زیست پرداخت آنزیمی پارچه پنبه‌ای: اثر سلولاز نورسپورا کراسا بر خواص پارچه پنبه‌ای

Enzyme Biopolishing of Cotton Fabric: Effects of Neurospora Crassa on Cotton Fabric Properties

غلامرضا گودرزی[1]، سیدمجتبی طباطبائی یزدی[2]، محمد حقیقت‌کیش[3]، سهیلا سلحشور کردستانی[4]

۱،۲،۳،۴. دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی نساجی، ۴. دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، بخش بیوتکنولوژی

دریافت: ۷۵/۴/۳۰، پذیرش: ۷۵/۸/۱۲

چکیده

سلولاز مجموعه‌ای از آنزیمهای سلولولیتی است که به علت اثر آن بر سلولوز می‌تواند در تکمیل پارچه‌های پنبه‌ای بکار گرفته شود. سلولاز را می‌توان با استفاده از میکروارگانیسمهای گوناگون بدست آورد. در این مقاله چگونگی تولید آزمایشگاهی آنزیم سلولاز از قارچ نورسپورا کراسا و اثر آن بر خواص پارچه پنبه‌ای در عملیات زیست پرداخت بررسی می‌شود. طی این عملیات معلوم شد که وزن پارچه با افزایش زمان عمل آوری بیشتر کاهش می‌یابد، تمایل به ایجاد پرزدانه در سطح آن کاهش پیدا می‌کند و سطح پارچه عمل آوری شده صاف و فاقد پرزهای سطحی می‌شود. آنالیز این آنزیم مشابه آنزیم سلولاز حاصل از تریکودرماریسی است.

واژه‌های کلیدی: سلولاز، زیست پرداخت، تکمیل، پارچه پنبه‌ای، نورسپورا کراسا

Key Words: cellulase, biopolishing, finishing, cotton fabric, neurospora crassa

مقدمه

اصطلاح زیست‌پرداخت برای توصیف عمل تکمیلی جدیدی روی پارچه‌های سلولوزی بکار می‌رود. این عمل تکمیل آنزیمی با استفاده از سلولاز انجام می‌شود که خواص جدید در پارچه پنبه‌ای بوجود می‌آورد. در اثر زیست‌پرداخت سطح پارچه صاف و پرزهای سطحی زدوده می‌شود، تمایل به ایجاد پرزدانه کاهش می‌یابد، زیردست پارچه لطیف و خوش‌آیند می‌گردد و جالبتر آنکه این فرایند فاقد مشکلات آلودگی محیط زیست است [۶-۱].

سلولازها مجموعه‌ای از آنزیمها را شامل می‌شوند که در تخریب مولکولهای زنجیری بلند پلیمر سلولوز و تبدیل آن به قطعات کوچکتر و گلوکوز شرکت دارند. سه آنزیم آبکافتی مختلف که در این امر مشارکت دارند، هر سه پیوندهای ۱، ۴ بین زنجیرهای گلوکوز را آبکافت می‌کنند. این آنزیمها عبارتند از: اندوگلوکاناز یا اندو-۱، ۴-گلوکاناز (E.C.۳.۲.۱.۴)، اگزوگلوکاناز یا اگزو-۱، ۴-گلوکاناز (E.C.۳.۲.۱.۹۱) و β-گلوکوزیداز (E.C.۳.۲.۱.۲) که سلوبیاز را به گلوکوز آبکافت می‌کند. ارقام داخل پرانتز نشان دهنده ماهیت آنزیم و مطابق با کد استاندارد جامعه بین‌المللی زیست‌شیمی است. سلولازها بوسیله تعدادی از میکروارگانیسمهای مختلف مانند باکتریها، اکتینومیستها و قارچها تولید می‌شوند. بیشتر مطالعات انجام شده روی سلولازهایی است که از قارچهای میکروسکوپی حاصل می‌شوند [۱۱-۷]. در بین قارچها می‌توان به جنسهای مختلف تریکودرماریسی، آسپرژیلوس و فوزاریسم اشاره کرد. گونه‌های تریکودرماریسی از پربازده‌ترین

تولیدکننده‌های سلولاز [۷،۸،۱۰].

یزدی و همکارانش [۹،۱۱،۱۲] نشان‌دادند که نورسپورا کراسایک قارچ سلولولیتی (cellulolytic) حقیقی است که قادر به سنتز و ترشح مقادیر زیادی از سه نوع آنزیم سلولولیتی سلولاز است و از این نظر با تریکودرماریسی (Trichodermareesei) مشابهت دارد. این قارچ از جمله قارچهای رشته‌ای است که رشد سریعی دارد. همچنین، متابولیتهای ثانویه سمی شناخته شده را نیز تولید نمی‌کند.

مطالعات زیادی با استفاده از آنزیم تجارتی حاصل از تریکودرماریسی درباره زیست‌پرداخت پارچه حاصل از الیاف سلولوزی انجام گرفته است [۶-۱]. در گزارش قبلی [۱] اثر آنزیم سلولاز تولید شده بوسیله قارچ تریکودرماریسی بر پارچه پنبه‌ای سلولوزی در زیست‌پرداخت پارچه بررسی شد. در این مقاله روش تولید آزمایشگاهی سلولاز از نورسپورا کراسا و تاثیر آن روی خواص پارچه پنبه‌ای تشریح می‌شود.

تجربی

مواد

عصاره مخمر و سلولوز ریزبلوری از شرکت سیگما و سایر مواد شیمیایی از شرکت مرک و سیگما تهیه شدند. قارچ نورسپورا کراسا را آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی در اختیار قرار داده است.

پارچه مورد استفاده از محصولات کارخانه‌های نساجی داخلی و دارای مشخصات زیر است: بافت ساده با وزن ۱۳۱ گرم بر مترمربع و بطور متوسط ۳۱/۵ تار و ۲۶/۵ پود در سانتیمتر و نمره نخ تار و پود ۲۳ تکس.

روشها

مطابق روشی که در مقاله قبلی شرح داده شد کاهش وزن در عملیات زیست‌پرداخت به طور عمومی گزارش شده است [۱]. در این پژوهش، رفبلتر بودن محلول سلولاز، کاهش وزن را در زمان طولانی‌تری ایجاد کرده است. فعالیت آنزیم اندوگلوکاناز بوسیله اثر آن روی کربوکسی متیل‌سلولوز معین شد و برای اندازه‌گیری فعالیت اگزوگلوکاناز از کاغذ صافی واتمن و از پارانیتروفنول بتاگلوکوزید به عنوان بستر برای تعیین فعالیت بتاگلوکوزیداز استفاده شد.

در تمام آزمایشهای انجام شده، یک واحد آنزیمی (IU) عبارت است از تعداد میکرومولهای محصول تولیدشده بوسیله یک میلی‌لیتر از نمونه دارای آنزیم در شرایط یادشده که برای اندوگلوکاناز در مدت ۱۵ دقیقه، برای بتاگلوکوزیداز و اگزوگلوکاناز در مدت ۶۰ دقیقه بیان می‌شود [۱۳].

نمونه‌های پارچه به ابعاد ۱۵×۳۰ سانتیمتر مورد آزمایش قرار گرفت. برای بررسی تمایل به ایجاد پرزدانه نمونه‌ها با دستگاه سایش مارتیندال طبق استاندارد Swiss Norm)SN ۱۹۸۵۲۵) بررسی شدند. عکسهای میکروسکوپی با میکروسکوپ نوری کارل زایس ژنا تهیه شد.

تهیه آنزیم سلولاز از قارچ نورسپورا کراسا

برای تولید آنزیم سلولاز از قارچ نورسپورا کراسا، محیط کشت دارای مواد زیر مورد استفاده قرار گرفت:

سلولوز ریزبلوری (W/V) ۲٪، محلول نمکهای وگل (V/V) ۲٪ و عصاره مخمر (W/V) ۰/۷۵٪.

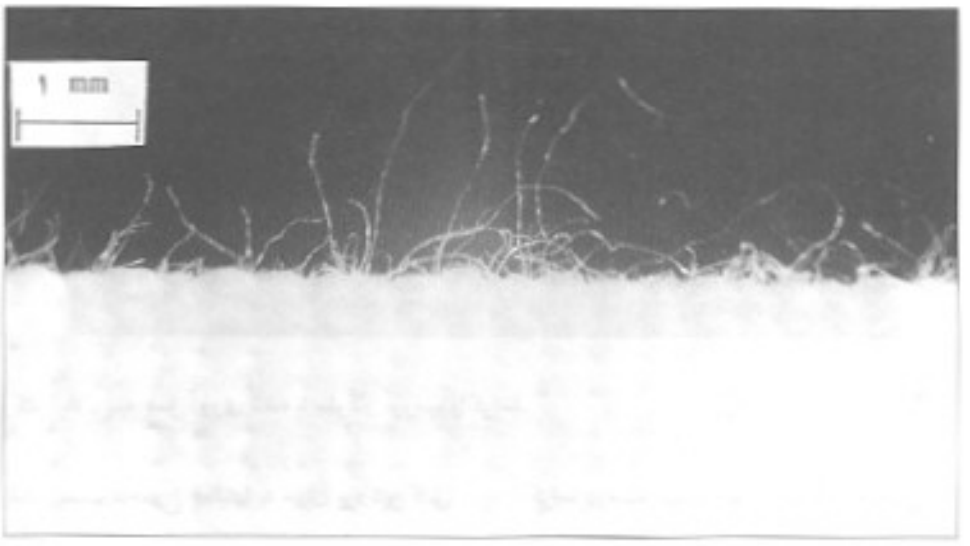
پس از تهیه محیط کشت، pH آن با استفاده از سود ۰/۱ نرمال برابر با ۷ تنظیم شد و به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر از این محیط کشت به چند ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتر منتقل شد. در هر یک از ارلنها بوسیله پنبه هیدروفیل مسدود و روی آن با ورق آلومینیمی پوشانده شد و به منظور سترون‌سازی، ارلنها درون اتوکلاو قرار گرفت. سترون‌سازی در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه انجام پذیرفت. پس از انجام عمل سترون‌سازی و خنک‌شدن ارلنها، عمل تلقیح با قارچ نورسپورا کراسا (FGSC-۴۳۳۵) در شرایط کاملا عاری از آلودگی انجام پذیرفت. برای این کار با یک میله سیمی حلقه‌دار ضدعفونی شده مقداری قارچ از محیط کشت جامد برداشته و در محیط کشت مایع در ارلنها تلقیح شد. سپس، ارلنها درون انکوباتور چرخشی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. پس از ۸ روز رشد قارچ، مایع‌رویی با استفاده از صافی شیشه‌ای متخلخل با اندازه روزنه ۱۰ μm جداسازی شد. توده باقیمانده قارچ به اتوکلاو گرم منتقل شد.

مایع رویی، حاوی سلولاز ترشح شده از قارچ، برای تعیین فعالیت آنزیمهای سلولولیتی و میزان کل پروتئین آن مورد سنجش قرار گرفت. از این محلول برای انجام عمل زیست‌پرداخت استفاده شد.

روش عمل‌آوری پارچه با سلولاز

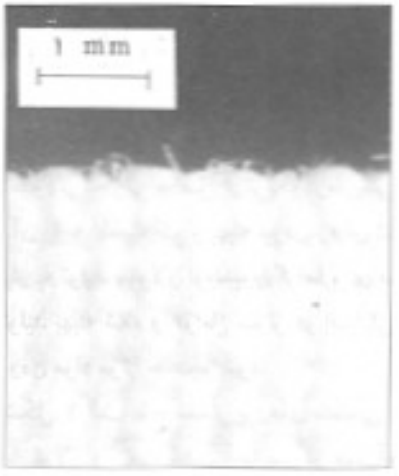
نمونه‌های پارچه مطابق روشهای معمول آهارزدایی و سفیدگری شد. سپس، پارچه‌ها در شرایط محیط خشک و وزن آنها در ۱۱۰ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد.

برای عمل‌آوری، ابتدا ۲۰۰ میلی‌لیتر از مایع سلولاز نورسپورا کراسای تهیه شده با ۸۰۰ میلی‌لیتر بافر استات ۰/۱۲ مولار با pH برابر ۵ مخلوط و به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و از آن به عنوان محلول آنزیمی برای عمل‌آوری پارچه پنبه‌ای استفاده شد. مدت زمان



(الف)

(ب)



(ج)

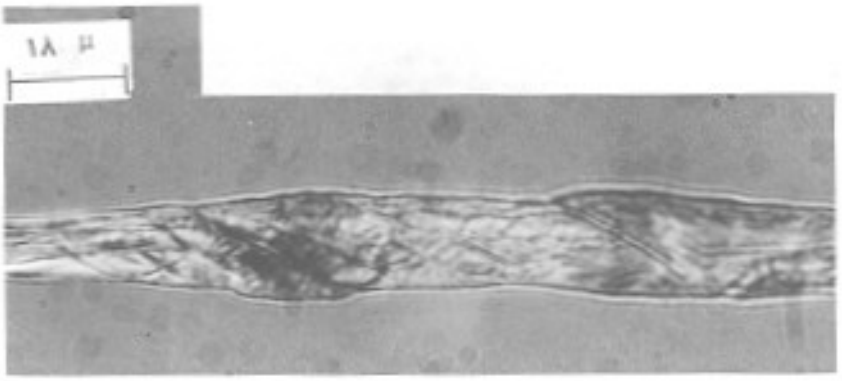
شکل ۱- نمای جانبی سطح پارچه: (الف) پیش از عمل‌آوری، (ب) پس از عمل‌آوری با سلولاز نورسپوراکراسا و (ج) پس از عمل‌آوری با سلولاز تریکودرماریسی.

عمل‌آوری ۲ تا ۵ ساعت بود و حجم محلول سلولاز نورسپوراکراسا به وزن پارچه ۵۰ به ۱ و دمای عملیات ۵۰ درجه‌سانتیگراد بود. این عملیات در دستگاه تکان دهنده لینی تست انجام گرفت. در آزمایشهای مشابه از سلولاز تریکودرماریسی (محلول ۳٪ نسبت به وزن کالا) استفاده شد.

پس از پایان عملیات برای کاستن با متوقف ساختن فعالیت آنزیمها، پارچه به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفت. سپس، نمونه‌ها در شرایط محیط خشک و وزن آنها در ۱۱۰ درجه سانتیگراد معین شد و در آزمایشهای بعدی بکار گرفته شد.

نتایج و بحث

مشخصات آنزیم سلولاز نورسپوراکراسا در جدول ۱ داده شده است. برای مشخص کردن فعالیت ویژه آنزیمها، پروتئین کل طبق روش



شکل ۲ - شکاف و ترک الیاف پنبه عمل‌آوری شده با سلولاز نورسپورا کراسا.

برادفورد اندازه‌گیری شد. نسبت مجموع فعالیتها به میزان پروتئین کل مشخص کننده خلوص آنزیم تهیه شده است که رضایت‌بخش است.

کاهش وزن نمونه‌های پارچه پس از ۲ و ۵ ساعت عمل‌آوری با سلولاز نورسپورا کراسا برابر مقادیر ۱ و ۲ درصد بود که ناشی ازجداشدن الیاف سطحی پارچه است. این کاهش وزن در مورد چهار نمونه اندازه‌گیری شد.

نتایج نشان می‌دهد که سلولاز نورسپورا کراسای مصرفی بخوبی توانسته است کاهش وزن لازم را در پارچه ایجاد کند. زمان عمل‌آوری در مقایسه با سلولاز تجارتی حاصل از تریکودرماریسی طولانی‌تر است که می‌توان آن را به غلظت کم و بهینه نبودن روش تولید نسبت داد. درصورت نیاز به تولید سلولاز نورسپورا کراسا برای مصارف صنعتی، باید روش تولید بهینه شده و عوامل موثر در افزایش میزان تولید و روشهای افزودن مواد موثر جستجو شود.

در شکل ۱ الف تا ج مقدار پرزهای سطحی به ترتیب پیش از عمل‌آوری باسلولاز و کاسته شدن آنها پس از عمل‌آوری با سلولاز نورسپورا کراسا و سلولاز تریکودرماریسی نشان داده شده است. عکسها از پرزهای برخاسته از پارچه گرفته شده است. پرزهایی که در پارچه عمل‌آوری نشده وجود دارد، پس از عمل‌آوری با هر دو نوع سلولاز بطور یکسان و به کلی از بین رفته است.

سلولاز، ابتدا روی الیاف پنبه آزاد که به صورت پرز وجود دارند اثر می‌کند. در نتیجه، کاهش پرزهای سطحی درپارچه عمل‌آوری شده به خوبی ملاحظه می‌شود. این عمل سلولاز حاصل از نورسپورا کراسا درست همانند عمل سلولاز حاصل از تریکودرماریسی است. بنابراین، به نظر می‌رسد که در محلول حاصل از نورسپورا کراسا عوامل موثر بر زیست‌پرداخت پارچه به اندازه زیاد وجود دارد.

سلولاز نورسپورا کراسا، مانند سلولاز تریکودرماریسی، علاوه بر پرزهای سطحی، روی الیاف درونی بویژه شکستگیهای الیاف پنبه نیز اثر می‌کند. درنتیجه، ترک و شکستگیها افزایش می‌یابد و استحکام پارچه کاهش پیدا می‌کند. این گونه شکاف و ترکها در الیاف عمل‌آوری شده با سلولاز تریکودرماریسی نیز ایجاد شده است. شکل ۲ تصویر میکروسکوپی الیافی است که تحت تاثیر سلولاز نورسپورا کراسا قرار گرفته‌اند.

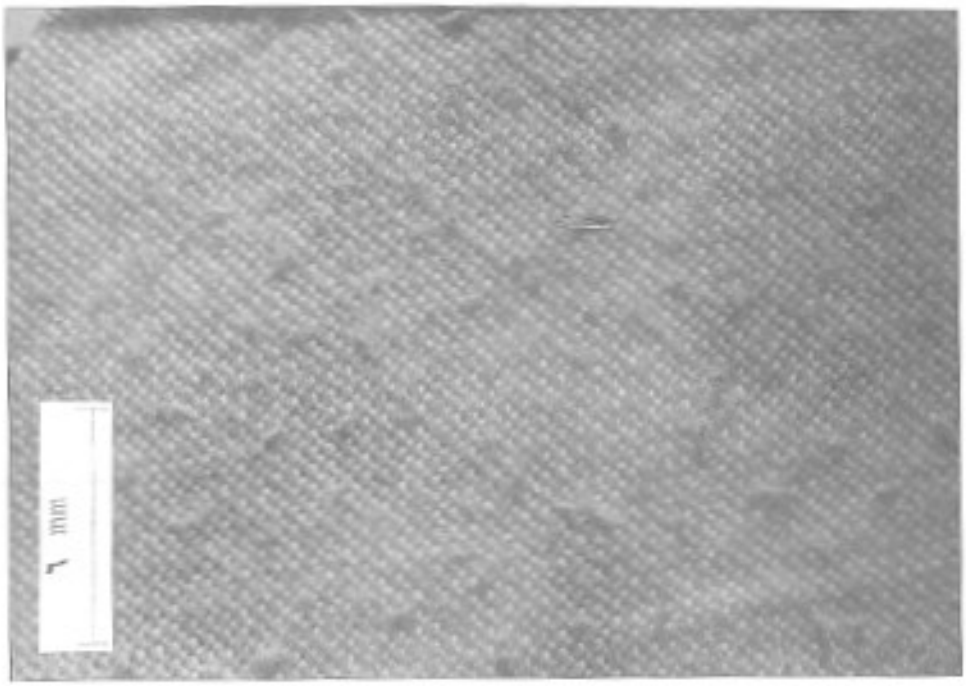
نتایج حاصل از آزمایش پرزدهی پارچه‌های عمل‌آوری شده و عمل‌آوری نشده پیش از شستشو و پس از آن در جدول ۲ آمده است. میزان پرزدانه‌های سطحی مطابق استاندارد SN ۱۹۸۵۲۵ [۳]

جدول ۱ - مشخصات آنزیم سلولاز بدست آمده از نورسپورا کراسا با میزان پروتئین کل اندازه‌گیری شده ۱۰۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر.

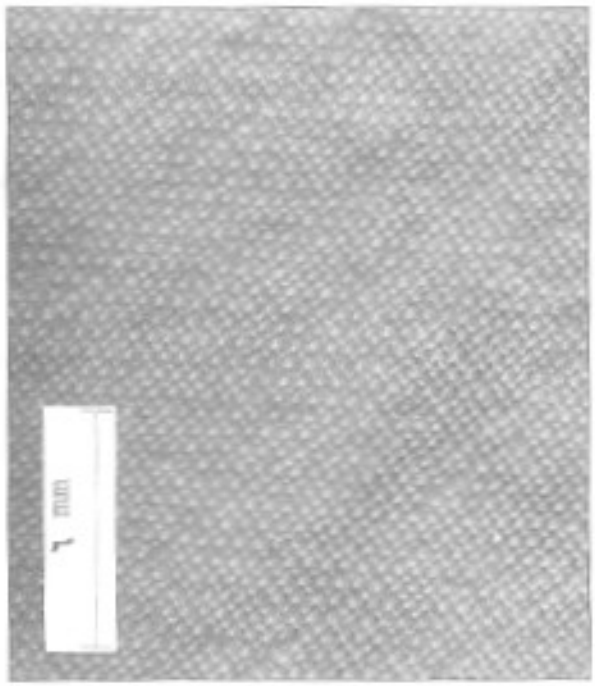
نوع آنزیم	اندوگلوکاناز	اگزوگلوکاناز	بتاگلوکوزیداز
میزان فعالیت (IU/ml)	۴۶	۲/۴	۱/۳

جدول ۲ - مقایسه نتایج حاصل از آزمایش پرزدهی روی پارچه عمل‌آوری شده با دو سلولاز نورسپورا کراسا و تریکودرماریسی.

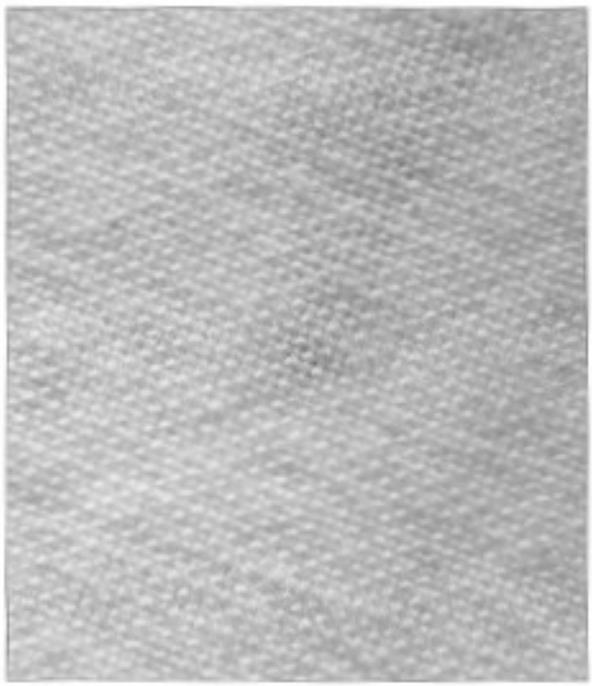
نمونه	تعداد دور سایش		
	۱۲۵	۵۰۰	۲۰۰۰
	نتایج آزمون پرزدهی		
شاهد	۳/۵	۳	۲/۵
عمل‌آوری شده با:			
سلولاز تری کودرماریسی	۵	۵	۵
سلولاز نورسپورا کراسا	۵	۵	۵
	پس از دو ساعت شستشو		
شاهد	۳	۲/۵	۲
عمل‌آوری شده با:			
سلولاز تری کودرماریسی	۵	۵	۵
سلولاز نورسپورا کراسا	۵	۵	۵



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۳ - اثر عمل‌آوری بر قابلیت ایجاد پرزدانه در سطح پارچه: (الف) پیش از عمل‌آوری، (ب) پس از عمل‌آوری با سلولاز نورسپوراکراسا و (ج) عمل‌آوری شده با سلولاز تری‌کودرماریسی.

اندازه‌گیری شده است و نتایج آن در جدول ۲ آمده است. مطابق این استاندارد عدد ۱ نشان دهنده بیشترین پرزدانه و شماره ۵ نشانه نبود پرزدانه است.

بطوری‌که از جدول ۲ پیداست، پرزدانه‌های سطحی در پارچه عمل‌آوری شده بشدت از بین رفته است. اثر هر دو آنزیم پایدار است، بطوری که پس از شستشو در پارچه عمل‌آوری نشده پرزدانه‌ها افزایش یافته است، اما در سطح پارچه‌ای که با سلولازها عمل‌آوری شده، پرزدانه بوجود نیامده است.

شکلهای ۳ الف تا ج به ترتیب سطح پارچه‌های عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با آنزیم سلولاز نورسپوراکراسا و تریکودرماریسی (پس از آزمایش ایجاد پرزدانه) را نشان می‌دهد. هر سه نمونه پارچه به مدت دو ساعت در ماشین لباسشویی شستشو شده و در دستگاه مارتین دیل با ۲۰۰۰ دور مورد سایش قرار گرفته‌اند. سپس، عکسهایی مانند شکلهای ۳ از آنها تهیه شده است. بدین‌ترتیب، می‌توان‌نتیجه گرفت که عمل آنکافت آنزیمی بطور قابل ملاحظه‌ای از تمایل به ایجاد پرزدانه در سطح پارچه می‌کاهد و به صورت یک خاصیت دائمی در پارچه باقی می‌ماند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از آزمایشهای انجام شده با استفاده از آنزیم سلولاز تولید شده از قارچ نورسپوراکراسا معلوم می‌شود که این آنزیم توانایی برطرف کردن پرزهای سطحی و کاهش تمایل به ایجاد پرزدانه را دارد که این خاصیت در پارچه‌های عمل‌آوری شده با این آنزیم پایدار می‌ماند. استفاده از قارچ نورسپوراکراسا، به علت وجود این قابلیت باید مورد توجه بیشتری قرار گیرد و روش تولید آن بهینه‌سازی شود.

مراجع

۱ - گودرزی غلامرضا، حقیقت‌کیش محمد، طباطبائی یزدی سیدمجتبی، سلحشور کردستانی سهیلا، مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، سال نهم، شماره سی‌ویکم، صفحه ۵، بهار ۱۳۷۵.

2 Asferg L. O. and Videbaek T.; *Int. Text. Bull.*; 5-8, Feb. 1990.

3 Pedesen G. L., Screws JR. G. A. and Cedroni C. M.; *Can. Text. J.*; 31-35, Dec. 1992.

4 Hempel W. H.; *Int. Text. Bull.*; 5-14, March 1991.

5 Bazin J. and Sasserod S.; *Text. Praxis Int.*; 972-975, Oct. 1992.

6 Almedia L. and Cavaco-Paulo A.; *Textilberichte;* **74**, 5, 404-407, 1993.

7 Finch P. and Roberts J. C.; *Cellulose Chemistry and It's Application*; Nevell T. P. and Seronian S. H. (Eds.); Ellis Horwood, London, 1987.

8 Enari T. M. and Markkanen P.; *Advances in Biochemical Engineering*; Springer-Verlag, Berlin, 5,1-24, 1977.

9 Yazdi M. T., Woodward J. R. and Radford A.; *Enzyme Microbiol. Tech.*; **12**, 116-119, 1990.

10 Fan L. T. and Lee Y. H.; *Advances in Biochemical Engineering*; Flechter A. (Ed.); Springer-Verlag, Berlin, 17, 101-129, 1980.

11 Yazdi M. T., Woodward J. R. and Radford A.; *J. General Microbiol.*; **16**, 1313-1319, 1990.

12 Yazdi M. T., Radford A., Keen J. N. and Woodward J. R.; *Enzyme Microbiol. Tech.*; **12**, 120-123, 1990.

13 Rhodes C., Germershausen J. and Susleind S. R.; *Methods in Enzymology*; Academic, **22**, 81, 1971.