

O. KIRRET, H. HEINLO

VILLAKIU KAHJUSTUSTE HINDAMINE TRÜPSIINI JA KÜMOTRÜPSIINI ABIL

O. KIRRET, H. HEINLO. ПРИМЕНЕНИЕ ТРИПСИНА И ХИМОТРИПСИНА ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ШЕРСТЯНЫХ ВОЛОКОН

O. KIRRET, H. HEINLO. TRYPSIN AND CHYMOTRYPSIN AS ESTIMATORS OF DAMAGES OF WOOL FIBRES

Villa, mis kuulub keratiinide ehk sklereoproteiinide rühma, võib vaadelda kui kõrgmolekulaarset moodustist. Ta koosneb täielikult proteiinist (mitteproteiinseid lisandeid on kuni 1%)^[1]. Villa iseloomustab suur väävlisisaldus, mis on peamiselt tingitud tsüstiinist (10—14%). See põhjustab villa halva lahustuvuse vees ja hapetes, püsivuse ja inertsuse orgaaniliste solventide ning vastupidavuse proteolüütiliste ensüümide suhtes^[2].

Villa primaarse struktuuri iseärasuseks on tsüsteiini HS-rühmade tekitatud rohkearvulised disulfiidsidemed (S-S-sidemed) peptiidiahelate vahel. S-S-sidemete lõhustamine muudab villa keratiini lahustuvaks ja ensüümide toimele kättesaadavaks^[3].

Käesolevas töös on uuritud proteolüütiliste ensüümide — trüpsiini (T) ja kumotrüpsiini (KT) — kasutamise võimalusi villa kvaliteedi hindamisel. Nende ensüümide manulusel hüdrolüüsiti erineva päritolu ja töötusega villa.

Tabel 1

Analüüsitud vill

Proovi tähis	Proovi iseloomustus	Päritolu	Saamiskoht
I	segavill «Džambul», eelnevalt pestud	kodumaine (Kesk-Aasia)	Vabrik «Keila»
II	segavilla «Džambul» heie	kodumaine (Kesk-Aasia)	Vabrik «Tekstiil»
III	villalint, peenvill	kodumaine	Moskva Kammvillakombinaat
IV	modifitseeritud vill (7,5% nailonit), vanumiskindel	kodumaine	„
V	töötlemata vill	kohalik	TA EBI, Harku
VI	värvitud lõng, peenvill	kodumaine	Sindi 1. Detsembri nim. vabrik
VII	värvimata lõng, pooljäme vill	import	„
VIII	värvitud lõng, peenvill	Jaapani	Trikotaazitootmiskoondis «Marat»
IX	värvitud lõng, peenvill	Prantsusmaa	„
X	värvitud lõng, peenvill	Belgia	„

Esmakordselt rakendas T-d ensümaatilise hüdrolüüsi agendina kiudainete analüüsi metoodikas O. Kirret juba 1940. a. [4]. Sellest alates on T-d kasutatud tehnikult toodetud valkkiudude (kaseiinvill) ja villa ning mitmekomponendiliste kiudude segude analüüsimisel Saksa FV-s, Itaalias, Sveitsis, Austrias jm. [5-7]. Menetlus on esindatud ka Saksa FV kiudude analüüsi DIN-normides [8].

KT osas andmed analoogilise rakenduse kohta seni puudusid. Seetõttu pakkus käesolevas töös suurt huvi täpsustada T ja selgitada KT kui aktiivse proteolüütilise ensüümi kasutamise võimalusi valkkiudude analüüsimisel.

Metoodika

Hüdrolüüsimisel kasutati reagentidena kodumaiseid T- ja α -KT-preparaate (Olaïne tehas). Uuritud villa andmed on toodud tabelis 1. Kõiki proove (v. a. VIII—X) ekstraheeriti CCl_4 -ga 5 tunni kestel. Enne seda pesti eriti määratud proove soojas kraanivees pesuseebiga (proovid I, V, VI, VII).

Kõigil juhtudel võeti analüüsiks 0,5 g eelnevalt ekstraheeritud, temperatuuril 105 °C kuivatatud ning 5 mm pikkusteks tükkideks lõigatud ja hästi kiududeks lahutatud villast lõnga või villa.

T-(~KT)-lahuse valmistamiseks võeti 100 ml toatemperatuuril olevat destilleeritud vett, milles lahustati 0,3 g NaHCO_3 . Saadud lahusest (pH 8,2) valmistati 0,2%-line ensüümilahus. Iga proovi hüdrolüüsiks kasutati 20 ml värskelt valmistatud lahust. Uuritavad proovid pandi laiakaelalistesse 200-ml-tesse kolbidesse ja asetati kolmekaupaga (igast proovist kolm paralleelkatset) 2 tunniks termostaati (temperatuur 35,5°). Pideva segamise tagamiseks kinnitati kolvid termostaadi vesivannis asetseva statiivi külge, mis ühendati loksutajaga. Hüdrolüüsi lõppedes valati kolbide sisu klaasfiltritiiglitesse (XY-1, poorsus 100) ning pesti külma, kuuma ja külma destilleeritud veega. Sellele järgnes proovide kuivatamine 5 tunni kestel temperatuuril 105°. Proove kaaluti iga 70 minuti järel (kuni püsiva kaaluni). Enne kaalumist asetati proovid 20 minutiks eksikaatorisse. Täpsemate tulemuste saamiseks viidi püsiva kaaluni ka kasutatud klaasnõud — kolvid ja klaasfiltritiigid.

Kirjelatud protseduuride tulemusena leiti uuritava villa kaoprotsent: algproovi kaalutis — hüdrolüüsitud proovi kaalutis = villa kaalukadu.

Uurimistulemused ja arutelu

Tabelis 2 esitatud andmetest selgub, et villa ensümaatilise töötlemise järel esines villakiu kaalukadu kõigil analüüsitud proovidel. T toimel oli see märgatavalt suurem kui KT kasutamisel, kusjuures saadud tulemused olid omavahel katsevea piirides kooskõlas. Enamiku proovide (III—X) kaalukadu oli ligikaudu ühesugune. Märgatavalt erinevad tulemused saadi proovide I, II ja V töötlemisel: proove I ja II iseloomustab maksimaalne, proovi V minimaalne kaalukadu. Nimetatud proovide päritolu ja ensümaatilisele hüdrolüüsile eelnenud töötlemist silmas pidades võib väita, et kaalukao suurus peegeldab villakiu degradatsiooni astet, mis sõltub tehnoloogilise režiimi rikkumisest või korrektsest täitmisest villa töötlemise teatud etapil.

Tabelist 2 selgub, et kõik KT-ga saadud tulemused kordavad T abil saadud tulemusi, ainult kaalukadu on 60—150% võrra väiksem. Asjaolu, et uurimiseks kasutatud villakiud on KT toimele vastupidavamad, teeb

perspektiivseks KT rakendamise villa- ja tehisvalkkiude sisaldavate segude analüüsil.

Katsetulemused lubavad oletada, et leeliselises keskkonnas T ja KT manulusel tehtud ensümaatilise hüdroolüüsi võimaldab otsustada analüüsitava proovide kvaliteedi üle. Mida suuremad on villakiu kahjustused (s. o. muudatused struktuuris ja füüsikalises-mehaanilistes omadustes), seda intensiivsem on proteoolüütiliste ensüümide toime neisse ja seda suurem villa kaoprotsent.

Eksperiment näitas, et uuritavate proovide hüdroolüüsi kestus (2 tundi) on täiesti piisav selleks, et registree-rida villakiududes T või KT toimel tekkinud erinevusi. Näiteks kaotas «Džambuli» vill ühetunnisel hüdroolüüsil T-ga 7,5% kaalust. Nimetatud proovi kordushüdroolüüsi (kokku 4 tundi) andis kaoprotsendi juurdekasvu vaid 1,8%. Hüdroolüüsi kestuse pikendamine ei ole otstarbekohane, sest autolüüsi tagajärjel nõrgeneb ensüümi (T, KT) toime pidevalt.

Lisaks eeltoodule peab mainima, et ensümaatilisel töödeldud villa mikroskoopilise, elementaar- ja spektraalanalüüsi andmeil ei ilmnenud uuritavate proovide struktuuris ja koostises mingeid märgatavaid erinevusi, võrreldes ensümaatilisel töötlemata villaga. Seega on kirjeldatud meetodikat kasutades võimalik saada täiesti reaalne ettekujutus analüüsitava villa kvaliteedist.

Tabel 2

Ensümaatilise hüdroolüüsi toime villale

Proovi tähis	Kaalukadu, %	
	T toimel	KT toimel
I A*	8,8	4,5
I B*	7,3	1,6
II	5,3	3,6
III	3,7	—
IV	3,8	—
V	2,0 (0,63)	0,73
VI	2,7	1,7
VII	4,2	1,8
VIII	3,3	2,3
IX	3,2	1,5
X	3,4	2,1

* Erinevad partiid.

KIRJANDUS

- Alexander, P., Hudson, R. F., Wool. Its chemistry and physics. London, Chapman & Hall LTD, 1954.
- Гауровиц Ф., Химия и функция белков. М., 1965.
- Химия белка. Часть 2. Избранные разделы частной химии белка под ред. проф. И. П. Аммарина. Изд. ЛГУ 1971.
- Kirret, O. Klepzig's Textil-Z., 43, II. Teil, S. 1091—1093 (1940).
- Kirret, O. Keemilised tekstiilkiudained. Tallinn, 1961, lk. 198—201.
- E. Merck AG Darmstadt, Chemische-technische Untersuchungsmethoden, 338. Weinheim, 1961.
- Ulrich, H. M. Handbuch der chemischen Untersuchung der Textilfaserstoffe. I. Band. Wien, 1954, S. 281—282.
- Deutsche Normen, DIN 54212 (1967).

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Keemia Instituut

Toimetusse saabus
8. I 1976