

Enzymen in wasmiddelen

door dr. Wolfgang Aehle

Genencor International b.v., R&D, Postbus 642, 2600 AP Delft

1.	Inleiding	152- 3
2.	Historische ontwikkeling	152- 3
3.	Proteasen	152- 4
4.	α -Amylase	152- 5
5.	Cellulase	152- 6
6.	Lipase	152- 7
7.	Milieu- en veiligheidsaspecten	152- 8
8.	Conclusie	152- 9
9.	Literatuur	152- 9

1. Inleiding

Het wassen van kleding en vaatwerk kost de bevolking van de meeste geciviliseerde maatschappijen zeer veel tijd. Het is daarom niet verwonderlijk dat men sinds eeuwen probeert hulpmiddelen te ontwikkelen die het wasproces zo makkelijk mogelijk maken.

Oorspronkelijk gebruikte men alleen een combinatie van zuiver water en een krachtige mechanische bewerking van het wasgoed om te wassen. In prehistorische tijden werden al soda en een zeep van plantaardige oorsprong als washulpmiddel toegepast. Rond 1700 werd echte zeep, meestal van dierlijke oorsprong als wasmiddel geïntroduceerd. Begin deze eeuw volgde de toepassing van synthetische oppervlakte-actieve stoffen (surfactants) en bleekmiddelen. In moderne wasmiddelen zitten ook stoffen (builders), die de waterhardheid voor de optimale werking van het wasmiddel instellen. Enzymen vormen één van de actieve wasmiddelbestanddelen. Alhoewel hun concentratie minder dan één procent is, hebben zij toch een zeer duidelijk effect op de waswerking.

Enzymen zijn over het algemeen werkzaam tegen één soort verontreiniging. Om deze reden worden momenteel in wasmiddelen verschillende enzymen ingezet.

2. Historische ontwikkeling

Proteasen zijn de eerste enzymen die in wasmiddelen geïntroduceerd werden. Het eerste enzymbevattende wasmiddel Burnus, dat in het jaar 1913 in Duitsland op de markt verscheen, bevatte trypsine als eiwitafbrekend enzym.

Na de introductie van trypsine, een zeer specifieke protease met een activiteitsoptimum in het neutrale gebied, begon men naar proteasen met een bredere substraatspecificiteit te zoeken. Bovendien zou de nieuwe protease ook onder de traditioneel alkalische condities van het wasproces actiever moeten zijn dan trypsine. Dit resulteerde in 1959 in de introductie van subtilisine proteasen. Subtilisines (of subtilisine proteasen) zijn alkalische proteasen van bacteriële oorsprong. Zij worden nog steeds in wasmiddelen toegepast. Gebruik van subtilisines in wasmiddelen is een schoolvoorbeeld van een toe-

passing waarin enzym en formulering optimaal op elkaar zijn afgestemd.

In de jaren '80 maakte de toepassing van moderne genetische methoden in de biotechnologie het mogelijk om de enzymen nog beter op de ingrediënten van de wasmiddelen af te stemmen. Het waseffect van de enzymen werd daardoor verbeterd. Tegenwoordig worden alle enzymen voor gebruik in wasmiddelen met behulp van genetisch gemodificeerde microorganismen gemaakt. Als gevolg van de hoge productiviteit van deze microorganismen zijn enzymen nu aanzienlijk goedkoper dan vroeger.

Tabel 1. *Het hedendaagse gebruik van enzymen in vaat- en machinewasmiddelen*

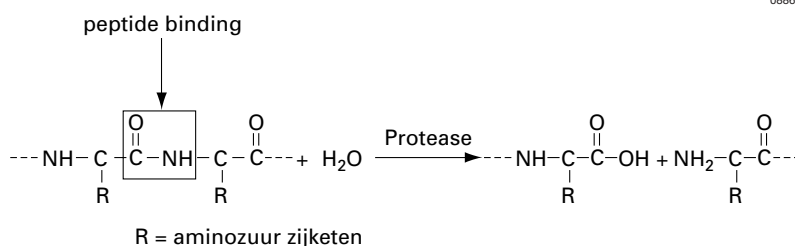
Enzym	Vaatwasmiddel	Machinewasmiddel
α -Amylase	+	+
Cellulase	-	+
Lipase	-	+
Proteasen	+	+

3. Proteasen

Proteasen zijn enzymen die de hydrolyse van peptidebindingen in eiwitten katalyseren (zie figuur 1). Eiwitten zijn een hoofdbestanddeel van verschillende vlekken, die in het dagelijkse leven op onze kleding kunnen belanden. Zo zitten eiwitten uiteraard in eieren, maar ook in bloed of in vlekken van melk en melkproducten. De werking van proteasen berust op het afbreken van het eiwit in deze vlekken, waardoor zij loskomen van de kleding. Onderzoek heeft uitgewezen dat géén ander ingrediënt in staat is eiwithoudend vuil zo goed te verwijderen. Proteasen worden daarom als essentiële wasmiddelingredienten beschouwd.

Proteasen worden onderverdeeld op basis van hun aangrijpingspunt op het eiwitpolymeer. Bovendien hebben de verschillende proteasen een voorkeur (specificiteit) voor bepaalde aminozuren rond de knipplaats. Deze specificiteit heeft te maken met de lading, polariteit en/of de grootte van de aminozuren die de knipplaats omgeven.

In wasmiddelen worden vandaag de dag alleen serine proteasen van het subtilisine type toegepast. Zij hebben een zeer breed substraat-



Figuur 1. Hydrolyse van peptidebindingen door proteasen.

spectrum, zijn zeer stabiel en hebben bij lagere temperatuur een goede waswerking tot in het hoogalkalische gebied. Naast drie types „natuurlijke” subtilisines worden intussen ook gemodificeerde subtilisines toegepast.

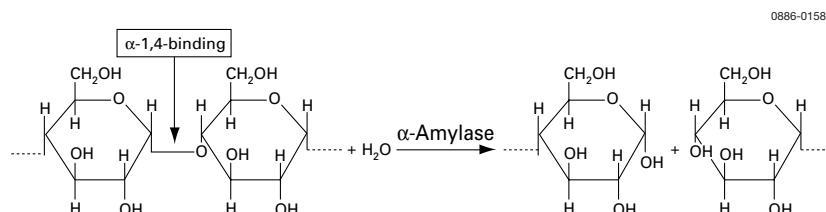
In bleekhoudende wasmiddelen hebben de „natuurlijke” proteasen een minder goede waswerking. Het bleekmiddel oxideert namelijk het zwavelatoom van het naast het actieve centrum gelegen aminozuur. In geoxideerde vorm is het actieve centrum zodanig veranderd, dat het enzym zijn katalytische werking bijna verliest. Door vervanging van dit methionine door een ander aminozuur werd dit probleem opgelost.

Ten tweede werd door „proteïne engineering” een nieuwe protease-variant gemaakt, die bij lage temperaturen een hogere wasactiviteit heeft dan het oorspronkelijke enzym. Deze variant wordt met name in Azië en Zuid-Amerika toegepast, waar men met koud (4-20 °C) water wast.

4. α -Amylase

α -Amylasen (1,4- α -D-glucan-glucanohydrolase) katalyseren de hydrolyse van bindingen tussen de glucosemoleculen, die het natuurlijke polymeer zetmeel vormen (zie figuur 2). Zetmeel bestaat uit twee componenten: het lineaire amylose en het vertakte amylopectin.

Het waseffect van α -amylasen berust op het afbreken van het in vlekken aanwezige zetmeel. Zetmeel is een hoofdbestanddeel van talrijke voedingsmiddelen zoals chocolade, pudding, pap, aardap-

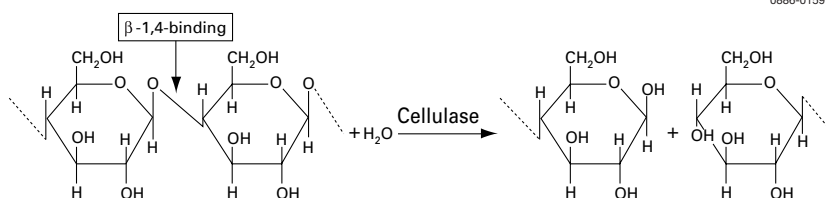


Figuur 2. Hydrolyse van glucosebindingen in zetmeel.

pelpuree of sausen. Met name in machinevaatwasmiddelen, waar het effect van intensieve mechanische bewerking ontbreekt, zijn α -amylasen van groot belang. Mede door de toepassing van α -amylase werd het mogelijk om de watertemperatuur in vaatwassers en het looggehalte in de loop der jaren sterk te verlagen. Naast proteasen zijn intussen ook α -amylasen op de markt, die door „protein engineering” tegen bleekmiddelen gestabiliseerd zijn.

5. Cellulase

Cellulasen splitsen de β -1,4-D-glucose bindingen in cellulose, het meest voorkomende biopolymeer op aarde (zie figuur 3). In de natuurlijke omgeving komt cellulose meestal in combinatie met lignine, hemicellulose of pectine voor. Bij de productie van katoen, dat voor 100% uit cellulose bestaat, worden deze componenten verwijderd. Er zijn drie typen cellulasen: endo-glucanasen katalyseren de hydrolyse in het amorfe gedeelte van de vezels, cellobiohydrolasen splitsen cellulosefibrillen vanuit de niet-reducerende suikerkant en β -glucosidasen gebruiken cellobiose en cellootriose als substraat. Complete cellulasen bevatten deze drie functionaliteiten en worden onder andere in de textielindustrie gebruikt om katoen te bewerken. In wasmiddelen daarentegen worden meestal endo-glucanasen toegepast. Bij de vlekverwijdering hebben zij slechts een ondersteunende werking, die onafhankelijk van het type vlek is. De grootste waarde van cellulasen zit in het onderhoud van het (katoenen) weefsel. Cellulase hebben een verzachtend effect op het wasgoed door het verwijderen van kleine vuildeeltjes tussen de cellulose fibrillen, die het wasgoed stug laten voelen. Zeer belangrijk is het kleurbehoudende effect van cellulase. Door het afbreken van zeer kleine



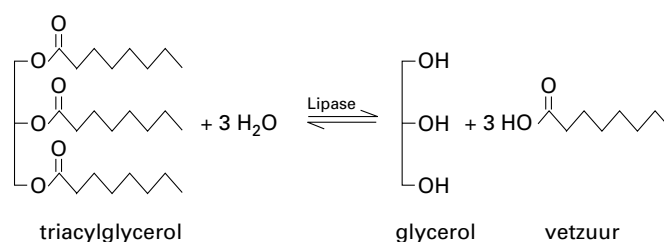
Figuur 3. Splitsing van β -1,4-D-glucose bindingen in cellulose.

vezels op het oppervlak van gebruikt katoen wordt het invallende en gereflecteerde licht minder verstrooid en lijken de kleuren van gekleurd katoen, dat regelmatig met cellulasen wordt gewassen, frisser. Cellulasen verwijderen bovendien pluisjes die bij het gebruik van katoen aan het oppervlak van het weefsel ontstaan. Ook dit effect is op het afbreken van kleine vezels terug te voeren, die de pluisjes aan het textiel vasthouden. Het is te verwachten dat voor het onderhoud van wasgoed in de toekomst meer van dergelijke enzymen ontwikkeld zullen worden.

6. Lipase

Lipasen katalyseren de hydrolyse van triacylglycerolen (lipiden) in vrije vetzuren en glycerol (zie figuur 4). Lipiden vindt men niet alleen in voedingsmiddelen zoals tomatensaus, boter of olie, maar ook in cosmetica en in de vlekken die door het menselijk lichaam op kraag, manchet en het onderarmgebied van onze kleding gebracht worden. Omdat lipiden niet wateroplosbaar zijn, zijn deze vlekken met wasmiddelen moeilijk te verwijderen. Door de lipasewerking ontstaan echter uit de wateronoplosbare lipiden, de wateroplosbare vetzuren en glycerol.

Bij de invoering van de eerste lipase in 1987 in de detergentindustrie, waren de verwachtingen hoog gespannen. Echter, heel snel bleek, dat lipasen meerdere wascycli nodig hebben, om een vethoudende vlek goed te verwijderen. Dit fenomeen kreeg de naam „Multi Cycle Effect”. Bovendien leidde het gebruik van lipasen incidenteel tot een zeer onaangename geur van het wasgoed. Deze twee effecten en het feit dat de lipasewerking sterk van de wasmiddelcompositie afhangt en dat surfactants in principe ook in staat zijn vet van het wasgoed



Figuur 4. Hydrolyse van triacylglycerol.

te verwijderen, hebben ertoe geleid dat het gebruik van lipasen in wasmiddelen intussen weer afneemt.

7. Milieu- en veiligheidsaspecten

Omdat enzymen effectiever zijn dan de traditionele wasmiddelingrediënten, werd het na verloop van tijd mogelijk om de temperatuur van het wasproces steeds verder te verlagen zonder dat de waswerking achteruit ging. Mede door het gebruik van enzymen is daarom het energieverbruik tijdens het wasproces sterk gedaald.

Voor wasmiddelenzymen met een hoge waswerking kan daarnaast gesteld worden dat deze niet wezenlijk verschillen van natuurlijke enzymen. Zij zijn net zo goed afbreekbaar als ieder ander proteïne in de natuur en gezien de lage concentratie in wasmiddelen is hun aandeel in de afvalstroom te verwaarlozen.

Een mogelijk probleem is de potentiële allergeniteit van enzymen. Door de lage concentraties heeft de gebruiker echter weinig contact met wasmiddelenzymen, hetgeen wellicht verklaart waarom er bij gebruikers geen gevallen van wasmiddelenzymallergie bekend zijn. Allergeniteit van wasmiddelenzymen was echter in de beginjaren een probleem in wasmiddelfabrieken, waar medewerkers tijdens de wasmiddelproductie in contact kwamen met enzymstof. Bij de oorspronkelijke productie van wasmiddelen kwam door de nodige mechanische handelingen veel enzymstof vrij. Intussen zijn de enzymformuleringen nagenoeg stofvrij. De enzymen zijn dusdanig geformuleerd dat de enzymlaag omgeven is door een mechanisch zeer stabiele beschermlaag, die pas in de wasmachine van de consument

oplost. Daarnaast zijn in de fabrieken adequate gezondheids- en veiligheidsprogramma's geïmplementeerd. Deze omvatten o.a. uitgebreide scholing van het personeel, aanpassingen aan de apparatuur om het vrijkomen van stof te voorkomen (bv. gesloten systemen) en het continue monitoren van stof- en enzymconcentraties in de lucht.

8. Conclusie

Naast de selectiviteit van enzymen, die zich op de vlekken richten zonder het wasgoed aan te tasten, is de drijfveer van enzymtoepassing met name de mogelijkheid om minder water en minder energie bij het machinale wassen van de vaat en de kleding te gebruiken. Tegenwoordig worden vier verschillende enzymfunctionaliteiten in wasmiddelen toegepast. Met uitzondering van cellulasen katalyseren zij de hydrolyse van natuurlijke bestanddelen van vlekken op vaatwerk en kleding. Uit de octrooiliteratuur blijkt dat de enzymen wasmiddelfabrikanten op zoek zijn naar andere enzymfunctionaliteiten zoals de oxidasen, die gekleurde vlekken verwijderen.

9. Literatuur

- *Safety aspects of Enzymes Produced by Genetically Modified Micro-Organisms*, The Association of Manufacturers of Fermentation Enzyme Products, Avenue de Cortenbergh 172, B-1040 Brussels, Belgium, Tel.: +32-2-7358170.
- *Tussen wasmand en afdruiprek*, 128 blz., uitgave Chemiewinkel, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam, 1994. ISBN: 90-71672-15-8.
- *De grote schoonmaak totaal vernieuwd*, 172 blz., uitgave Chemiewinkel, Universiteit van Amsterdam, 1994. ISBN: 90-71672-14-x.
- *Enzymes in Detergency*, 389 blz., J.H. van Ee, O. Misset, E.J. Baas (Ed.), Marcel Dekker, New York, 1997, ISBN: 0-8247-9995-x.