasználandó enzim (általában proteáz) működési optimuma az izoelektromos pontjánál van.

Másik fontos vizsgálandó szempont az ionerősség: a folyékony mosószerek általában kis ionerősségű mosóközeget hoznak létre, míg a por állagúaknak nagy ionerősségűt. Arra, hogy a felhasználandó enzim milyen ionerősségű közegben működik jól, tesztelés útján derül fény.

A háztartási mosás eltérően fejlődött Európában és az Egyesült Államokban. Míg az USA-ban felül betölthető keverő típusú mosógépek, addig Európában inkább az elől betölthető forgó dob típusú mosógépek terjedtek el. A megfelelő enzim kiválasztását pusztán analitikai mérésekre nem lehet alapozni, ezért modellezni szükséges a mosás folyamatát. A próbamosást amerikai típusú mosógép esetén ún. terg-o-tometer, az európai típusú mosógép esetén laundrometer készülék segítségével végzik. A tesztelést a használt enzim szubsztrátja szerint különbözőképpen végzik (**1. táblázat**).

	Eltávolítandó szennyeződés	Mosás hatékonyságának vizsgálata
Proteáz	tej, vér, fű, korom	Spektrofotometriásan – minta fényvisszaverőképességének változása
Amiláz	gyümölcs, kakaó, burgonyakeményítő, korom	
Celluláz	korom	
Lipáz	zsír, olaj (disznózsír, olívaolaj)	Zsíroldható festékkel (pl. Szudánvörös) kezelt minta szín intenzitásának csökkenése

1. táblázat

Gomba eredetű celluláz használatának 3 fő előnye van az enzim nélküli mosószerhez képest: fényesebbé teszi a ruha színét, puhábbá teszi az anyagát és a tisztítást is hatékonyabbá teszi. Karbantartja és megfiatalítja a ruhákat. A celluláz enzim mennyiségét optimálni kell. pH 7-9,5 tartományban aktív.

Háztartási mosogatás

Különböző tendenciák figyelhetők meg a háztartási mosogatógép használatban 3 különböző területen: Japánban, USA-ban/Kanadában, Európában. USA-ban a kényelemre való törekvés van a fókuszban, rövid mosó ciklus és meleg vizes öblítés és egy ciklus alatt állandó hőmérséklet a jellemző. Európában inkább a minőség került a középpontba, hideg vizet használata jellemző, amelyet belső fűtő rendszer melegít fel. Új trend a maró hatású vegyszerek visszaszorítása. Japánban a speciális, finom fából készült rizses tálak és a Japán konyhák szűkös méretei miatt a konyhai mosogatógépek nem terjedtek el a háztartásokban. Azonban jelenleg 10-20%-kal nő évente az automata mosogatógépek forgalma a Japán piacon, és az összes mosószer tartalmaz enzimeket.

Az edényekre rászáradt ételmaradékok nehézséget okoznak az automata mosogatógépeknek, többfajta enzim használata szükséges a megfelelő tisztaság teljesítése érdekében. Az felhasznált enzim optimális mennyisége a mosószer összetételétől és a mosási paraméterektől (elő- és főmosás ideje, fűtési idő, felhasznált víz mennyisége) függ, érdemes kísérleti úton meghatározni. Mérési körülmények attól függően változnak, hogy milyen enzimmel akarják a mosószert kiegészíteni (**2. táblázat**).

Mérési módszer: A kontroll minden esetben enzim nélküli mosogatóanyag

	Szennyeződés	Mosás hatékonyságának vizsgálata
Proteáz	meleg zabkása, rászáradva az edényekre	Jóddal megszínezés, keményítő mennyiség mérése (kalibráció szükséges)
Amiláz	Tojássárgája, tej, majd fehérje denaturálása	Tömegmérés vagy vizuális leolvasás

2. táblázat

Felületek tisztítása iparban és intézményekben

Lényegesen nő az enzimes tisztítás ipari körülmények közötti mosásokhoz, mosogatóhoz, különböző felületek (falak, alkatrészek) tisztításához. Gyakori enzim felhasználás például kórházakban vagy vágóhidakon vérrel, vagy élelmiszeriparban ételmaradékokkal erősen szennyezett anyagokra. Éttermi asztalterítők és szalvéták mosásánál jellemzően lipázt és amilázt használnak. Kemény felületek tisztítása alatt asztalok, gépek (hús-szeletelő) alkatrészeinek takarításakor a tisztított felület a vég-felhasználóval kapcsolatban áll, ezért az enzim aeroszol használata nem mindig megengedhető. Endoszkópról (orvosi alkatrész) szerves szennyeződéseket igazán hatásosan kizárólag enzim segítségével lehet eltávolítani, mivel a hagyományos detergenssekkel csak olyan magas hőmérsékleten lehet végezni a tisztítást (60 °C), ahol már maga az endoszkóp is sérülhet, ráadásul a maró hatású detergenssek a műanyag borítást is megtámadhatják. Membrántisztítás: ultraszűréshez, reverz ozmózishoz használt membránok roncsolástól kímélő tisztítására már széles körben használnak enzimeket (főleg proteázokat).

Az enzimek detergens-kompatibilitása

Különleges figyelemmel kell megvizsgálni, hogy az enzimek valóban stabilak-e a detergenses közegben. Különböző úton veszíthetnek aktivitásukból:

- denaturáció: magas hőmérséklet vagy durva környezet hatására (pl. folyékony detergenses közegben anionok) az enzim kitekeredik és elveszíti aktív szerkezetét
- kémiai reakció: a polipeptid lánc elhidrolizálhat, a magas pH vagy a detergensben lévő oxidálószer (pl. fehérítő) hatására keletkező kritikus aminosav maradványok miatt elhidrolizálhat
- proteolízis: a proteázok degradálhatják az összes enzimet (mert fehérjék)

Ezek a mechanizmusok mind felelősek lehetnek a tárolás vagy mosás során bekövetkező aktivitáscsökkenésért, illetve összességében a termék gyenge hatékonyságáért.

Tárolási stabilitás

Egy enzim készítmény tárolási stabilitása elsősorban attól függ, hogy folyékony vagy por állagú a készítmény. A folyékony készítmények minden komponensének direkt hatása van az enzimre, valamint az enzim formulázása éppúgy limitáló hatással van a detergensben lévő enzim stabilitására.

Nem ugyanez a helyzet a por állagú detergenshez készített granulált enzimek esetében, ahol a formulálásnak és a granulálás típusának van a legjelentősebb hatása a stabilitásra. Az enzimre nézve veszélyes környezet kiküszöbölhető granulálással, ha az enzim a granulált részecskékbe kerül.

A porállagú detergensknél a három legfőbb jelentőségű paraméter az enzimek stabilitására vonatkozólag a tárolási hőmérséklet, a tárolás nedvességtartalma és hogy a detergens tartalmaz-e fehérítőszert. A probléma a fehérítőszerek instabilitásából fakad, mivel a kibocsátott szabad és aktív oxigén oxidálhatja az enzimeket.

Általánosságban az ismert detergens lipáz oxidációval szemben ellenállóbbnak tűnik a proteázoknál, amik ugye ellenállóbbak az amilázoknál (lásd korábban).

Fehérítőszereket eddig még nem alkalmaztak folyékony detergenses esetében, ám bevezetésükkor nagy stabilitási problémát fognak képviselni, amit csak kétfázisú vagy mikrokapszulációs technikák tervezésével lehet megvalósítani, mivel így a fehérítőszer és az enzim térben elkülönülnek.

Folyékony detergenses esetén a felületaktív anyagok használata jelentősen befolyásolja a denaturáció mértékét. Az anionos detergenses általában hajlamosak az enzim denaturálására, míg a nem-ionosak semlegesek vagy akár stabilizálják is azt. Az anionos anyag részleges vagy teljes amfoter szubsztituálásával jelentősen tárolási stabilitásnövekedés figyelhető meg az enzimek esetében.

A detergens proteázokat a szabad Ca^{2+} ionok jelenléte stabilizálhat, ezért a proteáz-tartalmú folyadék detergenses esetében általában 100-1000 ppm Ca^{2+} -ot adnak. Ahogy a Ca^{2+} adagolás növeli a stabilitást, úgy tudja a kalcium kötődése és komplexképzése csökkenteni a stabilitást.

A proteolízis (proteáz okozta hidrolízis) természetesen csak a proteázokat is tartalmazó folyékony detergensok esetén jelent problémát. A legtöbb enzim-tartalmú detergensben a proteáz jelenléte ellenére is, sokszor stabilizáló rendszerek szükségesek a különböző enzimek - lipázok, amilázok és maguk a proteázok - elfogadható stabilitásának fenntartására.

A proteázok és lipázok proteolízis-aránya csökkenthető alacsony víztartalmú vagy aktivitású detergens biztosításával. Általánosan 50% alatti víztartalom ajánlott. Ennek egyik módszere, ha propilénglikólt alkalmazunk, aminek jelentős stabilizáló hatása van a proteázokra. Más oldószer, mint például etanol vagy izopropanol is használható. Egy másik módja az enzimek proteolízis elleni stabilizálásának, ha reverzibilis proteáz inhibitorokat adunk hozzá. Ezek az ágensok részlegesen inhibeálják a proteáz aktivitását, de a proteáz visszanyeri a teljes aktivitását, ha a detergenst kihígítjuk a mosási folyamatban. Ilyen tipikus inhibitorok a borátok, formiátok, glicin stb...

Stabilitás a mosás során

A detergens enzimek mosási teljesítménye különböző faktoroktól függ:

- a detergens összetétele és adagolása
- a detergens oldat pH-ja
- a detergens oldat ionerőssége
- mosási hőmérséklet
- mosási időtartam
- mechanikai kezelés
- vízkeménység
- a szennyezettség mértéke
- textil típus

A felületaktív anyagok a mosás során az enzim teljesítményét és a stabilitását is befolyásolják.

A LAS (linear alkyl benzene sulphonate) a detergens enzimekre nézve az egyik legagresszívabb felületaktív anyag. Az enzimek mosás alatti stabilitása és a negatív következmény többnyire még annak ellenére sem jelent problémát, hogy az anionos anyagok hatását általában nemionos felületaktív anyagok hozzáadásával ellensúlyozzák.

A detergens- és komplexképzők a szabad kalciumion koncentrációhoz hasonlóan szintén fontosak nemcsak az enzimmentes detergens hatékonysága miatt, hanem az enzim működéséhez is. A detergensok és az enzimek mosási hatékonysága (különösen a proteázoké) csökken a növekvő kalcium koncentrációval.

A leggyakrabban használt fehérítőrendszer egyrészt perborátból és valamilyen aktivátorból áll (TAED: tetra acetyl ethylene dimine, NOBS: nonyl oxy benzene sulphonate). A fehérítőrendszer általában kompatibilis a detergens enzimek formulálásakor alkalmazott koncentrációjával.

Klórozott fehérítőket (NaOCl) soha nem foglalnak magukba a detergensok, de a világ néhány pontján elkülönítve hozzáadják őket a detergens oldatokhoz. A fehérítéshez elegendő koncentrációja (200 ppm felett) már romboló az enzimekre nézve.

Jövőbeli kilátások

Pár évvel ezelőttig a detergens iparok számára előállított új enzimeket a klasszikus módon, mikroorganizmusok megfigyelésével találták meg. Ma is hasonlóan ez a kiindulási pont, de új technológiákkal, mint például génmérnökség és fehérjemérnökség megváltozik az új enzimek fejlesztésének módszere. A génmérnökséggel növelhető a termelés hozama, ami új lehetőségeket nyit meg. Például alacsony hozamú mikroba törzsek enzimeit kifejezethetőek olyan gazdatörzsekkel, amik magasabb hozamra képesek, amivel a gyártás gazdaságilag megvalósíthatóvá válik.

Mára már piacra kerültek a génmódosított mikroorganizmusokból származó enzimek, és a számuk jelentősen nőni fog a jövőben.

A fehérjemérnökség során - az egy vagy több aminosav megváltoztatásával – lehetségessé válik az enzimek fejlesztése a detergens ipar számára. A fehérjemérnökség megteremtí a lehetőséget a régi és az új enzimek számára is. A területet elárasztották a szabadalmi bejelentések az elmúlt 2 évben, és ez folytatódni fog az elkövetkező néhány évben. Néhány mérnöki úton megváltoztatott proteáz (növelt fehérítő stabilitással) már a piacon van és a fejlesztés nyilvánvalóan stabilabb és jobban teljesítő enzimeket fog létrehozni a jövőben.