



Detersione enzimatica: depositi residuali di enzimi sulle superfici

Rapporto R&D

I. Introduzione

La detersione enzimatica pone l'attenzione sull'attività enzimatica residua su attrezzature e superfici dopo la pulizia. Quest'attività residua potrebbe, in effetti, agire sul flusso, la materia entra in contatto con le superfici deterse. REALCO ha già dimostrato la possibilità di inattivare gli enzimi in un circuito dopo la detersione. Questo documento presenta i risultati di un nuovo studio che ha permesso di seguire la presenza di proteine, e dunque di enzimi, sulle superfici dopo le diverse fasi di detersione. Le analisi sono state realizzate dal laboratorio (Chimica delle Interfacce) dell'UCL (Università Cattolica di Lovanio) nell'ambito del progetto di ricerca europea coordinato da REALCO: il progetto NETZYM.

II. Evoluzione dei residui enzimatici su una superficie

Indipendentemente dai risultati presentati in seguito, possiamo fare una riflessione su ciò che accade e sull'attività enzimatica che sarà ritrovata su una superficie dopo la detersione, per esempio in caso di cattivo risciacquo. Prima di tutto, da un punto di vista tossicologico, l'enzima, attivo o no, non rappresenta alcun rischio. Infatti, si tratta di una proteina e come tale, non rappresenta alcuna tossicità intrinseca. La sua introduzione in un prodotto alimentare sarebbe quindi senza rischi, l'enzima è d'altra parte impiegato nella preparazione di numerosi alimenti (pane, succhi, ecc.). Il rischio d'irritazione cutanea per gli operatori è ugualmente da escludere, e una sensibilizzazione per inalazione non rappresenta un rischio se non da un tasso di esposizione largamente superiore a quello che potrebbe ritrovarsi nei "residui della detersione". Inoltre, riguardo alle azioni sui prodotti alimentari, bisogna sapere che gli enzimi sono attivi in un ambito acquoso. Se un residuo di detersione secca su una superficie, gli enzimi che questo contiene saranno disattivati da questa essiccazione. Inoltre, gli enzimi liberi che si adsorbono* su una superficie, anche in soluzione acquosa, perderanno ugualmente la loro attività. Essendo irreversibile, la perdita d'attività (denaturazione) degli enzimi non porta alcun rischio d'interazione con i flussi/materie in contatto con le superfici.

Infine, nei sistemi chiusi e immersi in permanenza, REALCO ha dimostrato la possibilità di inattivare eventuali enzimi residuali ed evitare così ogni rischio di azione sui flussi.

* *adsorbimento: fenomeno di superficie attraverso il quale le molecole di gas o di liquidi si fissano sulle superfici solide.*



III. Modo operatorio

L'analisi della composizione degli elementi di superficie è realizzata per spettrometria di fotoelettroni a raggi X o XPS. L'XPS fornisce informazioni qualitative e quantitative sugli elementi presenti su di una superficie in una soglia da 1 a 10 nanometri. L'XPS permette così di studiare fenomeni d'interfaccia come l'adsorbimento o l'adesione.

Il campione è irradiato da un fascio di raggi X d'energia conosciuta. I raggi X provocano la ionizzazione per espulsione dei fotoelettroni degli atomi. Si misura dunque l'energia cinetica di questi fotoelettroni. L'apparato registra lo spettro delle energie cinetiche emesse degli elettroni. Esso rappresenta il numero di elettroni individuati in funzione della loro energia di legame. Dalle energie di legame è possibile identificare gli elementi e il tipo di legame tra gli elementi. I rapporti tra i diversi tipi di legame permettono di identificare la natura delle molecole presenti sulla superficie.

Il test di detersione è realizzato su due tipi di superfici rappresentative: una superficie idrofoba*, il polistirene (PS), e una superficie idrofila**, il vetro. Abbiamo impiegato pezzi da 8x10. Il prodotto di detersione di REALCO, DEGRES-L è stato applicato per immersione totale dei pezzi in una soluzione all'1% di DEGRES-L in agitazione orbitale da 50 rpm a temperatura ambiente per 40 minuti.

Le superfici sono in seguito sciacquate per immersione per 30 s in acqua milliQ (acqua distillata), corrispondente ad un risciacquo leggero, ed asciugate con un flusso d'azoto.

Nella prima serie di analisi, sono state impiegate superfici pulite, al fine di analizzare esattamente i fenomeni di adsorbimento degli enzimi sulle superfici. Nella seconda serie di analisi, sono state impiegate superfici unicamente in vetro, sporche di depositi di amido al fine di simulare la detersione delle superfici sporche. L'acqua è utilizzata come riferimento "senza apporto di proteine", anche l'analisi della base detergente del prodotto "DEGRES-L" senza enzimi è stata realizzata per dimostrare l'assenza di apporto di azoto nelle misurazioni.

* idrofobo: un composto è detto idrofobo quando è solubile nei corpi grassi, ma insolubile in acqua.

** idrofilo: una sostanza o un gruppo molecolare è detto idrofilo quando ha un'affinità per l'acqua e i solventi polari.



IV. Risultati

Superfici pulite

Tabella 1 : Composizione chimica di superficie (frazione molare in %, calcolata escludendo l'idrogeno) determinata per XPS su vetro e polistirene condizionati con diverse soluzioni detergenti.

Superficie	Detersione	%C	%O	%N	%Si
Vetro	Acqua	13,6	57,2	0,5	26,9
Vetro	Degres-L senza enzimi	11,7	57,8	0,3	28,5
Vetro	Degres-L	16,7	56,1	0,2	25,1
PS	acqua	99,3	0,6	bdl	bdl
PS	Degres-L senza enzimi	99,3	0,7	0,02	0,02
PS	Degres-L	99,8	0,2	bdl	bdl

bdl : below detection limit

Abbiamo rappresentato solo i risultati per gli elementi principali, il Carbonio (C), l'ossigeno (O) e l'azoto (N), così come il Silicio (Si), elemento importante nella costituzione del vetro.

I risultati di Si e C dimostrano la pulizia delle superfici. In effetti, gli elementi costitutivi importanti, Si per il vetro, C per il PS vengono rilevati in quantità considerevoli.

La presenza di proteina è identificata dal tenore in azoto (N) e dal rapporto C/N. contrariamente ad altre molecole come i trigliceridi (grassi) o gli idrati di carbonio (zuccheri, amidi, ecc.), le proteine contengono azoto. Possiamo osservare che le superfici, vetro o PS, immerse in acqua presentano logicamente un tasso di azoto molto debole, corrispondente all'assenza di proteine. Le superfici immerse nel prodotto DEGRES-L senza enzimi hanno ugualmente risultati molto deboli, prova che la base detergente non disturba le misure. Infine, **osserviamo che le superfici pulite con DEGRES-L mostrano livelli di azoto molto deboli e comparabili a quelli osservati per l'acqua. Questo indica l'assenza di proteine, e dunque di enzimi, sulla superficie.**



Superfici incrostate

Tabella 2: Composizione chimica della superficie (frazione molare in %, calcolata escludendo l'idrogeno) determinata tramite XPS delle lamelle di vetro incrostate con amido e trattate con diverse soluzioni detergenti.

Detersione	%C	%O	%N
Acqua	47,6	43	0,2
Degres-L senza enzimi	37	47	0,3
Degres-L	22,3	52,9	0,3

Il valore in carbonio può essere rilevato a livello dell'incrostazione residuale, essendo l'amido composto di zuccheri, dunque di catene carboniose. Si costata così una miglior efficacia di deterzione della base DEGRES-L senza enzimi in rapporto all'acqua. Questa efficacia cresce ancora di più con la presenza di enzimi.

Così come per i risultati precedenti, osserviamo che le superfici deterse con DEGRES-L mostrano livelli molto bassi di azoto comparabili a quelli dell'acqua. Questo indica l'assenza di proteine, e dunque, di enzimi, sulla superficie.

V. Conclusioni

Le analisi XPS danno una valutazione molto precisa della composizione delle superfici. Se applichiamo questo metodo analitico delle superfici dopo una fase di deterzione, dimostriamo l'assenza di proteine residuali, e quindi di enzimi, sulle superfici. In assenza di enzimi residuali, non abbiamo alcun rischio d'interazione con i flussi o con i prodotti in contatto con le superfici trattate.