

A HAZAI PEKTINBONTÓ ENZIM /POLIZIM/
ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA

Doktori értekezés

Nagy József

Budapest
1971.

Diss. B 890



TARTALOMJEGYZÉK

	Oldal
BEVEZETÉS	1
1. IRODALMI BEVEZETÉS	5
1.1 A pektinek szerkezete és funkciója a növényi szövetekben	5
1.2 Pektinbontó enzimek és hatásmecha- nizmusuk	7
1.3 Az enzimhatást befolyásoló tényezők	10
1.4 Pektinbontó enzimek készítmények akti- vításának mérési módszere	12
1.5 Pektinbontó enzimek előfordulása és kereskedelmi enzimek készítmények	13
1.6 A Polizim enzim rövid gyártástechno- ológiája	14
1.7 Pektinbontó enzimek alkalmazása a gyümölcsfeldolgozó iparban	18
1.7.1 Gyümölcslevek enzimes derítése	18
1.7.2 Polizim enzim hatása a gyü- mölcsök préselési léhozamára és préselhetőségére	20
2. VIZSGÁLATI ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	22
2.0 A teszt mikroorganizmus, a vizsgált enzim és aktivitásának meghatározási módszere	24

2.1	Az <i>Aspergillus niger</i> V ₇₇₀ enzintermelését befolyásoló tenyésztési tényezők vizsgálata	26
2.1.1	<i>Aspergillus niger</i> V ₇₇₀ növekedési és enzintermelési hőoptimumának és a tenyésztési idő kimérése	26
2.1.1.1	Laboratóriumi tenyésztéses vizsgálatok	27
2.1.1.2	Üzemi tenyésztéses vizsgálatok	29
2.1.2	Kémiai adalékanyagok és a sárgarépa hatásának vizsgálata az <i>Aspergillus niger</i> V ₇₇₀ enzintermelésére	30
2.1.2.1	Laboratóriumi tenyésztések a kémiai anyagok hatásának vizsgálatára	30
2.1.2.2	A sárgarépa aktivitást befolyásoló hatásának és az optimális keverési arálynak a vizsgálata laboratóriumi körülmények között	32
2.1.2.3	Üzemi kísérletek az ammónium-szulfát és a sárgarépa <i>Aspergillus niger</i> enzintermelést növelő hatásának bizonyítására	33

	Oldal
2.2 A Polizim enzim aktivitását befo- lyásoló tényezők vizsgálata az op- timális alkalmazási technológia ki- alakításához	33
2.2.1 A Polizim enzimkészítmény pektinbontási hőoptimumának vizsgálata	34
2.2.2 A Polizim enzim Q_{10} értékei- nek meghatározása	35
2.2.3 A Polizim enzim hőinaktiváló- dása vizes oldatban	35
2.2.4 A szubsztrát pH-jének hatása a Polizim bontási sebességére	36
2.3 A Polizim enzim alkalmazása a gyü- mölcsfeldolgozó iparban	37
2.3.1 Polizim enzimes előkezelés ha- tása a gyümölcsök préselési léhozamára és a préselhetősé- gére	37
2.3.1.1 Laboratóriumi kísérletek a málna préselési léhozamának növelésére	39
2.3.1.2 Üzemi kísérletek a málna pré- selési léhozamának növelésére Polizim enzimmel	39

	Oldal
2.3.1.3 A Polizimmal előkezelt feketeribiszke préselési léhozamai	41
2.3.1.4 A Polizim enzimes előkeze- lés hatása az őszibarack préselési léhozamára	41
2.3.2 A Polizim enzim almalé deri- tőkéességének a vizsgálata	42
2.3.2.1 Polizim és Pektinol /NSzK/ enzim almalé derítőképessé- gének összehasonlítása	42
3. VIZSGÁLATI EREDMÉNYEK	45
3.1 Az Aspergillus niger V ₇₇₀ enzinter- melését befolyásoló tenyésztési té- nyezők vizsgálata	45
3.1.1 Az Aspergillus niger V ₇₇₀ nö- vekedési és enzintermelési hő- optimumának és az optimális tenyésztési idő kimérése	45
3.1.1.1 Laboratóriumi kísérletek, a tenyésztési hőfok és idő ha- tása az Aspergillus niger V ₇₇₀ törzs pektinbontó en- zim termelésére	45
3.1.1.2 Az üzemi felmérés és a te- nyésztéses vizsgálatok eredményei	47

3.1.1.3	Üzemi kísérlet az oltóanyag mennyiségének változtatásával az enzimes korpa túlmelegedésének megakadályozásával, a termelt enzim aktivitásának alakulására az inkubációs idő függvényében	48
3.1.2	Kémiai adalékanyagok és a sárgarépa hatásának vizsgálata az <i>Aspergillus niger</i> V ₇₇₀ enzimtermelésére	50
3.1.2.1	Laboratóriumi tenyésztéses vizsgálatok a kémiai anyagok enzintermelést befolyásoló hatására	50
3.1.2.2	A sárgarépa hulladék enzimtermelést befolyásoló hatásának és az optimális keverési arány laboratóriumi vizsgálatának eredményei	52
3.1.2.3	Üzemi ellenőrző mérések az ammóniumsulfát és a sárgarépa hulladék enzimaktivitást növelő hatásának bizonyítására	53
3.2	A Polizim enzim jellemző tulajdonságainak vizsgálata az alkalmazási technológia szempontjából	53

	Oldal
3.2.1 A Polizim enzinkészítmény bontási hőoptimumának meg- határozása	54
3.2.2 A Polizim enzim Q_{10} értékei	55
3.2.3 A Polizim enzim hőinaktiváló- dása vizes oldatban	56
3.2.4 A Polizim enzim pH-optimumának meghatározása	56
3.3 A Polizim enzim felhasználási terüle- tei a gyümölcsfeldolgozó iparban	57
3.3.1 Polizim-mel végzett enzimes előkezelés a gyümölcszuzalékok préselési léhozamának növelé- sére	57
3.3.1.1 Laboratóriumi mérési eredmé- nyei a málna préselési lého- zamának növelésére	57
3.3.1.2 Üzemi mérések eredményei a málna préselési léhozamának növelésére	59
3.3.1.3 Polizimmel előkezelt fekete- ribiszke-zuzalék préselési eredményei	60
3.3.1.4 Polizimmel történő előkezelés hatása az őszibarack-zuzalék préselési léhozamaira és a préselhetőségre	61

	Oldal
3.3.2 A Polizim enzim almalé derítő képességének vizsgálata	62
3.3.2.1 Polizim és Pektinol enzim almalé derítő képességének összehasonlító vizsgálata	62
4. ÉRTÉKELÉS, KÖVETKEZTETÉSEK	65
4.1 Az Aspergillus niger V ₇₇₀ enzinterme- lését befolyásoló tenyésztési tényezők vizsgálata	65
4.1.1 Az Aspergillus niger V ₇₇₀ nö- vekedési és enzintermelési hő- optimumának és az optimális te- nyésztési idő kimérése	65
4.1.2 Kémiai adalék anyagok és a sár- garépa tápközeg hatásának vizs- gálata az Aspergillus niger V ₇₇₀ enzintermelésére	69
4.1.3 Az Aspergillus niger V ₇₇₀ törzs tenyésztési tényezőinek optima- lizálásával és az ammóniumszul- fát felhasználásával elért gaz- dasági eredmények	71
4.2 A Polizim enzimhatását befolyásoló té- nyezők vizsgálata az alkalmazási tech- nológia szempontjából	72
4.2.1 A Polizim enzim bontási hőfok optimuma	72

	Oldal
4.2.2 A Polizim enzim Q_{10} értékei	74
4.2.3 A Polizim enzim hőinaktiválódása	74
4.2.4 A szubsztrát pH-jának hatása a Polizim bontási sebességére	75
4.3 A Polizim enzim alkalmazása a gyümölcsle iparban	76
4.3.1 Polizim enzimes előkezelés a gyümölcszuzalékok préselési léhozamának növelésére	76
4.3.1.1 A málna préselési léhozamának növelése Polizim enzim alkalmazásával	77
4.3.1.2 A málna Polizim enzimes előkezelésének üzemi eredményei, és az előkezelés technológiája	78
4.3.1.3 Polizimmal előkezelt fekete-ribiszke zuzalék préselésének értékelése	81
4.3.1.4 Fehérhusú gyümölcsök enzimes előkezelése lényeréshez	82
4.3.2 A Polizim enzim almale derítőképesége	84
5. ÖSSZEFOGLALÁS	87
IRODALOMJEGYZÉK	
TÁBLÁZATOK	
ÁBRÁK	

Bevezetés

A korszerű élelmiszeripar ma már nem nélkülözheti az enzinkészítményeket. Az enzimek alkalmazásának olyan előnyei vannak, melyek miatt a felhasználásuk egyre terjed. Enzimekkel - hatásuk fajlagossága következtében - olyan reakciók folytathatók le, melyek csak a kívánt elváltozást hozzák létre, anélkül, hogy más, jelenlevő élelmiszer komponenseket is érintene alkalmazásuk. Emellett nagy aktivitásuk révén rendszerint igen kis koncentrációban lehet alkalmazni. Használatuk rendszerint nem igényel költséges berendezéseket. A szükséges mérvű átalakulás elérése után az enzim további működése egyszerű módon hatástalanítható, működése tehát kézben tartható.

A magyar élelmiszeripar az első világháború idején gyakorlatilag csak a rennint /tejoltó enzim/ sajtipari és az amilázt /maláta/ söripari célokra alkalmazta. Később, a harmincas években ezekhez csatlakozott a pektinbontó enzinkészítmények /Filt-ragol/ gyümölcsléipari bevezetése, mely azonban nem volt jelentős és import anyagként került alkalmazásra.

A második világháború után, a gyors fejlődésnek induló, valóban iparivá vált élelmiszer termelés felvetette újszerű technológiák, jobb minőségű termékek előállításának, új utak keresésének szükségességét. Az élelmiszeripari kutatásnak az ipárral párhuzamos fejlődése révén az iparban egyre inkább tudatosult a modern módszerek használatának fontossága - így többek között az enzinkészítmények alkalmazásának kedvező, minőségjavító és kitermelést fokozó hatásában rejlő lehetőségek kihasználása is megindult.

Pektinbontó enzinkészítmény penészgombából történő előállítása az első, ipari méretekben folyó mikrobaenzimgyártás volt Magyarországon.

A Kecskeméti Konzervgyárban 1958-ban létesült Enzim üzem *Aspergillus niger* penészgomba felületi tenyésztésével, és extrakciójával állít elő folyadék enzinkészítményt, Polizim néven.

Az Enzim üzem kapacitása 1969-ben 60 tonna volt.

A pektinbontó enzimek felhasználója a gyümölcsle ipar, amelynek a növekvő termelése következtében megnövekedett enzimigényének kielégítése és az enzim gazdaságos felhasználása szükségessé tette az enzim előállításában és az ipari alkalmazásban jelentkező problémák vizsgálatát.

Dolgozatom céljaul tüztem ki:

1. A Polizim üzem termelésének a fokozását, a tenyésztes menetének optimalizálásával.
2. Az enzim hatást befolyásoló környezeti tényezők vizsgálatát, amelyek ismerete hatékonyabbá teszi a gyümölcsök préselés előtti enzimes előkezelését és a léderítési eljárások megalapozott, gazdaságos irányítását.
3. A Polizim enzim ipari felhasználási körének a kibővítését és az alkalmazási technológiák továbbfejlesztését.

Dolgozatomban foglalkozom a Polizim enzim aktivitását befolyásoló tenyésztési tényezők laboratóriumi vizsgálatával, az *Aspergillus niger* V₇₇₀ törzs növekedési, enzimtermelési hőoptimumának a kimérésével és az optimális tenyésztési idő meghatározásával. Kísérleteim kiterjednek a kémiai adalékanyagok, valamint a sárgarépa hulladék enzim aktivitást növelő hatásának vizsgálatára is.

A penészgomba tenyésztési paramétereinek laboratóriumi eredményeit felhasználva kidolgoztuk és megvalósítottuk az új üzemi irányított tenyésztést, aminek a hatására jelentősen megnőtt az üzem termelése.

Vizsgáltam a Polizim enzim hatását befolyásoló környezeti tényezőket, aminek az ismerete a helyes

ipari alkalmazási technológiák kialakításához szükséges. Kísérleteimben mértem a Polizim enzim bontási hőoptimumát, a hőmérséklet reakció gyorsító hatását, a hőinaktiválódás sebességét, a kritikus inaktiválódási hőmérsékletet, valamint a szubsztrát pH-jának hatását az enzim bontási sebességére.

A dolgozatban foglalkozom a Polizim enzim ipari felhasználási területeinek bővítésével és az alkalmazási technológiák fejlesztésével. Az almalé derítés laboratóriumi kísérleti eredményei kiinduló pontjául szolgálnak az üzemi almalé derítési próbáknak, amelyek célja a gazdaságos enzimfelhasználás módszereinek kidolgozása, az optimális enzimadagolás, derítési idő és hőmérséklet meghatározása.

A gyümölcszuzalékok préselési léhozamának növelése enzimes előkezeléssel igen egyszerű és gazdaságos eljárás, ezért málna, fekete ribiszke, valamint őszibarack zuzalék enzimes előkezelésének hatását vizsgáltam a lényeredék növelésére. A préselési vizsgálatokat laboratóriumi préssel végeztem, de a málnazuzalék enzimes előkezelésének hatását üzemi körülmények között is vizsgáltam. Az üzemi kísérletek eredményei megegyezően a laboratóriumban kapott eredményekkel, egyértelműen bizonyították az enzim alkalmazás célszerűségét.

1. IRODALMI BEVEZETÉS

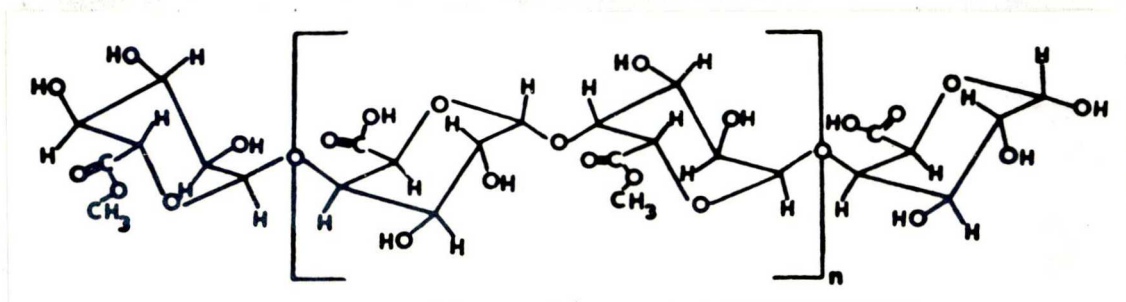
A pektinbontó enzimek tulajdonságainak és hatásmechanizmusának tanulmányozása mindenek előtt szükségessé teszi az enzim szubsztrátnak, a pektinek kémiai tulajdonságainak és előfordulásának közelebbi megismerését /1.1/. Ezután az enzimnek a szubsztrátra gyakorolt kémiai hatását ismertetem /1.2/, majd az enzim hatást befolyásoló környezeti tényezőket /1.3/ és az enzim aktivitás mérésének általam használt módszerét /1.4/.

Mivel a dolgozatom célja a hazai előállítású Polizim pektinbontó enzim optimális gyártási és felhasználási körülményeinek vizsgálata, ezért célszerűnek tartottam rövid áttekintést adni a Polizim enzim gyártástechnológiájáról /1.6/ és az üzemi alkalmazásáról, gyümölcslevek derítésére /1.7.1/ és gyümölcsezalékok enzimes előkezelésére /1.7.2/.

1.1 A pektinek szerkezete és funkciója a növényi szövetekben

A pektin galakturonsav egységekből felépített részben metilezett lineáris makromolekula, melyben a galakturonsav egységek α 1-4 glükózid kötésekkel kapcsolódnak egymáshoz.

Pektin molekula



A molekulák nagysága különböző, a kapcsolódó galakturonsavak száma 30 ezer és többszázezer között van.

A pektinhez számos neutrális szaccharid kötődik még kevésbé ismert formában - arabinóz, galaktóz, rhamnóz, fukóz, 2-O metilxilóz, 2-O metilfukóz, xilóz, szorbóz. /NEUKOM, 1963/

A gyümölcsök túlnyomórészt 50 % feletti észterezett-ségi fokú pektineket tartalmaznak /JOSLYN, 1962/ részben vízben oldható pektin és vízben oldhatatlan protopektin formájában.

A pektin a növényi sejtfalak középlamellájának szerkezeti anyaga. A középlamella az első sejtfal, amely a sejtosztódásnál képződik. A sejt növekedésekor erre épül fel a cellulóz tartalmú primér fal. Amikor a sejtosztódás véget ér, képződik a szekunder, másodlagos fal, ami pektinmentes. /FREY-WISSLING, 1959/ /BONNER, 1950/

A pektin a sejtek közötti ragasztóanyag szerepét tölti be. Ahhoz, hogy a pektin ezt a funkcióját betölthesse, szükséges, hogy natív állapotban vízoldhatatlan legyen. Vissza nagyon kevés pektin nyerhető ki a növényi szövetekből a növekedési stádiumtól függően. A vízoldhatatlan protopektin az érés folyamán még fel nem derített módon alakul át vízben oldható pektinné. /BARRET et al., 1965/ Az almából frissen kipréselt lé pektintartalma 0,1-1 % között változik, leggyakoribbak a 0,2 % pektint tartalmazó levek. A 0,3 % pektint tartalmazó présleveket már nagy pektintartalmu almalének tekintik. /TÓTH A.-né - FÁBRI I. - TÓTH M.-né, 1970/

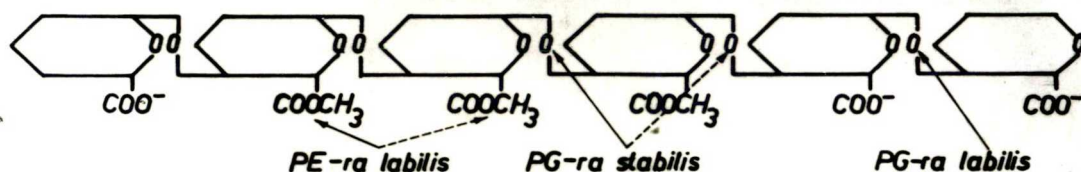
1.2 Pektinbontó enzimek és hatásmechanizmusuk

A pektinbontó enzimkészítmények pektinesterázokat, poligalakturonázokat, némelyek pektin-transzeliminázét és kísérő enzimeként cellulázt, amilázt és proteázt is tartalmaznak.

A pektinészterázok /PE/ a molekula metoxil kötéseit hasítják fel a polimerizációs fok megváltoztatása nélkül. Hatásukra metilalkohol és szabad poligalakturonsav képződik.

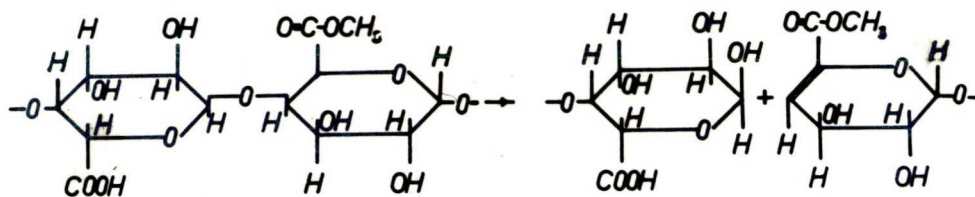
A poligalekturonázok /PG/ a pektinmolekula glükozidos kötéseit bontják el. Ezek az enzimek depoli-

merizációs hatásnak és csak a demetilezett pektinláng részeket hidrolizálják vízfelvétellel galakturonsavvá. A pektinesteráz enzimek jelenléte feltétlenül szükséges a poligalakturonáz enzimek működéséhez. A teljesen metilezett pektint a poligalakturonáz nem hasítja, csak a részben metilezett pektint, vagy a metil csoport mentes pektinsav láncot /VAS et. al, 1967/.



A pektinbontó enzimek hatása a pektin molekulára
/LINEWEAVER és JANSSEN, 1951/ szerint

ALBERSHEIM et. al /1960/ és munkatársai pektináz készítményekben új típusú pektinbontó enzimet találtak, amit pektin-trans-elimináznak /PTE/ neveztek el. Ez az enzim nagy stabilitást mutat hővel szemben s a pektint, nem vízlekötéssel bontja az α 1-4 glükózidos kötésekénél, mint a hidrolázok /PG/, hanem β elimináció révén $\text{C}_4\text{-C}_5$ kettőskötéseket létesít a poligalakturonsav láncon, miközben depolimerizál.



β elimináció a poligalakturonsav láncban

KOLLER és NEUKOM /1964/ szerint a pektinázok specifikus voltak, megfelelően két nagy csoportra oszthatók. Az egyik részük elsődlegesen a nagymértékben eszterifikált pektinre hat, a másik csoport pedig a pektinsavra, vagy a kevésbé eszterifikált pektinre. Hatásmechanizmusuk alapján a pektinázok ugyancsak két csoportra bonthatók annak alapján, hogy a láncalaku polisaccharidokat milyen módon bontják le:

1. Az endoenzimek - a glükózidos kötéseket hasítják a molekula belsejében, és ezt a folyamatot jelentős viszkozitás csökkenés kíséri.

2. Az exoenzimek - a lebontást csak a molekula végén végzik és legtöbbször mono- vagy diszacharidokat hasítanak le, ezért ezeket cukrosító enzimeknek is nevezzük. A pektináz enzimek mind a két enzimféleséget tartalmazzák, az exoenzimek azonban látszólag kevésbé elterjedtek, mint a technológiai szempontból jelentősebb endoenzimek.

A hazai Polizim enzim hasonlóan a többi pektinbontó enzinkészítményhez, tartalmazza az előbb ismertetett komponenseket, de a komponensek aránya eltérő. Így pl. a PE komponens aránya és pH-optimuma eltér más készítményekétől /PROSZT, 1969/.

1.3 Az enzimhatást befolyásoló tényezők

Az enzimek szubsztrátban kifejtett hatását befolyásoló tényezők közül legfontosabbak a közeg hőmérséklete és pH értéke. Az enzinkészítmény üzemi felhasználásánál ismerni kell a Q_{10} értékét, a kritikus inaktiválódási hőmérsékletet, a hőmérsékleti és pH-optimumot.

Az enzimes reakciók sebessége nagymértékben függ a környezeti tényezőktől. Az enzim alkalmazási technológiák kidolgozásához ismerni kell ezeknek a tényezőknek a hatását azért, hogy azokat figyelembe véve a kívánt hatást gyorsan és kevés költséggel elérje a felhasználó.

Minden kémiai reakció sebességét, így az enzimes reakciók sebességét is növeli a hőmérséklet emelése. Azonban az enzimes reakciónál a hőmérséklet emelkedésével nő a hődenaturálódás sebessége is, ami ellentétes irányban hat. Az enzimes reakciók hőoptimuma az a hőmérséklet, ahol a bontás sebessége és a hődenaturálódás egyensúlyban van /PUSKÁS, 1962/.

A Q_{10} -érték vagy hőfok-koefficiens az a szám, ami megmutatja, hogy $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ emelésével a reakció-sebesség hányszorosára emelkedik a kezdeti hőfokon mért reakció-sebességnek.

Az enzimes reakciók Q_{10} értéke általában kisebb, mint az azonos típusu nem enzimes reakcióké /PUSKÁS, 1962/.

Az enzimek hőérzékenységének jellemzésére a kritikus inaktiválódási hőmérsékletet T°_0 használják. Ez az a hőmérséklet, amelyen az enzim 1 óra alatt vizes oldatban aktivitásának a felét elveszti /GÖRÖG, 1962/.

A közeg hidogénion koncentrációja nagymértékben befolyásolja az enzim aktivitását. A pH befolyása több hatás eredőjeként jön létre, hatással van az enzim denaturálódásnak a sebességére, a szubsztrát megfelelő csoportjainak ionizációjára, az enzimnek a reakció katalizálásában résztvevő csoportjaira /PUSKÁS, 1962/.

Az enzimkomponensek reakciógyorsító hatásának hőfok és pH-optimuma nem esik egybe, sok esetben igen eltérő. Ugyanez mondható el a hővel szembeni stabilitásukról is. Vizsgálataimnak a célja a Polizim készítmény hatását befolyásoló tényezők kimérése volt, az optimális alkalmazási technológia kialakítására.

1.4 Pektinbontó enzimkészítmények aktivitásának mérési módszere

Dolgozatomban a Polizim enzim aktivitását minden esetben VAS et al /1967/ módszere alapján határoztam meg. A hazai ipari gyakorlat ma ezt a módszert alkalmazza. A részlegesen, vagy teljesen lebontott pektin oldatok viszkozitása egészen az oldószeréig lecsökkenhet. A viszkozitás mérése a gyakorlat számára döntő adatokat szolgáltat, hiszen a levek szűrhetősége és besűrithetősége éppen a viszkozitás csökkenésével függ össze /TÓTH A.-né, 1969/. A pektin enzimes bontásakor a viszkozitás esését a polimerizációs fok csökkenése eredményezi.

A hazai gyakorlat a pektinbontó enzim aktivitásának kifejezésére a Specifikus pektolitos aktivitást használja; SPA₇₅-tel jelzi.

Az SPA₇₅ érték kifejezi, hogy az enzim egységnyi mennyisége /lit./ hány egységnyi /lit./ standard pektinoldatot vagy ezzel egyenértékű almalevet tud 75 %-os Bontási fokkal /B°/ 50 C°-on 1 óra alatt elbontani.

Viszkozimetriás módon határozza meg SCHUBERT /1968/ is az enzimek aktivitását csak azzal a különbséggel, hogy szerinte igen nagy eltéréseket okozhat

az eredményekben az a tény, hogy teljesen metilezettnek mondható nativ pektinnel /BOCK, 1966 szerint 80 %-ig metilezett/, vagy pedig a kipreparálás közben mindig részlegesen demetilált pektinnel állunk-e szemben.

Ezért aktivitás-méréseihez nativ gyümölcsleveket használ és egy, az általa konstansként elfogadott enzim aktivitásához /100 000 egység/ viszonyítja az egyes készítmények aktivitását.

1.5 Pektinbontó enzimek előfordulása és kereskedelmi enzinkészítmények

A poligalakturonáz enzim az állatvilágban igen kevésbé elterjedt /mindössze néhány csigában található meg/, annál gyakrabban fordul elő a növényvilágban, különösen a Tallophytákban. Ritkán, illetőleg kis töménységben lelhető fel magasabbrendű növényekben /VAS, 1953/.

A pektinmetileszteráz ezzel szemben a növényvilágban nagyon elterjedt, gyümölcsökben - citrus-félékben, egresben és paradicsomban, valamint piros- és feketeribiszkében, cseresznyében, körtében - nagy aktivitással vannak jelen. /BOCK, 1966/

A kereskedelmi pektinbontó enzinkészítményeket általában mikroorganizmusok, elsősorban penészek te-

nyészetéből állítják elő. NYESTE /1961/ Aspergillus, Penicillium, Mucor, Rhizopus, valamint Botrytis cinerea törzsek pektinbontó enzintermelését mutatta ki.

Kereskedelmi pektinbontó enzimek folyékony vagy szilárd alakban kerülnek forgalomba. A szilárd készítmények a víványagtól függően vagy teljesen feloldódnak /pl. cukor/, vagy oldhatatlan vívőről leoldódnak /pl. kovaföld, mezőgazdasági, faipari hulladék/. A folyékony készítményeket lehetőség szerint koncentrálják, mert az aktivitási fok emelésével csökken az aktivitás veszteség a tárolás során, az enzim stabilitása növekszik.

Minden enzinkészítménnyel szemben követelmény, hogy idegen ízt, színt és szagot ne adjon a terméknek és egészségre ne legyen káros /aflatoxint nem tartalmazhat/.

A hazánkban és az európai országokban gyártott pektinbontó enzinkészítmények az 1. táblázatban vannak feltüntetve.

1.6 A Polizim enzim rövid gyártástechnológiája

A Polizim enzim előállításának irányelveit VAS /1952/ dolgozta ki, és az általa izolált Aspergillus niger V₇₇₀ törzs tenyésztésével indult meg a termelés 1958-ban, a Kecskeméti Konzervgyár Enzim üzemében.

A penész tenyésztése felületi eljárással történik. 1958-tól 1960-ig az ún. "szárazkorpás enzim" előállítására valósult meg, amikor a micéliummal átszőtt korpát megszárították, darálták és ezt használták fel almalé derítésére. A készítménynek számos hátránya volt, lassan száradt, nagy raktárigénye volt és nehezítette a szűrést is. E hátrányok kiküszöbölésére 1960-ban bevezették az extrakciós eljárást, amelynél a penész hifával átszőtt korpát 50 C°-on többszöri /4-6-szoros/ szakaszos dúsító diffúzióval nyerték ki. /HORVÁTH, 1960/

A jelenlegi gyártástechnológia két szakaszból áll: 1/ az enzimes korpa készítése; 2/ az enzim extrahálása az enzimes korpából.

Az enzimes korpa előállításához az üzemi korpás oltóanyagot nagyobb mennyiségben készítik el és szárított formában tárolják. A ferde malátás kémesőtenyészetből először Petri-csészés maláta agaros tenyészetet készítenek, majd e kultúrákkal oltják be az alumínium tálcákon levő 4 pH-ju sósavas vízzel megsavanyított és autoklávbán sterilizált korpát. 28-30 C°-os tenyésztő-helyiségben 6-7 nap múlva a kultúra teljesen bespórasodik, ezután megszárítják a korpás oltóanyagot. A jó oltóanyag ismérve az intenzív barnásfekete szín.

Az enzimes korpá előállításához 80 %-os kiörlésű búzakupát használnak fel. A korpát vízzel keverik össze 1 : 1 arányban. A vizet sósavval 4 pH-ra savanyítják a baktériumok növekedésének a visszaszorítására. A nedves korpát fedett fémtálcákban, autoklávban sterilizelik. A sterilizett korpát a következő nap oltják be, hogy az lehülhessen. Az előző nap sterilizett és kihült korpát oltóanyaggal keverik el 2 : 1000 arányban. A beoltott korpát fertőtlenített aluminium tálcákban 2-3 cm rétegvastagságban eltergetik. Az aluminium tálca fedéllel van ellátva, mely a Petri-csésze elve alapján véd az utófertőzéstől. A fertőtlenítést 0,2 %-os nitrogeinol oldattal végzik. A beoltott korpás tálcákat temperálható, fűtő- és hűtőberendezéssel ellátott helyiség polcaira helyezik. A tenyésztés 4 napig tart. Az inkubáló terem hőfoka az első nap 18-20 C°. A harmadik nap a tálcák belső hőmérséklete túllépheti az 50 C°-ot is, a penész hőtermelése következtében. Ez a hőmérséklet az enzim stabilitását veszélyeztetné, ezért szükséges a hűtés, hideg levegő beáramoltatásával. A hűtést úgy szabályozzák, hogy a kulturák belső hőmérséklete ne haladja meg a 40-50 C°-ot. A tenyésztés során keletkező pára a fedőn lecsapódik, ezt 2-3 órás időközönként lecsurgatják. Négy nap után a tenyészet eléri a spórázást közvetlen megelőző állapotot. Ebben a stá-

diumban a legnagyobb a pektinbontó enzimaktivitás.
/HORVÁTH, 1960/ A micélium jól átszövi a korparéteget, miáltal az fehér színű, összeálló és könnyen tördelhető. A négy tenyésztési nap különböző hőmérsékleti igénye miatt a naponként beoltott korpát egymástól elkülönített inkubáló helyiségben tartják.
/FABRI I., KONCSIK M.-né és RÁCZKEVY E.A., 1966/

Az enzim kinyerése az enzimes korpából 4-es pH-ju sósavas vízzel történik, 50 C°-on extrahálással, 6 fokozatban. Az első 3 fokozatban az ún. "kezdőlé" nyerése történik a már egyszer extrahált enzimes korpát áztatják ki tiszta 4 pH-s vízzel, 50 C°-on 1 óráig, lecentrifugálják a levét a korpáról és egy újabb adagra öntik, 1 óráig kevergetik és a centrifugált levét újabb, már egyszer extrahált korpára öntik és 1 óráig áztatják. A diffúziós lényerés mindig az enzimben gazdagabb korpa felé halad. Az így 3 lépésben nyert "kezdőlevet" azután az előzőekhez hasonlóan 3-szor töményítik, de most már kilugzatlan enzimes korpán. Az utolsó 3 adag egyszer kilugzott korpából nyerik aztán a kezdőlevet a következő ciklusban.

A 6. fokozat után centrifugált lé Polizim enzim néven 0,1 % nátriumbenzoáttal és 0,2 % kénessavval tartósítva kerül forgalomba.

1.7 Pektinbontó enzimek alkalmazása a gyümölcsle- feldolgozó iparban

1.7.1 Gyümölcslevek enzimes derítése

A présből kikerülő gyümölcslevek rendszerint erősen zavarosak és hosszú ideig ilyenek is maradnak. Ezt a zavarosságot aránylag nagy viszkozitás, sűrűn folyós állapot kíséri. Az eddigi kutatások szerint a lé zavarosságának alapoka a kolloidok által szuszpendálva tartott, durva-diszperz anyagok /sejt alkotórészek, szövetdarabok/ jelenléte a lében /KARDOS, 1962/.

A frissen préselt almalében szuszpendált anyag CARPENTER és WALSH /1932/ szerint 20-25 % pektin-szerű anyagot, 1-1,6 % tannint és 20-30 % fehérjét tartalmaz. SCHUBERT /1968/ adatai utalnak arra, hogy keményítő is szerepelhet, mint zavaró kolloid az almalében. A gyümölcslevek zavarosságát okozó rost, vagy kolloid részecskék eltávolítása közvetlen szűréssel vagy centrifugálással nehézkes, mert a pektinek védőkolloidként hatnak. /NAGY GYULA, 1963/

Pektinbontás nélkül besűrített gyümölcslevek - a cukorkoncentráció növekedésével, a megfelelő sav-cukorkoncentráció beállásakor - kocsonyás koncentrátumokat képeznek, melyek nem értékesíthetők.

A gyümölcslevelek kezelésének a kolloidtartalom biokémiai megváltoztatásán alapuló módszere az enzim-derítés.

A gyakorlatban jól bevált eljárás szerint a készítmény aktivitásától függően, 0,005-0,3 % preparátummal dolgoznak. A derítés hőmérséklete lehet 10-15 °C. Nagyobb hőmérsékleten - a bontáshoz szükséges hosszabb idő /8-18 óra/ alatt - megindulna a levek élesztős erjedése.

Ujabban egyre inkább elhagyják ezt a módszert, és áttérnek a 40-50 °C hőmérsékletű lékezelésre. Az élesztők hőmérséklet optimuma feletti 45-55 °C-on rövid idő /1-2 óra/ alatt elérhető a pektin-derítéshez szükséges mérvű lebontása. Ennek természetesen feltétele, hogy az enzim hőérzékenysége minél kisebb legyen. /KARDOS, 1962/ Vannak olyan készítmények, melyek 55-60 °C-on is használhatók, mert csak 65 °C felett denaturálódnak rohamosan. /KREBS, 1965/

A gyümölcslevelek derítését kis mennyiségű, 5-10 g/hl zselatin adagolásával is kiegészítik. Így a csapadék tömörebb lesz. Egyes szerzők szerint a zselatinnak és egyes fém sóknak erős pektinbontó enzimaktiváló hatása van. /KARDOS, 1963/ VAS /1953/ megállapította, hogy a zselatin hatására nem az aktivitás növekedik, hanem a kivált anyag leülepedése

gyorsul meg, nyilván az elektromos töltések megváltozásának hatására.

Gyümölcs sűrítmények előállításához nem szükséges az abszolút pektinmentesség elérése. A sűrítésre kerülő lé tartalmazhat minimális mennyiségű pektint, ez a sűrítetőséget nem befolyásolja kedvezőtlenül. Ez a pektinbontási fok kisebb enzinkoncentrációval, illetve rövidebb derítési idővel érhető el, mint az abszolút pektinmentesség, s ezáltal az enzimes derítés költsége jelentősen csökkenthető.

/TÓTH A.-né, 1970/

1.7.2 Polizim enzim hatása a gyümölcsök préselési léhozamára és préselhetőségére

A gyümölcsök préselésének elméletével foglalkozó szakemberek szerint a prés feladata nem az, hogy a levet a sejtekből kisajtolja, hanem, hogy az előkezelés során a sejtekből kivált levet elválassza. A nyomás csak másodrendű jelentőségű. A préselésre jól előkészített zuzaléknak sajátos szerkezete van, melynek vázát a sejtfalak alkotják. Ha az előkészítés rossz és tönkremegy a szerkezet, akkor az ilyen anyagból nehezen, és rossz lékinyeréssel lehet kipréselni a levet. Az előkezelés lehet melegítés, aprítás, elektrop plazmolízis vagy enzimes előkezelés

/KÖRMEENDY, 1961/.

A gyümölcsléipar a léhozam növelésére és a préselés megkönnyítésére pektinbontó enzimeket használ. A pektinbontó enzimek a pektinanyagok lebontásával a gyümölcs-sejtek feltárását segítik elő. Növekszik a préselés mennyisége, a legtöbb esetben javul a préselhetőség is.

Pektináz enzimeket a zuzott gyümölcshöz adagolják és meghatározott ideig - egy adott hőfokon - előkezelik, utána préselik. A gyümölcs fajtától, a lé színétől és pektintartalmától függően változik az enzimes előkezelés technológiája.

A világos színű, oxidációs barnulásra hajlamos gyümölcsöket 50-55 °C-on 1-2 óráig, un. meleg előkezelés-sel kell a préselésre előkészíteni, míg a piros levét adó gyümölcsezalékot 20-25 °C-on 12-14 óráig tartó hideg előkezelése az előnyös. Nemcsak a léhozam emelkedik, hanem a lé színe is erősödik, mélyül, mert a színezőanyagok átvándorlása a lébe nagymértékben megnövekszik. /MEHLITZ, 1954/ Ugyanezt tapasztalta ÁSVÁNY és NYESTE, /1959. /

Pektináz enzimes előkezeléssel szőlőnél 8-14 % léhozam növekedést írt le /GRUBER W.V., GUACCHIA R., ERICSON K., 1955/. RZEDOWSKY /1953/ 14 % préselés növekedést ért el almánál. Magyarországon VAS /1953/, valamint ÁSVÁNY és NYESTE /1959/ szőlőpréselésnél 1-2 %-os léhozam emelkedést ért el.

A konzervipar 1970-ben mintegy 2000 tonna gyümölcslevet állít elő az almalén kívül. Pektináz enzim előkezeléssel 4-5 %-os átlag léhozam-többlettel számolva mintegy 2 millió Ft-os gazdasági eredmény érhető el. Kísérleteimmel ennek a gazdasági eredménynek a realizálását igyekeztem elősegíteni - úgy, hogy a préselésre szánt gyümölcsök /málna, szamóca, feketeribiszke, őszibarack/ enzimes előkezelésének technológiáját kidolgoztam és a várható léhozam növekedéshez mérési adatokat gyűjtöttem.

2. VIZSGÁLATI ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Dolgozatomban leírt vizsgálatok célja a gyümölcsfeldolgozó ipar részére hatékony, jóminőségű enzimkészítményt biztosítani, ezért a pektinbontó enzim előállításának optimális technológiáját fejlesztettem. A laboratóriumi vizsgálati módszereket úgy alakítottam ki, hogy a lehetőségekhez mérten megközelítsék az üzemi előállítási, alkalmazási eljárásokat és egyszerűek, könnyen kivitelezhetőek legyenek. Laboratóriumi körülmények között kimértem a tenyésztés optimális paramétereit, majd azok helyességét üzemi körülmények között is ellenőriztem.

Az *Aspergillus niger* V₇₇₀ törzs növekedésére és enzintermelésére ható tenyésztési tényezőket, hőoptimumot, szervetlen adalékok és növényi hulladék anyagok hatását laboratóriumi körülmények között ún. "üveges kulturá"-ban kísérleteztem ki. A Kecskeméti Konzervgyár Enzim üzemében üzemszerű termeléssel bizonyítottam a mérési eredmények helyességét /2.1/.

A Polizim enzim alkalmazása során az aktivitás hatékonyságát befolyásoló tényezőket a bontási hőfok optimumát, Q_{10} értékét, inaktiválódás mértékét különböző hőmérsékleten, a pH optimumát Pemosin modell pektinoldatban mértem ki /2.2/.

A Polizim enzimes előkezelés hatását a gyümölcsök préselési léhozamára a Körmeny-féle préselés vizsgáló készülékkel végeztem laboratóriumi körülmények között málna, feketeribiszke és őszibarack esetében.

A laboratóriumi mérések hőmérséklet és időtartam paramétereinek üzemi adaptálását a Budapesti Konzervgyárban végeztem el málna préselésekkel /2.4.1/.

A Polizim enzim almalé derítőképességének a vizsgálatát, valamint a szükséges enzimkoncentráció és derítési idő összefüggését laboratóriumi körülmények között frissen préselt almaléval végeztem,

a Polizim deritőkéességét a Pektinol /Röhm et Haas/ enzimmel hasonlítotam össze. A deritőkéességét alkoholpróbával és viszkozimetriás módszerrel ellenőriztem /2.4.2/.

2.0 A teszt mikroorganizmus, a vizsgált enzim és aktivitásának meghatározási módszere

Vizsgálataimat az Aspergillus niger V₇₇₀-es törzzsel /VAS, 1952/ és az általa termelt pektinbontó enzimmel, a Polizimmel végeztem. Összehasonlító kísérleteimhez standardként Pektinol flüssig /Röhm et Haas Darmstadt, NSZK/ enzimet használtam fel, melynek az aktivitási foka 13-15 000 SPA₇₅ volt. A teszt mikróbát 5 %-os maláta tápagaron, havonkénti átoltással tartottam fenn. Az üzemi tenyésztés korpás tápközegben történt.

A pektinbontó enzinkészítmények aktivitását VAS et al /1967/ alapján határoztam meg a következő módszerrel:

Pomosin porpektin /Frankfurt am Main/ 0,6 %-os oldatának 1 órás 50 C⁰-os bontása után 6-cs jelű módosított Ostwald-féle viszkoziméterrel mért viszkozitás csökkenés alapján állapítottam meg. 50 ml standard pektinoldatokba 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ml enzim oldatot pipettáztam. /Az enzim oldatot úgy higitottam és vak próbával ellenőriztem, hogy a

75 %-os bontási foknál kisebb és nagyobb érték is előforduljon. / 1 óráig 50 C°-on inkubáltam, majd 25 C°-on ultratermosztátban mértem a pektinoldatok kifolyási idejét 0,1 sec. pontossággal η /. Ezt az értéket elosztottam az oldószer /desztillált víz/ kifolyási idejével /deszt. víz η / és ennek a hányadosnak az 1-el kisebbített értéke a specifikus viszkozitás a η_{SP} ;

$$\eta_{SP} = \frac{\eta}{\text{deszt. víz } \eta} - 1$$

A későbbiekben sokszor jellemzem a gyümölcslevelek pektintartalmát a specifikus viszkozitásukkal azon az alapon, hogy STAUDINGER /1932/ szerint az azonos töménységű lineáris kolloidok specifikus viszkozitása η_{SP} a polimerizációs fokkal arányos.

A vizsgált minták specifikus viszkozitását a kontroll, standard 0,6 %-os pektinoldat specifikus viszkozitásának %-ában fejeztem ki. $\eta_{SP} \%$ Ha az így kapott értéket 100-ból levontam, a nyert érték a "Bontási fok" /B°/.

A négy enzim koncentrációt és a hozzájuk tartozó bontási fokokat koordináta rendszerben ábrázoltam. Az így nyert pontok által meghatározott görbe segítségével lineáris interpolációval meghatároztam a 75 %-os bontási fokhoz tartozó enzim mennyiséget.

Az így meghatározott enzim mennyiséggel /ml/ elosztottam a bemért pektinoldat mennyiségét /50 ml/ és megszoroztam a higitás fokával és így kaptam meg az enzinkészítmény Specifikus Pektolitos Aktivitását /SPA₇₅/.

2.1 Az Aspergillus niger V₇₇₀ enzintermelését befolyásoló tenyésztési tényezők vizsgálata

Laboratóriumi vizsgálatokat végeztem az Aspergillus niger törzs növekedési és enzintermelési hőoptimumának és a tenyésztés időtartamának a meghatározására. Ezután felmértem az Enzim Üzemben a tenyésztés paramétereit és ezek ismeretében az optimális tenyésztés megvalósítását tűztük ki célul. A tenyésztés optimalizálására technológiai és műszaki megoldásokat dolgoztunk ki.

2.1.1 Aspergillus niger V₇₇₀ növekedési és enzintermelési hőoptimumának és a tenyésztési idő kimérése

Az Aspergillus niger pektintontó enzintermelése optimális körülményeinek laboratóriumi kísérleteihez az "üveges kultúra" tenyésztési módszert láttam a legalkalmasabbnak, mivel a következő előnyökkel rendelkezik:

Kis hely- és anyagigénye van, alkalmat ad a vizsgálati sorozatok több párhuzamosban való beállításához. Az üveg falán keresztül a micélium képződés jól ellenőrizhető.

Az üveges kultúrával végzett laboratóriumi mérések eredményeit a kecskeméti Enzim Üzemben tálcás tenyésztéssel ellenőriztem.

2.1.1.1 Laboratóriumi tenyésztéses vizsgálatok

1. Üveges kultúrák beállítása

Kísérleteimet 5/8-os konzerves üvegekben végeztem, melyet Petri-csészével lefedve autoklávbán steriliztem. A korpás táptalajt üzemi technológia szerint készítettem. A nedves korpát steril körülmények között adagoltam a konzerves üvegekbe 100-100 g-os mennyiségben, úgy hogy a rétegvastagság 3 cm legyen. A kiadagolt nedves korpát 1 ml $6 \cdot 10^6$ /ml *Aspergillus* spóra szuszpenzióval kevertem el. Az oltó szuszpenziót az *Aspergillus niger* 10 napos Petri-csészés malátás tenyészetéről felületaktív anyagot tartalmazó sterilvízzel történő lemosással nyertem. A spóraszámot mikroszkópban Bürkerkamrával számoltam meg.

2. Inkubálás és mintavétel

A tenyésztést 20-30-40-50 C°-os termosztátban végeztem 6 napig, hőfokonként 12-12 párhuzamos mintával, úgy hogy 24 óránként 2-2 mintán ellenőriztem a micélium képződés mértékét. A 48. órától minden nap 2-2 mintát 40 C°-on sulyállandósáig szárítottam, így nyertem az un. száraz korpás enzimet.

3. Az értékelés módja a micélium képződés alapján

A második naptól jegyeztem fel a szemmel jól látható jegyek alapján a micélium képződés mértékét. Az enzimes korpa törési keresztmetszetén ellenőrizhető az átszövődés /micélium képződés/ mértéke, mert a nedves korpában kialakult szerkezet során képződött granulumok barna színét a penész hyfák fehér színe elfedi és minél erősebben átszövődött a korpa - minél nagyobb a micélium hozam - annál intenzívebb a fehér szín. Tökéletesen átszőttnek tekintettem azokat a tenyészeteket, amelyek a törési felületen teljesen fehér színűek voltak.

A spórásodás kezdetét és mértékét is figyelemmel kísértem. A spórásodás a tenyészet felületén indul meg először és csak később jelentkezik a tenyészet teljes keresztmetszetében.

4. Az értékelés módszere enzim aktivitás mérése alapján

A súlyállandóságig szárított enzimes korpa 10 g-ját 250 ml-es jódszám lombikban 100 ml desztillált vízben 3 óráig rázattam - "Labor" rázógéppel. Az extrahált enzimes korpát ülepitettem, szűrtem és a kinyert lé aktivitási fokát megmértem a 2.0 pontban leírtak szerint. A mért SPA₇₅ értéket 10-zel beszorozva kaptam a száraz enzimes korpa aktivitási fokát /SPA₇₅/.

2.1.1.2 Üzemi tenyésztéses vizsgálatok

A korpás tápközeget üzemi technológia szerint állították elő /1.6/ és 0,2 %, valamint 0,4 % száraz oltóanyaggal kevertem el. /Az üzemi oltóanyag mennyisége 0,2 %./ A beoltott nedves korpát 4 kg-os mennyiségben 57 x 84 x 4 cm-es fedővel ellátott alumíniumtálcákon terítették szét. A tálcákban a korpa rétegvastagsága 2-3 cm között változott.

Az így elkészített tálcákat a tenyésztő helyiség állványzatának alsó és középső szintjein helyeztem el úgy, hogy az egy szinten lévő tálcák hőmérséklete és relatív páratartalma azonos legyen. Mindkét tálcasor 0,2 %-0,4 % oltóanyagot tartalmazó/ 1-1 alsó és középső tálcájában 2 óránként

mértem a korpa hőmérsékletét. A 2. naptól 24 óránként átlagmintákat vettem az azonos oltóanyagot tartalmazó és egy szinten lévő 5-5 tálcáról, melynek hőmérsékletét is feljegyeztem.

A mintákat 40 °C-on sulyállandóságig szárítottam és a 2.1.1.1 pontban leírtak szerint mértem a száraz enzimes korpa aktivitását /SPA₇₅/.

2.1.2 Kémiai adalékanyagok és a sárgarépa hatásának vizsgálata az Aspergillus niger V₇₇₀ enzimtermelésére

Az Aspergillus niger V₇₇₀ pektinbontó enzimtermelésének növelésére 4 kémiai anyag hatását vizsgáltam, söragaron és korpás tápközegben. Ezenkívül a sárgarépanak, mint konzervipari hulladéknak az enzimtermelésre gyakorolt hatását ellenőriztem. Végül üzemi körülmények között a jó eredményt adó ammóniumsulfát és sárgarépa hatását vizsgáltam meg.

2.1.2.1 Laboratóriumi tenyésztések a kémiai anyagok hatásának vizsgálatára

2.1.2.1.1 Kémiai adalékanyagok hatása söragaron tenyésztett Aspergillus niger enzimtermelésére.

4-féle söragar táptalajt készítettem, ami

1. 0,3 % ammóniumsulfátot,
2. 0,3 % dinátriumhidrogén-foszfátot $/\text{Na}_2\text{HPO}_4/$,
3. 0,3 % kalciumlaktátot és
4. 0,1 % L-triptofánt tartalmazott.

Lemezt öntöttem a különböző agar tápközegекből és *Aspergillus niger* V₇₇₀ 0,1 ml $10^6/\text{ml}$ spóra szuszpenzióját szélesztettem el rajta. 10 napig 30 °C-os termosztátban inkubáltam. Az erősen bespórásozott lemezekről 0,2 % Ipatexet tartalmazó steril vízzel külön-külön lemostam a spóra tömegét és 1 ml $10^7/\text{ml}$ spórával beoltottam a 2.1.1.1 pont szerint készült nedves korpát. Az üvegeket 3 x 24 óráig 30 °C-on inkubáltam, majd megmértem a száraz enzim kórpa aktivitását $/\text{SPA}_{75}/$, 2.1.1.1 szerint.

A 4 vizsgálati sort, tehát a 4-féle kémiai anyagot tartalmazó söragarrról nyert oltószuszpenzióval beoltott nedves korpák képezték.

A vizsgálatokat 4-4 párhuzamos mintával végeztem.

2.1.2.1.2 Kémiai anyagok enzintermelést befolyásoló hatása kórpa tápközegben.

Az e pontban leírt kísérletek abban különböznek a 2.1.2.1.1-ben leírtaktól, hogy a 4-féle kémiai anyagot közvetlenül a korpába tettem és maláta agaron tenyésztett *Aspergillus niger* V₇₇₀-es törzsszel

oltottam be. A nedves korpa 0,3 % NaHPO_4 -t, 0,3 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -et, 0,3 % kálciumlaktátot és 0,1% L-triptofánt tartalmazott. /Mindig csak egy kémiai anyag volt a korpában adalékként./

2.1.2.2 A sárgarépa aktivitást befolyásoló hatásának és az optimális keverési aránynak a vizsgálata laboratóriumi körülmények között

Tisztára mosott, nyers sárgarépát $1 \times 2 \times 10$ mm széles, va stag, hosszú csikokra reszeltem. Az így előkészített répából a 2. táblázat alapján készítettem el a kísérletekhez a tápközeget.

Az 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1 korpa-répa arányu tenyésztő közeget 100 g-os mennyiségekben adagoltam konzerves üvegekbe, steriliztem és a 2.1.1.1 pontban leírtak szerint beoltottam, majd 30°C -on 3, illetve 6 napig inkubáltam, az un. "üveges kultúrákat".

Az enzimes korpát 40°C -on sulyállandóságig szárítottam, és a 2.1.1.1 pontban leírt módon extraháltam, mértem a lé aktivitási fokát SPA_{75} / és átszámítottam a száraz korpa aktivitását. A kísérleteimet 2-2 párhuzamos mintával végeztem el.

2.1.2.3 Üzemi kísérletek az ammóniumsulfát és a sárgarépa *Aspergillus niger* enzimettermelést növelő hatásának bizonyítására

A kísérleti anyag előkészítése megegyezik a 2.1.2.1.2 pontban leírt módszerrel, azzal a különbséggel, hogy üzemi kísérleteimnél 0,5 % és 1 %-nyi ammóniumsulfátot kevertem a korpás tápközegbe.

Sárgarépa aktivitást fokozó hatásának üzemi bizonyítására a laboratóriumi vizsgálatoknál a legjobbnak bizonyult a sárgarépa, korpa 1 : 2 arányú keverékével végeztem. A keverési arányt a 2. táblázat mutatja. A tápközeg beoltása és a tenyésztés hőfoka az irányított tenyésztési eljárás technológiájának felel meg, a tenyésztési idő 96 óra volt.

A száraz enzimes korpa aktivitását mértem a 2.1.1.1 szerint és az üzemi technológia szerint gyártott /1.2.4/ enzim aktivitását is megmértem.

2.2 A Polizim enzim aktivitását befolyásoló tényezők vizsgálata az optimális alkalmazási technológia kialakításához

Pomoszín pektinoldatban vizsgáltam a környezeti tényezők hatását a Polizim enzim bontási sebességére

és a tenyésztési hőmérséklet emelésének hatását az enzim hőérzékenységeinek csökkentésére.

2.2.1 A Polizim enzinkészítmény pektin- bontási hőoptimumának vizsgálata

Aspergillus niger V₇₇₀ törzssel az üzemi technológiához hasonlóan, de 30 és 40 C°-on történő tenyésztéssel laboratóriumban állítottam elő Polizimet. A tenyésztési idő 5 nap volt. Az így nyert enzimes korpát 3-szoros mennyiségű, 4 pH-ju sósavas vízben 3 órás intenzív rázatással kiáztattam, üle-pitettem és szűrtem.

További vizsgálataimat az így előállított két készítménnyel végeztem; a 30 C°-on tenyésztett *Aspergillus niger*ből extrahált enzimet "Polizim 30"-al és a 40 C°-on tenyésztett és extrahált preparátumot "Polizim 40" jelöléssel láttam el.

A bontási hőoptimum vizsgálataimat 0,6 %-os Pomosin pektinoldatban vizsgáltam. 50 ml-nyi pektinoldatokba pipettáztam 0,2 ml "Polizim 30" és "Polizim 40" enzimet és 2-2 párhuzamos mintát 10-20-30-40-50-60-70 $\pm$ 0,2 C°-os ultratermosztátban tartottam 1 óráig. Minden hőfokon kontroll pektinoldatot is elhelyeztem. 1 óra után 10 C°-ra visszahűtöttem a mintákat és 25 C°-os vízfürdőben 6-os jelű módosított Ostwald-féle viszkoziméterrel mértem a pektin-

oldatok kifolyási idejét. Az 1.1.2-ben leírt módszerrel számoltam a specifikus viszkozitást és a bontási fokot.

2.2.2 A Polizim enzim Q_{10} értékeinek meghatározása

A 2.2.1 fejezetben a 10-20-30-40-50-60-70 C°-on mért bontási sebességekből a következő képlettel számoltam ki a "Polizim 30" és a "Polizim 40" Q_{10} értékeit:

$$Q_{10} = \frac{\text{sebesség } T^{\circ} + 10 \text{ C}^{\circ}\text{-on}}{\text{sebesség } T \text{ C}^{\circ}\text{-on}}$$

2.2.3 A Polizim enzim hőinaktiválódása vizes oldatban

A vizsgálati módszer megegyezik a 2.2.1 pontban közöltekkel, azaz a különbséggel, hogy a "Polizim 30" és "Polizim 40" enzimeket 1 : 2 enzim-víz arányban hígítottam és ezeket a vizes oldatokat 50 ml-es Erlenmeyer lombikokba töltöttem és 50-60-70-80 $\pm$ 0,2 C°-on 20-40-60 percig tartottam ultratermosztátban. A kezelési idő elteltével az enzim oldatokat lehűtöttem 20 C°-ra és 50 ml 0,6 %-os pektinoldatokba pipettáztam 0,2 ml-eket 2 párhuzamos mintába, a hőkezelt enzim oldatokból, 1 órá

50 C°-os pektinbontást végeztem, a maradék aktivitás meghatározására. Viskoziméterrel mértem a kifolyási időket és 1.2.2-ben leírt módon számoltam a bontási fokot.

2.2.4 A szubsztrát pH-jának hatása a Polizim bontási sebességére

A pH-optimumot 0,6 %-os Pomoszin pektinoldatban mértem, aminek a pH-ja 3,6. 1,5 pH - 6,5 pH tartományban 10 pH értéken határoztam meg a készítmények bontási sebességét. A pH beállítására citromsav puffert és 0,1 normál NaOH-t használtam. A pektinoldatok pH-ját Radelkisz titriméterrel Pt-kalomel elektróddal mértem.

Az ismert pH értékű 50 ml pektinoldatokba 0,2 ml "Polizim 30" és "Polizim 40" enzimet pipetáztam. A 2-2 párhuzamos mintát és az azonos pH-értékű kontroll mintát 1 óra hosszat 50 C°-on Wassermann vízfürdőben hőntartottam, mértem a pektinoldat kifolyási idejét és az azonos pH-ju kontroll minta százalékában fejeztem ki a bontási fokot.

2.3 A Polizim enzim alkalmazása a gyümölcsfeldolgozó iparban

A gyümölcslé ipar két területen hasznosítja a pektinbontó enzimeket. Dolgozatomban mind a két fő irányban vizsgáltam a Polizim enzim hatékonyságát és felhasználásának technológiai kérdéseit.

1. A gyümölcsök préselés előtti enzimes előkezelésének hatását vizsgáltam a málna, a fekete-ribiszke és az őszibarack préselési léhozamára.

2. A Polizim enzim több mint 90 %-át az almalé sűrítmény előállítására, az almalé derítésére és pektin mentesítésére használja fel az ipar. Kísérleteimmel igyekeztem kidolgozni az almalé derítés technológiai alapjait és irányelveit - az optimális enzim adagolás, derítési idő és hőmérséklet meghatározásával.

2.3.1 Polizim enzimes előkezelés hatása a gyümölcsök préselési léhozamára és a préselhetőségére

A Polizim enzim lényeredék növelő hatását először laboratóriumi körülmények között mértem ki a Körmeny-féle I., II. számú laboratóriumi préselés vizsgáló készüléken. /KÖRMENDY I., 1961./

A préselés vizsgáló készülék prérshengerből áll, melyben dugattyu mozog egyirányban. A préseléshez szükséges nyomást kereskedelmi nitrogén palackból nyertem. A gyümölcs-zuzalék hőmérséklete a préselés alatt hőntartó köpennyel szabályozható. A kipréselt lé egy mérlegen elhelyezett edénybe folyik. A présnyomás a prézen elhelyezett manométeren olvasható le. A dugattyuhoz csatlakozó tü tömszelencén keresztül nyulik ki a nyomás alatti térből és elmozdulás mérón olvasható le a dugattyu elmozdulása. A prés mérőműszereinek skálái egy síkba hozhatók, ezáltal a műszerállások egy adott pillanatban fényképfelvétellel rögzíthetők, így a préselés alatt 10 sec időközben leolvashatók.

4. ábra. A II. számú Körmeny-féle préselés vizsgáló készülék. /A találmány alapszáma: KO-2283/

2.3.1.1 Laboratóriumi kísérletek a málna préselési léhozamának növelésére

A mérések célja a többlet léhozam megállapítása az optimális enzim adagolás és az előkezelés idejének meghatározása.

Érett, egészséges málnát 200 g-os adagokban üveg pohárba mértem és összezúztam. Egy-egy sorozatot 6600 SPA₇₅, ill. 11 000 SPA₇₅ Polizim enzim adaggal elkevertem. Az így előkészített málnát a kontroll mintákkal együtt 22 C⁰, ill. 50 C⁰-os Wassermann vízfürdőbe raktam és a párolgás meggátolására lefedtem az edényeket.

A préselést az enzim bekeverésétől számított 1, 2, 3, 4, 8-12-24 óra stb. után végeztem, a Kőrmendy-féle I. számú présel. A préselési nyomásmenetrend: 2 percig 4 kp/cm², majd 3 perc 10 kp/cm² volt.

Mértem a lé mennyiséget /pond/, a visszamaradó törköly súlyát /pond/ és számoltam a százalékos léhozamot.

2.3.1.2 Üzemi kísérletek a málna préselési lého- zamának növelésére Polizim enzimmel

Üzemi méréseimhez konzervérett málnát készítettek elő, 0,3 % hangyasavval gátoltam meg az erjedést.

A málnát hordókban szállítják az üzembe. A kísérleti hordókba külön-külön 6600 SPA₇₅/kg aktivitási egységnyi Polizimet kevertem el.

Az ily módon előkészített málnát a kontroll hordókkal együtt a gyár udvarán, napos helyen tároltam 24 óra hosszat, egy hasonlóan előkészített kísérletnél 60 órát.

Az első kísérlet alkalmával a nappali léghőmérséklet 25-27 °C, éjszaka pedig 18 °C volt.

A második sorozat préselése előtt nappal 20-22 °C, éjjel 15 °C volt a levegő hőmérséklete.

A 24, illetve 60 órás enzimes előkezelés után az üzemi préselési technológia szerint kéttálcás csomagprésen nyertük a levét.

Az első mérési sorozatnál a prés maximális rácsközi nyomása 7,81 kp/cm² volt.

A második mérés alkalmával 4,99 kp/cm² rácsközi nyomást értek el.

A préselés előtt mértem a présbe kerülő málna súlyát /kp/. A préselés után pedig a kipréselt lé mennyiségét /kp/ és a présmaradék súlyát /kp/, az enzimesen előkészített és a kontroll málnánál is, és számoltam a százalékos léhozamokat.

Az üzemi préselési nyomásmenetrend a 3. táblázatban látható.

2.3.1.3 A Polizimmal előkezelt feketeribiszke préselési léhozamai

A feketeribiszkével végzett préselési vizsgálataim metodikája megegyezik a 2.3.1.1 pontban leírtakkal.

200-200 g feketeribiszkét mértem az edényekbe és 6600, valamint 11 000 SPA₇₅/g Polizimet adagoltam hozzá, jól elkevertem, zúrtam a gyümölcsöt és 50 pondos mennyiségekben préseltem.

Az egyik sorozatot 22 °C-on előkezelttem és 2, 4, 6, 12, 24 óra elteltével préseltem.

A másik sorozatot pedig 50 °C-on előkezelttem és 2, 4, 6 óra után préseltem. A préselést a Körmeny-féle I.sz. présel végeztem 10 kp/cm² nyomással, 5 perces préselési idővel. Mértem a kipréselt lé súlyát /p/, a présmaradék súlyát /p/, léhozamokat, az előkezelési idő függvényében ábrázoltam.

2.3.1.4 A Polizim enzimes előkezelés hatása az őszibarack préselési léhozamára

Konzervérett őszibarackot háztartási reszelőn reszeltem le és 150 p-okat mértem cg pontossággal, a párolgás meggátlására lefedtem az edényeket. A Polizim enzim léhozam növelő hatásának vizsgálatánál 4000-6000-8000 SPA₇₅/g aktivitási egységeket adagoltam.

Az enzim bekeverése előtt a zuzalékot 50 °C-ra melegítettem és az enzim adagolásától számított 2 óra múlva préseltem, közben 50 °C-os Wassermann vízfürdőben helyeztem el.

Az őszibarackot a II.sz. Körmeny-féle préselés vizsgáló készülékkel végeztem 15 kg/cm² állandó nyomáson 15 percig.

A préselhetőség jellegének megállapítására a léhozamok időbeni alakulását 2 x log. léptékben ábrázoltam. Az ordinátára a százalékos léhozam /y/ lg értékeit, az abszcisszára a

$$\frac{t}{\sqrt{\frac{G_0}{F_0}}^2} \text{ kifejezés lg értékeit tüntettem fel,}$$

ahol:

t - préselési idő /perc/

G₀ - betöltött zuzalék mennyisége /pond/

F₀ - a présfelület /cm²/

/KÖRMENDY, 1961/.

2.3.2 A Polizim enzim almalé derítő- képességének a vizsgálata

2.3.2.1 Polizim és Pektinol /NSZK/ enzim almalé derítőképességének összehasonlítása

Kísérleteimhez frissen préselt almalevet használtam fel, aminek az eredeti pektintartalmát alkoholos kicsapás után mértem. Szükséges megjegyezni,

hogy az almaléből alkohollal kicsapható anyagok között nemcsak pektin van, hanem más anyagok is /pl. fehérje, keményítő/, de ezek mennyisége nem jelentős a pektin mennyiségéhez viszonyítva.

A pektin alkoholos kicsapással történő meghatározása. 10 ml szűrt, centrifugált almalevet 20 ml 96 %-os alkohollal összeráztam. 10 perces állás után a csapadékot terylén vásznon szűrtem. A terylénen fennmaradó frakciót lekapartam és 55 C°-on sulyállandóságig szárítottam, mértem és suly%-ban fejeztem ki az alkohollal kicsapható frakciót.

Enzimes deritések módszere. A frissen préselt, zavaros almalevet 50 C°-ra melegítettem, 1000 ml-es mennyiségekben adagoltam magas üvegedényekbe és 50 C°-os termosztátba tettem. Ezután 2-4-6-8000 SPA_{75/1} aktivitási egységű Polizim és Pektinol enzimmel végeztem a derítést úgy, hogy mindkét készítmény 4 aktivitási egységű mintáit 2-3-4-5 óráig hőntartottam.

A pektinbontás ellenőrzési módszerei. A meghatározott derítési idők után az almalé maradék pektintartalmát alkoholos kicsapással, valamint viszkozimetriánál határoztam meg.

Az alkohollal kicsapható pektin meghatározása. 10 ml szűrt almaléhez 20 ml 96 %-os alkoholt pipetáztam kémcsőbe és jól összeráztam az elegyet. 10 perces állás után értékeltem a mintákat, a maradék

pektintartalmuk alapján a következő 3 kategória szerint:

1. Az erősen pektines almaléből nagy mennyiségű pektin válik ki. Kocsonyás csapadék formájában. Az ilyen minta rosszul lebontott almaléből származik /jele: +/.
2. A kémcsőben összeálló kocsonya /pektin/ nincs, de a kémcső összerázása után még az üveg falán szemcsés formában tapadó agglomerátumok láthatók, akkor a lében pektin nyomok vannak /jele: ±/.
3. A kémcsőben az almalé-alkohol elegy összerázása után nincs kiválás, a kémcső falán nincs tapadó pektin, tökéletes pektinbontás /jele: -/.

A pektinbontás meghatározása almalében, viszkozitás méréssel. 6-os jelű módosított Ostwald-féle viszkoziméterrel mértem az almalé viszkozitásának a csökkenését a kontroll almaléhoz viszonyítva. A bontási fokot a 2.0 pontban leírt módszer szerint számoltam.

3. VIZSGÁLATI EREDMÉNYEK

3.1 Az Aspergillus niger V₇₇₀ enzimtermelését befolyásoló tenyésztési tényezők vizsgálata

3.1.1 Az Aspergillus niger V₇₇₀ növekedési és enzimtermelési hőoptimumának és az optimális tenyésztési idő kimérése

3.1.1.1 Laboratóriumi kísérletek, a tenyésztési hőfok és idő hatása az Aspergillus niger V₇₇₀ törzs pektinbontó enzim termelésére

A 2.1.1.1 pontban leírt "üveges kultúra" tenyésztéses módszerrel nyert eredményeket az 5. ábrán és a 4., 5. táblázatban tüntettem fel. A micélium képződés és a spórásodás mértékét a tenyésztési idő és hőfok alapján a 4. táblázatban ábrázoltam. Az 5. táblázat és az 5. ábra az enzim aktivitási értékeit tartalmazza, a tenyésztési idő és hőfok függvényében.

A vizsgált törzs növekedési hőoptimuma 40 °C, tehát az átlagos 30 °C-os penész növekedési hőoptimumot 10 °C-kal haladja meg.

40 °C-on kétszer nagyobb aktivitás érhető el, mint 20-30 °C-on.

Az 50 C°-on történő tenyésztés az enzintermelésre gátlóan hat. Az 5. ábrán a 48 órás tenyésztésnél nincs 50 C°-os minta, azért mert 48 óráig 30 C°-on inkubáltam, hogy a tenyészet egy bizonyos mértékű átszövődést és enzimaktivitást érjen el és csak 48 óra után helyeztem a mintákat 50 C°-os termosztátba. A 48. órától 50 C°-on nincs aktivitás növekedés. A nagy hőmérséklet nemcsak gátolja az enzintermelést, hanem károsítja is.

A tenyésztési idő függvényében nő a termelt enzim aktivitása. Jelentős az aktivitás növekedés a 96-100 órás tenyészetekben, a továbbiakban már kisebb az enzimaktivitás növekedése.

A 4. táblázat a V₇₇₀-es törzs micélium és spóraképzését tünteti fel, a tenyésztési idő és a hőmérséklet függvényében. A 4. táblázat és az 5. ábra alapján megállapítható:

A tenyészetekben a spóraképződés alatt is van enzintermelés. A legintenzívebb enzintermelés egybeesik a spórázás megindulásával.

A korpa átszövődése a 3. és 4. napon eléri a tenyésztési hőfoknak megfelelő optimumot és a micélium tömeg a további tenyésztés során már nem növekszik lényegesen.

Az 50 C°-on inkubált enzimes korpa kellemetlen szaga és nyúlós állománya lett.

A spóráképzés optimális hőmérséklete 25-30 °C. 40 °C-on a tenyészetek gyengébben spórásoznak, csak a felületen, míg a 30 °C-on tenyésztett V₇₇₀-es törzs az enzimes korpa teljes keresztmetszetén barnás fekete spórát képez.

3.1.1.2 Az üzemi felmérés és a tenyésztéses vizsgálatok eredményei

A laboratóriumi kísérletek során szerzett tapasztalatok ismeretében felmértük az üzemi tenyésztési körülményeket. Az üzem tenyésztő helyiségeiben mértük a tálcákban az enzimes korpa hőmérsékletét, a tenyésztési idő és a tálcák állványzaton való elhelyezésének függvényében, és az adatokat a 6. táblázatban, valamint a 6. ábrán tüntettük fel. Az ábra a tálcás tenyészetek hőmérsékletének alakulását mutatja, a tenyésztési idő függvényében és a következők állapíthatók meg az alsó és a középső szinten elhelyezett tálcákban kialakult hőfokváltozások alapján:

A tenyésztő tálcák hőmérséklete nem egyenletes a teremben. Az enzimes korpa tömege a terem légteréhez viszonyítva nagy, az intenzív micélium képződés és a megnövekedett anyagcsere során képződött hőmennyiség elvezetése nem megoldott. Különösen a középső tálcasorok melegedtek túl a tenyésztés során.

A középső tálcákban az anyagsere során fel-
lépő hőtermelés következtében az enzimes korpa hő-
mérséklete eléri az enzimtermelést bénító és káro-
sító 50°C -ot, és csaknem 10 óra hosszat ezen a
hőmérsékleten van.

Az alsó tálcák a talaj közelsége miatt nehezen
melegednek fel, nem érik el a kritikus 42°C felet-
ti értéket, de ugyanakkor rövid ideig tartózkodnak
az enzimtermelés szempontjából optimális hőmérsék-
leten, csak 12 órát, ami az összes tenyésztési idő
20 %-a.

3.1.1.3 Üzemi kísérlet az oltóanyag mennyiségének
változtatásával az enzimes korpa tulmele-
gedésének megakadályozásával, a termelt
enzim aktivitásának alakulására, az inku-
bációs idő függvényében

Ebben a kísérletsorozatban 0,2 % és 0,4 % oltó-
anyaggal elkevert korpa hőmérsékletét és aktivitá-
sát mértem a tálcák állványzaton való elhelyezésé-
től függően. Ügyeltem arra, hogy az enzimes korpa
hőmérséklete ne melegedjék $42-44^{\circ}\text{C}$ fölé. A tulme-
legedést a tálcafedők levételével akadályoztam meg.
A tálcákban lévő enzimes korpák hőmérsékletét az
idő és az oltóanyag mennyiségének függvényében a
7. táblázatban tüntettem fel, míg ezek enzimaktivitási

értékeit a 8. táblázat tartalmazza. A 7. és a 8. ábra pedig ezek együttes grafikus ábrázolásával készült.

A 7. és 8. táblázat, valamint a 7. és 8. ábra alapján megállapítható:

A korpa hyfával való átszövődése a tenyésztő helyiségben lassan indul meg. A középső tálcákban 18-24 óra után jelentkezik az intenzív micélium képződésre utaló hőtermelés, míg a hűvösebb helyen lévő alsó tálcákban 32-40 óra után következik be jelentős hőmérséklet emelkedés.

Az enzimes korpa aktivitása a 90 órás tenyésztés után csaknem 50 %-kal megnövekedett a 72 órás tenyészethez viszonyítva. A tálcafedők levételével sikerült megoldani a felesleges hőmennyiség elvezetését a túlzott felmelegedést, azonban hátránya az, hogy a korpa gyorsan kiszárad és a vízhiány gátolja az intenzív anyagcserét.

Az oltóanyag mennyiségének növelése 0,2 %-ról 0,4 %-ra a korpa gyorsabb átszövődését eredményezi, az intenzívebb micélium képződést segíti elő, de azal a veszéllyel jár, hogy a termelt felesleges hőmennyiség elvezetése nélkül az enzimes korpa túlmelegszik és ez aktivitási veszteséget okoz.



3.1.2 Kémiai adalékanyagok és a sárgarépa
hatásának vizsgálata az Aspergillus
niger V₇₇₀ enzintermelésére

3.1.2.1 Laboratóriumi tenyésztéses vizsgálatok
a kémiai anyagok enzintermelést befo-
lyásoló hatására

A korpa tápközeg kiegészítésére törekedtem a kémiai anyagok adagolásánál abból a célból, hogy kis mennyiségben adagolt anyagok komplettálják a tápközegét és a termelt enzim aktivitását fokoz-
zák.

Sőragarba kevertem 0,3 % ammóniumsulfátot, dinátriumhidrogénfoszfátot és kalciumlaktátot, va-
lamint 0,1 %-ban L-triptofánt. Az így elkészített lemezekon nőtt Aspergillus niger spórájával elke-
vert korpa tápközeg 72 órás, 30 °C-os inkubálása után mért enzim aktivitásokat tüntettem fel a 10. táblázatban és a 9. ábrán.

Az ammóniumsulfát és az L-triptofán hatására 40-50 %-kal nő az Aspergillus niger pektinbontó en-
zintermelése, emelkedik a kinyerhető enzim aktivi-
tása, a második nemzedékben akkor, amikor már a korpa tápközegben nincs jelen az adalékanyag.

Az ammóniumsulfátot, valamint az L-triptofánt tartalmazó söragar lemezeken lassu és gyenge a spórásodás, viszont a micélium képződése intenzív.

A kalciumlaktátnak és a dinátriumhidrogénfoszfátnak nincs egyértelmű aktivitást befolyásoló hatása, csak 5-8 %-kal nő a termelt aktivitás.

Az enzimtermelést fokozó ammóniumsulfátot és az L-triptofánt oltóanyag előállítására nem ajánlom, mert lassítja a spóráképződést. Ezért közvetlenül a korpa tápközegbe kevertem és vizsgáltam az enzimes korpa aktivitását.

A vizsgálat eredményeit a 11. táblázatban és a 10. ábrán tüntettem fel, amelyen a különböző adalékanyagok hatására bekövetkezett aktivitás változásokat ábrázoltam oszlopdiagrammokkal.

Az ábrán látható, hogy a 0,2 % ammóniumsulfát 50 %-kal növeli a termelt enzim aktivitását, míg az 0,1 % L-triptofén hatására 25 %-kal nagyobb aktivitásu enzim extrahálható.

A 0,3 % kalciumlaktát és dinátriumhidrogénfoszfát a kontroll minta aktivitásához viszonyítva alig mutat növekedést.

3.1.2.2 A sárgarépa hulladék enzintermelést befolyásoló hatásának és az optimális keverési arány laboratóriumi vizsgálatának eredményei

A sárgarépa hulladék konzervipari melléktermék és a Kecskeméti Konzervgyárban 4-5 hónapon keresztül az Enzim üzem rendelkezésére áll, a korpa egy részének helyettesítésére. Kísérleteim arra irányultak, hogy milyen arányban helyettesíthető répahulladékkal a korpa és milyen hatással van az *Aspergillus niger* pektinbontó enzim termelésére.

Laboratóriumi méréseim eredményeit a 12. és 13. táblázat tartalmazza, és a 11. és 12. ábrán oszlopdiagrammon tüntettem fel a különböző arányú korpa-répa keveréken nyert enzimes korpák aktivitását, a kontroll mintákhoz viszonyítva. A 12. és 13. ábrán látható, hogy a korpa egy része helyettesíthető sárgarépa hulladékkal.

A 2 : 1 és a 3 : 1 korpa-répa keverési arányú tápközeg az optimális a penészgomba enzintermeléséhez és 20-35 %-kal nő az enzim aktivitása a kontroll mintákhoz viszonyítva.

3.1.2.3 Üzemi ellenőrző mérések az ammóniumsulfát és a sárgarépa hulladék enzimaktivitást növelő hatásának bizonyítására

Az üzemi méréseket 0,5 és 1,0 %-os ammóniumsulfát bekeverésével és 2 : 1 arányu korpa-répa keverékkel végeztem. Mértem a száraz enzimes korpa aktivitását, valamint a belőle extrahált Polizim enzim aktivitását is 96 órás tenyésztés után. A mérések eredményeit a 14. táblázatban és a 13. ábrán foglaltam össze.

Az üzemi mérések igazolják a laboratóriumi vizsgálatok eredményeit.

0,5 % ammóniumsulfáttal 48 %-, 1 % adagolásával pedig 60 %-kal megnövekedett a száraz enzimes korpa aktivitása és a belőle extrahált Polizim aktivitása is, 0,5 % ammóniumsulfát hatására 55 %-kal, 1 % hatására pedig 78 %-kal nőtt.

3.2 A Polizim enzim jellemző tulajdonságainak vizsgálata az alkalmazási technológia szempontjából

A Polizim enzim három jellemző tulajdonságát vizsgáltam, az enzim bontási hőoptimumát, a hőinaktiválódás mértékét és az enzim bontási pH optimumát.

3.2.1 A Polizim enzinkészítmény bontási

hőoptimumának meghatározása

Az *Aspergillus niger* V₇₇₀-es törzs 1958-ban a kecskeméti Enzim üzem termelésének megindulásakor kisebb fejlődési hőoptimummal rendelkezett /32-34 C°/ és a termelt enzim is 50 C° körüli hőoptimumot mutatott és 8 év alatt adaptálódott az üzemi körülményekhez, nőtt a tenyésztés hőoptimuma és az enzim bontási hőoptimuma is. Vizsgálataimhoz nem tudtam megszerezni a korábbi, még nem adaptálódott V₇₇₀-es törzset, ezért a már nagyobb növekedési hőoptimummal bíró V₇₇₀-es törzset tenyésztettem 30 C°-on és 40 C°-on, ezekből extrahálta m a "Polizim 30" és a "Polizim 40"-el jelzett preparátumot és vizsgáltam, milyen hatással van a tenyésztési hőmérséklet a termelt pektinbontó enzim bontási hőoptimumára és hőérzékenységre. A 15. táblázatban és a 14. ábrán tüntettem fel a 10-20-30-40-50-60-70 C°-on 1 órás pektinbontás után mért specifikus viszkozitás és bontási fok értékeit. Az ábrán és a táblázatból a következők állapíthatók meg:

A Polizim enzim bontási sebessége 10-60 C°-ig nő.

50-60 C° között a bontási sebesség lelassul, a hő aktiváló és inaktiváló hatásának két ellenté-

tes folyamata 58°C -nál van egyensúlyban, 1 órás fermentáció alatt.

30°C -on a Polizim enzim aktivitásának 40-50 %-a hasznosul - $58-60^{\circ}\text{C}$ -on pedig 100 %-ban kifejti pektinbontó képességét, változatlan pH-viszonyok mellett.

A "Polizim 30" és a "Polizim 40" jelzésű preparátumok hőoptimumában nincs különbség, csak az aktivitásukban a "Polizim 40" preparátum javára.

3.2.2 A Polizim enzim Q_{10} értékei

Az előző 3.2.1 pontban ismertetett vizsgálati sorozat eredményei alapján 10°C -onként mért bontási sebességekből számolt Q_{10} értékeket a 16. táblázatban és a 16. ábrán tüntettem fel.

A táblázatba foglalt értékek mutatják, hogy a Q_{10} értékek nagymértékben a meghatározás hőfok intervallumának függvényei. A nagyobb hőmérséklet intervallumokban a Q_{10} érték lecsökken egészen 1-ig, majd ahol a denaturálódás sebessége túllépi az aktiválás hatását, 1 alá csökken.

$30-40^{\circ}\text{C}$ közti intervallumban a "Polizim 30" Q_{10} értéke 1,73, a "Polizim 40" Q_{10} értéke 1,54. A nem kiegyenlített Q_{10} értékek oka az, hogy a pektin bontásakor a bontási folyamat alatt a sebességi állandó az idő előrehaladtával szabályosan csökken. /VAS, 1953./

75-80 % bontási fok felett egyes esetekben 1/3-ra, 1/9-re csökken az eredeti bontási sebességnek.

3.2.3 A Polizim enzim hőinaktiválódása vizes oldatban

A 17. táblázatban, valamint a 15. ábrán a 30 %-os enzim oldat inaktiválódását tüntettem fel 50-60-70-80 C°-on, 20-40-60 perces hőntartás után.

Megfigyelhető, hogy a "Polizim 40" jelzésű készítmény 60 C°-on relatív aktivitásának csak 5 %-át veszíti el 1 órás kezelés alatt. 70 C°-on a relatív aktivitásának csak 10-12 %-a marad meg 1 óra után.

A hőhatás lerövidítése 20-40 percre alig csökkenti az inaktiválódás mértékét.

A "Polizim 40" kritikus inaktiválódási hőmérséklete 64 C°.

3.2.4 A Polizim enzim pH-optimumának meg- határozása

A szubsztrát hidrogénion koncentrációjának hatását a Polizim enzim pektin bontási sebességére 6 különböző pH-ra beállított 0,6 %-os Pomosin pektinoldatban a 17. ábra szemlélteti.

Az ábra alapján megállapítható, hogy a Polizim enzim széles pH intervallumban hat. A készítmény 3,5 és 4,5 pH között a legaktívabb, ebben a tarto-

mányban aktivitásának 95 %-a hasznosul, míg 2-3 pH, valamint 5-6 pH között is 50 %-ban fejti ki az aktivitását.

3.3 A Polizim enzim felhasználási területei a gyümölcsfeldolgozó iparban

A Polizim enzim almalé deritési, illetve gyümölcshúszalékok préselési léhozam növelő hatásának eredményei.

3.3.1 Polizim-mel végzett enzimes előkezelés a gyümölcshúszalékok préselési léhozamának növelésére

3.3.1.1 Laboratóriumi mérések eredményei a málna préselési léhozamának növelésére

A pektinbontó enzimek kettős funkciót töltenek be a gyümölcshúszalékok pektintartalmának lebontásával, felszabadítják a pektinanyagok által közrezárt levet, így növelik a préselési léhozamot, másrészt a kisajtott levek jobb és gyorsabb szűrhetőségét teszi lehetővé, mert gyorsítják a levek derülését a védőkolloidok elbontásával.

Laboratóriumi kísérleteim célja az volt, hogy bebizonyítsam a Polizim enzim léhozam növelő hatását, másrészt üzemi bevezetésre alkalmas előkezelési mó-

dokat mérjek ki. Meghatároztam az optimális előkezelési időt, az enzim koncentrációt, az un. hideg és meleg előkezeléses technológiákhoz.

A 20 C°-on történő málnazuzalék előkezelés hatását a préselési léhozamra a 19. táblázatban és a 18. ábrán, míg az 50 C°-on előkezelt gyümölcs léhozamait a kezelési idő függvényében a 20. táblázatban és a 19. ábrán tüntettem fel.

Az ábrákon és a táblázatokon a következők láthatók:

A Polizim enzimmel végzett előkezelés minden esetben 10-14 %-kal növeli a préselési léhozamot.

A 0,5 %-os Polizim koncentrációval kezelt gyümölcszuzalékból csak 1-2 %-kal több lé préselhető ki, mint a 0,3 % Polizimmal, tehát nincs nagy eltérés a két enzimkoncentráció hatása között.

A Polizim bontási hőoptimuma közelében 50 C°-on a pektinbontás gyorsabb, de 20 C°-on is elérhető az optimális léhozam, csak a fermentációs időt meg kell nyújtani 20-24 órára.

Az előkezelési idő növelésével 20 C°-on 24 órás előkezelésig jelentősen nő a léhozam, később a görbe ellaposodik. 50 C°-on pedig 2 óra fermentáció után jelentkezik a legnagyobb léhozam különbség, a kontrollhoz viszonyítva. /12 %; 20. ábra./

3.3.1.2 Üzemi mérések eredményei a málna préselési léhozamának növelésére

Üzemi méréseimet a Budapesti Konzervgyár léüzemében végeztem, és a lényerés megegyezett az üzemi gyakorlattal.

A 22. táblázat 24 órás, 0,3 % Polizimmal történő előkezelést követő préselés eredményeit tünteti fel.

342,5 kg kontroll mintából 68,3 % levet préseltek ki, míg az előkezelt 326,5 kg málnából 77,1 % levet nyertek. A léhozam növekedés 8,8 %.

A 24. táblázat nagyobb mennyiségű málnával végzett üzemi mérés eredményeit mutatja. Az előkezelés 60 órát tartott. A 23. táblázat a prés üzemi technológiai adatait tartalmazza. A kontroll málnából 76,8 % levet, míg a 0,3 % Polizimmal előkezelt málnából 83,3 % levet préseltek ki. A léhozam növekedés 6,5 %.

A második üzemi mérés az előző mérésnél, valamint a laboratóriumi méréseknél is kisebb léhozam többletet eredményezett, aminek az oka, hogy a 60 órás zuzott állapotban történő tárolás során a kontroll minta saját enzimei is lebontották a pektin egy részét és ezért a kontroll málnából 4-5 % kal több levet préseltek ki, mint az átlagos 72 % üzemi eredmény.

3.3.1.3 Polizimmal előkezelt feketeribiszke-zuzalék préselési eredményei

A 20 C°-on előkezelt feketeribiszkeből préselt lé súlyát az előkezelési idő függvényében a 25. táblázatban és a 21. ábrán, míg az 50 C°-on előkezelt zuzalékból kipréselt lé mennyiségeit a 26. táblázatban és a 22. ábrán tüntettem fel.

20 C°-on történő előkezelés hatására 12 óráig emelkedik, ezután már csak igen kis mértékben nő a léhozam.

0,3 % Polizim hatására 8 % léhozam többlet préselhető ki, míg 0,6 % enzimmal 10 % léhozam többlet érhető el 20 C°-os előkezeléssel.

20 C°-on a kontroll mintából a 2. órában kevesebb lé préselhető ki, mint az 1. órában, mert erősen kocsonyásodik a lé, ami a feketeribiszke nagy pektintartalmával magyarázható. Ezt a jelenséget 50 C°-on nem tapasztaltam.

50 C°-on 0,3 % Polizim hatására 6 óra fermentáció után a kontroll minta léhozamához viszonyítva 8 %-kal emelkedik a kipréselhető lé mennyisége.

3.3.1.4 Polizimmel történő előkezelés hatása az
őszibarack-zuzalék préselési léhozamaira
és a préselhetőségre

Az őszibarack-zuzalék 2 órás, 50 C°-os enzimes előkezelése után mértem a léleadás sebességét és a préselés végén az abszolút léhozamokat. Az eredményeket a 27. táblázatban és a 23., 24. ábrán tüntettem fel. A 23. ábrán látható, hogy az őszibarack-zuzalékból az előkezelés hatására 6-8 % többlet léhozam érhető el.

Az enzimadag növelésével nem lehet egyértelműen növelni a léhozamot, ami már azt jelzi, hogy a pektinek nagy részét a 4000 SPA₇₅ enzimadag is lebontotta.

A párhuzamos minták közötti viszonylag nagy szórádás oka a nem egyforma érettségű gyümölcs.

Az őszibarack préselése közben a léhozam sebességeit is mértem és ebből következtettem a gyümölcs préselhetőségére. Ezeknek az eredményeit 2 x logaritmusos léptékben ábrázoltam, ahol az ordinátóra a százalékos léhozam értékeit vittem fel /y/, míg az abszcisszára a $t/\frac{G_0}{F_0}^2$ értékeit.

Az ábrán megfigyelhető a görbék párhuzamos jellege, ami azt jelenti, hogy a préselés előtti léelválás növekszik az enzimes előkezelés hatására. A préselési

idő növelésével nő a kipréselt lé mennyisége. Az őszi-barack nehezen préselhető gyümölcs, hosszú préselési idő kell a magas %-os léhozam eléréséhez.

3.3.2 A Polizim enzim almale derítő képes- ségének vizsgálata

A konzervipar a Polizim enzim 95 %-át almale derítésére használja fel. Az almalevet az ipar 67 refrakció %-os sűrítmény formájában hozza forgalomba. 1969-ben a konzervipar 252 000 hl almalevet derített hazai gyártmányu Polizimmal és NSzK importból származó Pektinol flüssig enzimmal.

A kísérleteimben Polizim és Pektinol enzim almale derítő képességének az összehasonlítását végeztem el, valamint a különböző pektintartalmu almalevek derítéséhez szükséges enzimkoncentrációt és a derítési időt mértem ki.

3.3.2.1 Polizim és Pektinol enzim almale derítő képességének összehasonlító vizsgálata

A kísérleteimhez felhasznált almaleveket úgy választottam meg, hogy 0,15-0,3 % pektint tartalmazzanak, ami megfelel a konzervipar által derített almalevek átlagos pektintartalmának.

A 28. táblázatban és a 25. ábrán 0,289 % pektint tartalmazó almalé derítés eredményeit tüntettem fel. A 2-4-6-8000 SPA₇₅ aktivitásban adagolt Polizimmal és Pektinollal 50 C°-on 2-3-4 óráig tartó derítések bontási fokai és alkoholpróbái láthatók.

Az ábrából a következő megfigyeléseket lehet tenni:

A derítési idő és az enzim koncentráció növelésével a pektinbontás mértéke arányosan nő.

A Pektinol enzim gyorsabban bontja az almalé pektinjét, mint a Polizim azonos SPA₇₅ adagolás esetén. A Pektinollból 2 óra után 6000 SPA₇₅ enzimmal sűrítésre alkalmas levét nyertem, míg ugyanezt az eredményt Polizimmal csak 3 óra után értem el.

A pektinbontás sebességét az enzim koncentráció növelésével lehet növelni, míg a derítési idő növelésével alacsonyabb enzim koncentrációval is lehet préslevet deríteni.

A 26. ábrán a 0,289 %-os pektintartalmu almalé derítésének alkoholpróbái, a 27. ábrán pedig 0,17 % pektintartalmu almalé derítési alkoholpróbáinak eredményeit tüntettem fel.

Az ábrákból látható, hogy a kisebb pektintartalmu almalevet gyorsabban bontják le az enzimszitmények.

A Pektinol enzim 1 órával korábban éri el azt a deritettségi fokot, mint az ugyanazon aktivitási fokban adagolt Polizim enzim.

Sűrithető almalevet:

Polizim enzimmel -

2000 SPA ₇₅ -nél	4 óra deritési idővel
4000 SPA ₇₅ -nél	3 óra deritési idővel
6000 SPA ₇₅ -nél	2 óra deritési idővel
8000 SPA ₇₅ -nél	2 óránál rövidebb deritési idővel értem el.

Pektinol enzimmel -

2000 SPA ₇₅ -nél	3 óra deritési idővel
4000 SPA ₇₅ -nél	2 óra deritési idővel
6000 SPA ₇₅ -nél	2 óránál rövidebb deritési idővel
8000 SPA ₇₅ -nél	

lehet almalevet deríteni üzemi körülmények között is.

A 30. táblázat és a 28. ábra 0,158 % és 0,22 % pektintartalmu almalevek bontási fokai tartalmazza.

Az ábrán látható, hogy a nagy pektintartalmu leveknél nagyobb bontási fokot lehet elérni azonos enzim koncentrációval - a bontási fok az induló pektintartalom függvénye, de az almalé sűrithetőségéhez is tartozik egy specifikus viszkozitási érték, ami azt a maradék pektintartalmat jelenti, aminél már besűrithető az almalé anélkül, hogy a sűrítőanyag

bekocsonyásodna. A Pektinol enzim minden esetben nagyobb bontási fokot eredményez, ugyanazon az aktivitási érték mellett /TÓTH A.-né et al, 1970/.

4. ÉRTÉKELÉS. KÖVETKEZTETÉSEK

4.1 Az Aspergillus niger V₇₇₀ enzimtermelését befolyásoló tenyésztési tényezők vizsgálata

4.1.1 Az Aspergillus niger V₇₇₀ növekedési és enzimtermelési hőoptimumának és az optimális tenyésztési idő kimérése

Laboratóriumi és üzemi méréseim eredményei bebizonyították, hogy az Aspergillus niger V₇₇₀-es törzs enzimtermelési hőoptimuma 40 C°. Ez a nagy hőmérsékleti optimum az üzemi termelés során jött létre, a penészgomba alkalmazkodott a tenyésztési körülményekhez, az átlagos 30 C°-os penész növekedési optimumot 10 C°-kal meghaladja. A 42-44 C°-nál magasabb tenyésztési hőmérséklet káros a penészgomba enzimtermelésére, míg a 20-30 C°-on történő tenyésztés 40-50 %-kal csökkenti a termelést.

Vizsgálataim eredményeként megállapítható, hogy az üzemi 66 órás tenyésztési idő rövid.

96-100 óráig tartó tenyésztéssel 30-40 %-kal növelhető a termelés.

Az üzemben felhasznált 0,2 % oltóanyag mennyiség elegendőnek bizonyult az optimális tenyésztéshez.

Vizsgálataim során az *Aspergillus niger* üzemi tenyésztésének 3 szakaszát figyeltem meg és ennek az ismeretében alakítottuk ki a tenyésztés új technológiáját.

I. Induló fázis

II. Szaporodási, hőtermelő fázis

III. Intenzív enzintermelő fázis

Az I. un. induló fázisban a korpa hőmérséklete lassan emelkedik 30 C°-ra, a tálcák elhelyezésétől függően ez a folyamat 6-20 óráig is eltart. Az irányított tenyésztésben a fő cél az, hogy ezt a fázist lerövidítsük és a micélium képződést gyorsítsuk.

A II. un. szaporodási, hőtermelő fázisban a penészgomba micéliumaival fehér, nemesesre átszövi a korpát, miközben intenzív anyagszeréje folytán nagy mennyiségű hőt termel. Ennek a szakasznak a hossza 30-50 óra. Enzinképződés már ebben a szakaszban megindul, de a feladat az, hogy megakadályozzuk az enzimes korpa hőmérsékletének 42 C° fölé emelkedését.

A III. un. intenzív enzintermelő fázisban a micélium tömeg növekedése és a hőtermelés minimális. Az enzimes korpa hőmérséklete csökken, az enzinképződés intenzív.

A tenyésztésnek ebben a szakaszában az a feladat, hogy az enzimes korpa hőmérséklete ne süllyedjen 36°C alá, és a tenyészetek minimálisan 24-36 órát legyenek ebben a fázisban.

Hőigény szempontjából is megtaláljuk ezt a három szakaszt és ez megegyezik a tenyésztési fázisokkal.

Az I. és III. szakasz fűtést igényel, a II. szakasz viszont intenzív hűtést. A levegő cirkulációjával járó kiszáradást meg kell akadályozni, és a tenyésztő tálcákban 80 %-nál magasabb relatív páratartalmat kell biztosítani.

Az üzemi felmérések adatai alapján a KPKI Gépészeti osztálya megtervezte az enzim üzem levegőjének hőmérsékletét szabályozó fűtő-hűtő rendszert. A műszaki feltételek 1968 folyamán megvalósultak és jelentős gazdasági eredményt hozott az enzim üzemnek.

A hűtő-fűtő rendszer megvalósulása lehetővé tette a szabályozott, irányított tenyésztést az üzemben, ennek technológiai irányelvei a következők:

A fűssen beoltott korpát befogadó helyiséget addig kell fűteni, míg a tálcákban a korpa hőmérséklete 30-35 °C-ra melegszik. Az egyenletes tálcák hőmérsékleteket a tenyésztőteremben a tálcák cseréjével is elő kell segíteni, így elérhető a tenyésztés I. szakaszának lerövidítése 8-10 órára.

A II. fázis elején a korpa hőmérséklete az anyagszere során felszabaduló hő hatására 38-40 °C-ra melegszik fel. Ebben az időszakban a levegő hűtésével kell elérni, hogy a tenyészetek hőmérséklete ne emelkedjen 42 °C fölé és ne süllyedjen 36 °C alá. A hűtőrendszer légáramlása biztosítja a tenyésztőtérben a tálcákban közel egyenletes hőeloszlást. Az enzimes korpa hűtését 28-36 óráig, a II. fázis végéig kell biztosítani.

Ezután a tenyészetek folyamatosan hűlnek és fűtéssel kell megakadályozni azt, hogy az enzimes korpák hőmérsékletei ne süllyedjenek 36 °C alá. A tenyésztést optimális üzemelés mellett 90 óráig kell folytatni.

A jelenlegi 4 tenyésztő helyiség nem teszi lehetővé a folyamatos 90 órás tenyésztést csak 3 alkalommal 1 héten, míg 3 alkalommal 66 óráig tenyésztene.

4.1.2 Kémiai adalék anyagok és a sárga-
répa tápközeg hatásának vizsgálá-
ta az Aspergillus niger V₇₇₀ en-
zimtermelésére

Az Enzim üzem termelésének fokozására csak olyan kémiai adalék anyagok használhatók, melyek kis mennyiségben is hatásosak és olcsók, vagy pedig olyan konzervgyári hulladékok, melyek nagy mennyiségben és hosszú ideig az üzem rendelkezésére állanak és egészségre ártalmatlanok.

Laboratóriumi és üzemi vizsgálataimban 0,5 % ammóniumsulfát és 0,1 % triptofán bizonyult hatékonynak az Aspergillus niger pektinbontó enzimtermelésének a fokozására.

Üzemi kísérleteim során is mintegy 40-50 %-os termelés növekedést eredményezett.

Az ammóniumsulfát könnyen és olcsón beszerezhető, ezért üzemszerűen is felhasználja az Enzim üzem, 1968. IV. negyedévtől kezdődően.

Az L-triptofán is növeli a megtermelt enzim aktivitását, de felhasználása drága, ezért üzemi bevezetésére nem került sor.

A kalcium-laktátnak és a dinátrium-hidrogén-foszfátnak nincs aktivitást növelő hatása, ezért ezekkel üzemi kísérleteket nem folytattam.

Oltóanyag előállításához adalék anyagot nem célszerű felhasználni, mert lelassítják a spóraképződést.

Az oltóanyagot egyszerű korpa tápközegen 6 napos, 30 °C-os tenyésztéssel lehet a legbiztonságosabban előállítani.

Kísérleteim során igazolódott, hogy a sárgarépa hulladék megfelelő százalékban alkalmas a korpa helyettesítésére.

A korpa helyettesítésének optimális aránya 1 rész répa, 2 rész korpa.

Az 1 : 1 arányú keverék tápközegben a répa tömör szerkezetet alakít ki a sterilizálás után és nem szövődik át micéliummal teljes keresztmetszetében.

Az 1 : 3 répa : korpa arányú keverékben is jelentős aktivitás emelkedés tapasztalható, de a korpa nagyobb százalékban való helyettesítése a cél.

Az 1 : 2 répa-korpa keverési arány jó szerkezetet biztosít a tápközegnek, a gomba hifák könnyen és gazdagon átszövik azt és jelentős, 30 % aktivitás emelkedést jelent, aminek gazdasági haszna jelentős.

A sárgarépa enzintermelést fokozó hatását a növényi anyag sejtnedvei bioszanyagainak tulajdonítom, ezért egyéb növényi hulladékok /zöldborsó héj, alma-törköly, paradicsom-törköly/ felhasználásának körét is bővíteni lehet.

A jelentős gazdasági hasznot ígérő sárgarépa hulladékot az üzem nem használja fel, mert a hulladék répa földdel erősen szennyezett, nehezen tisztítható és hosszabb ideig tartó autoklávozást igényel, aminek nincs meg a műszaki lehetősége. Ezért az egyszerűbben felhasználható ammóniumsulfátot alkalmazza az üzem jó eredménnyel.

4.1.3 AZ Aspergillus niger V₇₇₀ törzs
tenyésztési tényezőinek optima-
lizálásával és az ammóniumsul-
fát felhasználásával elért gaz-
dasági eredmények

A Konzerv- és Paprikaipari Kutatóintézet /KPKI/ Mikrobiológiai és Gépészeti osztályának együttműködése során a Kecskeméti Konzervgyár Enzim üzemében 1968-ban megvalósultak az irányított tenyésztés feltételei. A KPKI Mikrobiológiai osztálya kidolgozta az üzemi termelés optimális feltételeit és törekedett annak maradéktalan megvalósítására, aminek eredménye 1969-ben mutatkozott meg.

A Kecskeméti Konzervgyár Enzim üze 1967-ben 56 tonna 1342 SPA₇₅ átlagaktivitású Polizimet állított elő.

1968-ban 49 tonna 1370 SPA₇₅ átlagaktivitású Polizim enzimet termelt az üzem.

1969-ben 72 tonna 1500 SPA₇₅ aktivitási foknak megfelelő Polizim enzimet gyártott az üzem, aminek az átlagos aktivitása 1800 és 2200 SPA₇₅ volt. Az Enzim üzem termelésének a növekedése 1967. évihez viszonyítva 41,2 %, 1968. évi termeléshez pedig 61,1 % volt.

1 liter 2000 SPA₇₅ Polizim enzim ára 44,- Ft.

Az 1967-68. évi termelést az Enzim üzem 800 000,- Ft termelési értékkel növelte meg 1969-ben.

Ezen a jelentős gazdasági eredményen felül még deviza megtakarítást is jelent, mert csak minimális Pektinol /NSzK/ enzim importálására volt szüksége a konzerviparnak az enzim igény teljes kielégítésére.

4.2 A Polizim enzimhatását befolyásoló tényezők vizsgálata az alkalmazási technológia szempontjából

4.2.1 A Polizim enzim bontási hőfok optimuma

A Polizim enzim pektinbontási hőfok optimuma 58-60 °C egy óra hosszát tartó pektinbontás esetén. Üzemi mérések szerint az almalé pektintartalmának nagy ingadozása miatt szükséges a 2-3 órás derítés, míg a gyümölcs-zuzalékok előkezelése is gazdaságo-

sabb kisebb enzinkoncentrációval, hosszabb ideig tartó pektinbontással. A hosszú bontási-derítési idő miatt az 50 C°-os hőtartás mutatkozott eddigi üzemi mérések szerint is a legkedvezőbbnek. E tényt alátámasztja az 50 és 60 C°-on mért bontási sebességek is, a Q_{10} érték 1,08; tehát e hőfok tartományban a hőmérséklet ingadozásnak nincs jelentős hatása a pektinbontás sebességére, de kiméli az enzimet az inaktiválódástól.

Az *Aspergillus niger* V₇₇₀ törzs 30 és 40 C°-on tenyésztett mintáiból nyert "Polizim 30" és "Polizim 40" preparátumok hőfok optima között nincs jelentős különbség - csak az aktivitásukban.

W. RZEDOWSKI /1966/ *Aspergillus niger* 30 és 45 C°-on tenyésztett, majd kiextrahálta és 45 C°-on besűrítette. Az így nyert pektinbontó enzimek bontási hőfok optimumát vizsgálta és azt találta, hogy a 30 C°-on tenyésztett *Aspergillus niger*-ből extrahált enzim 50 C°-os bontási optimumot mutatott, míg 45 C°-on tenyésztett kultúrából nyert készítmény 60 C°-on bontotta legnagyobb sebességgel a pektint.

A Polizimhez hasonló eredményekről számol be POMA /1968/ is; a "Panzym" /NSzK/ enzinkészítmény bontási hőfok optimumát 58 C°-nak találta.

4.2.2 A Polizim enzim Q_{10} értékei

A Polizim enzim Q_{10} értéke 25 és 35 °C hőmérsékleti tartományban 2,1-1,9 között mértem.

NYESTE /1961/ az I. típusu PG enzim reakció hőmérsékleti koefficiensét 2,5-nek mérte. VAS /1953/ az általa vizsgált pektinbontó enzim Q_{10} értékét 2,3-nak határozta meg.

A Q_{10} érték egyenetlen csökkenése a nagyobb hőmérséklet tartományokban arra utal, hogy a készítményben az egyes komponensek eltérő hőmérsékleti optimummal rendelkeznek.

A Q_{10} érték nagymértékű növekedése az alacsony hőfok tartományokban arra mutat, hogy az ún. "hideg" derítéseknel /15-20 °C/ jelentősen meghosszabbodik a derítési és előkezelési idő, amely az 50 °C-os pektinbontási idő 5-szörösét /azaz 10-15 órát/ is elérheti. Ezt a tényt a gyakorlat is igazolja /FÁBRI, 1969/.

4.2.3 A Polizim enzim hőinaktiválódása

A Polizim enzim vizes oldatban 60 °C-on 1 óra alatt aktivitásának csak 5 %-át veszíti el. A hőmérséklet további emelésével rohamosan növekszik az inaktiválódás mértéke.

A Polizim kritikus inaktiválódási hőmérséklete 64 °C.

A nagy hőmérsékleten történő enzim denaturálódást a hőhatás időtartama alig befolyásolja. 70 °C-on 20 perc alatt csak 5 %-kal kisebb az inaktiválódás mértéke, mint 60 perc alatt.

A Polizim gyors denaturálódása 60 °C feletti hőkezelésekor felhívja a figyelmet annak fontosságára, hogy a technológiai műveletek során az almalé, vagy a gyümölcs-zuzalék hőmérséklete még rövid ideig se melegedhet 60 °C fölé.

Az enzimet az 50-55 °C-ra előmelegített szubsztráthoz kell adagolni. A melegítés előtti enzim bekeverés jelentős enzim károsodást idézhet elő a csöves előmelegítőben, vagy a fűthető tartályok falánál fellépő helyi túlmelegedés miatt.

4.2.4 A szubsztrát pH-jének hatása a Polizim bontási sebességére

A Polizim enzim széles pH hatásspektrummal rendelkezik. A pektinbontás optimális pH intervalluma megegyezik az almalé pH értékével /3,8-4,2/. A Polizim 3,5-4,5 pH határok között aktivitásának 98-100 %-a hasznosul, míg 2-6 pH között is 50 %-os az aktivitása.

A. POMA /1968/ a "Panzym" enzim pH optimumát 3,0-3,6 pH között találta.

50 %-os aktivitással rendelkezik a "Panzym" készítmény 2,5-4,5 pH tartományban.

W. RZEDOWSKI /1966/ vizsgálataiból kitűnik, hogy az általa vizsgált enzim-preparátum szűkebb pH-tartományban hasznosítható készítmény, mint a Polizim.

A termotabil preparátuma 3,85, a normál preparátum 4,15-ös pH optimumot mutat és 50 %-os aktivitással is csak 3,2-4,8 pH között hasznosul.

4.3 A Polizim enzim alkalmazása a gyümölcsleiparban

4.3.1 Polizim enzimes előkezelés a gyümölcszuzalékok préselési léhozamának növelésére

Hazai tapasztalatok és számos külföldi irodalmi adat szerint pektináz enzimekkel végzett előkezelés növeli a gyümölcsök préselési, léhozamát.

CRUESS /1955/ különböző szőlőfélésekkel végzett üzemi méretű kísérleteinél 8-14 %-os léhozam-növekedésről számol be. POPOVA /1950/ is jelentős lényeredék növekedést tapasztalt, ha a zuzott szőlőhöz pektináz enzimpreparátumot adott és sajtolás előtt néhány óráig pihentette. Hazai viszonylatban

ÁSVÁNY és NYESTE /1959/ szőlő préselésnél 1-2 %-os léhozam emelkedést irtak le. Alma préselésekor W. RZEDOWSKY /1953/ 14 %-os présle-növekedést irt le. Az ismertetett munkákban a szerzők külföldi enzinkészítményeket használtak fel.

A kecskeméti Polizim enzim ipari felhasználásának lehetőségeit és az elért eredményeket értékelem.

4.3.1.1 A málna préselési léhozamának növelése Polizim enzim alkalmazásával

Málna zuzalékkal végzett laboratóriumi méréseim alapján levonható következtetések:

A Polizim enzim a külföldi pektináz-készítményekhez hasonlóan jó eredménnyel használható fel gyümölcs-zuzalékok enzimes előkezelésére. Málnából 10-15 %-kal több lé préselhető ki enzimes előkezeléssel. A három kísérleti sorozat eredményei bizonyítják, hogy a mérések reprodukálhatóak, ezért üzemi körülmények között is megvalósítható az eljárás.

A Polizim enzim bontási hőfok optimuma 58 °C, 20-25 °C-on 25-30 %-kal csökken csak a bontási sebesség, ezért a nyári hónapok léghőmérsékletén is jó eredménnyel felhasználható a készítmény akkor, ha a pektinbontást 20-24 óra hosszat végezzük.

Az 50 C°-on történő enzimes előkezelés időszükséglete 4-6 óra, és 1-2 %-kal nagyobb léhozam érhető el, mint 20-24 órás, 20-25 C°-os előkezelést követő préselésnél. Az 50 C°-os optimális hőmérsékletű pektinbontás üzemi körülmények között nagymennyiségű hőenergia ráfordítást és fűthető tárolótartályt igény el, ami nagyon megnöveli az előkezelés költségeit, ezért üzemi kísérleteket csak 20-25 C°-on végeztem.

A Polizim enzim 0,3 % koncentrációban is lebontja a málna pektinjeit 24 óra alatt, 20 C°-on és csak 1-2 % léhozam többlet érhető el 0,5 % Polizimmal, a 0,3 % koncentrációval előkezelt mintákhoz viszonyítva.

A laboratóriumi kísérleteimmel meghatároztam az üzemi enzimes előkezelés optimális paramétereit, amelyek a következők:

20-25 C°-on; 0,3 % Polizim koncentrációval, 24 órás előkezelést követő préseléssel 6-10 %-kal növelhető a málna préselési léhozama.

4.3.1.2 A málna Polizim enzimes előkezelésének üzemi eredményei, és az előkezelés technológiája

A Budapesti Konzervgyárban végzett üzemi mérések eredményei bizonyítják az enzimes előkezelés

előnyét és a laboratóriumi mérések üzemi körülményekre való alkalmazásának lehetőségeit.

Az üzemi kísérletek során nagy mennyiségű málnát préseltem a laboratóriumtan meghatározott paraméterek mellett és első alkalommal 8,8 %, második alkalommal 6,5 % létöbbltet eredményezett az enzim-es előkezelés.

A mérési eredmények igazolják, hogy minél nagyobb a gyümölcs pektintartalma, annál nagyobb léhozam növekedést biztosít az enzimes előkezelés. A

második üzemi méréskor a 60 órás előkezelés csak 6,5 % léhozam növekedést eredményezett, mert a zuzott kontroll minta saját enzimei is bontották a pektint és 76,8 % lényeredéket adott, ami magasabb, mint az átlagos üzemi léhozam, pedig a prés maximális rácsközi nyomása $4,99 \text{ kg/cm}^2$ volt, ami alig fele a technológiában előírt üzemi maximális rácsközi nyomásnak.

A málna zuzás és enzimbekeverés tökéletesítésével üzemi körülmények között is 6,5 %-nál nagyobb léhozam-többltet érhető el.

A Polizim enzimes előkezelés üzemi technológiája a málnalé gyártáshoz.

A termőhelyen hordókba begyűjtött málnát alaposan összezuzzák, majd a tartósítószerként alkal-

mazott 0,3 %-os hangyasavval együtt bekeverik a 0,3 % Polizin enzimet. A bekeverés minősége az enzimes kezelés súlyponti művelete. A pektinbontás akkor a leghatékonyabb, ha a nyersanyagban egyenletesen van eloszlaltva az enzim oldat.

A gyárba beszállított hordókat meleg helyen, 20-25 °C-on kell tárolni legalább 24 óráig. Ezen a hőmérsékleten a tartósított enzimes málna 2-3-szor 24 óra hosszat is tárolható romlásmentesen. A pektin lebontását ellenőrizhetjük úgy, hogy a gyümölcszuzalékot ujjunk között szétnyomva az már nem síkos tapintású, a magok érdesek és különváltak egymástól.

A préselést megelőző pektinbontó enzimes előkezelés előnyei:

A legnagyobb előnye az enzimes előkezelésnek, hogy 6-10 % létöbbletet biztosít. A kontrollhoz viszonyított léhozam különbséget befolyásolja az enzim elkeverésének minősége, a málna érettségi foka, a kezelési idő és a hőmérséklet.

Az enzimes előkezelés ismerttetett technológiája könnyen beilleszthető a málna üzemi feldolgozás menetébe, lényeges változtatást nem igényel.

Az enzimmel előkezelt málna leve a préselés után tisztább, kevesebb rostanyagot tartalmaz, gyorsabb a szűrés.

A pektinbontás után könnyebb, gyorsabb a málna préselése, nagymértékben nő a prések kapacitása.

A konzervipar évente 140 vagon málnalevet állít elő. Ehhez a mennyiséghez 180 vagon málnát présel ki. A préselé többlet minimum 6,5 %-os fokozáshoz 0,6 vagon 2000 SPA₇₅ aktivitású Polizimet használ fel, aminek az ára 264 000,- Ft. A léhozam növekedés 10 vagon, aminek értéke 200 000,- Ft/vagon árral számítva 1,76 millió Ft hasznot biztosít az iparnak évente. A számítás nem veszi figyelembe a prések és szűrők kapacitásának növekedéséből adódó gazdasági eredményt.

4.3.1.3 Polizimmal előkezelt feketeribiszke zuzalék préselésének értékelése

A feketeribiszke a legnagyobb pektintartalmú gyümölcsök közé tartozik, ezért az előkezelés hatékonyságát, a Polizim pektinbontó képességét a gyümölcs-zuzalékokban jól lehet mérni.

A feketeribiszke préselési léhozamát 0,3-0,5 % Polizim enzim 7, illetve 8 %-kal megnöveli.

A 0,3 és 0,5 %-ban adagolt 2000 SPA₇₅ aktivitású Polizimmal fermentált minták között 1, maximum 2 % léhozam eltérés van a nagyobb koncentráció javára.

A szobahőmérsékleten kezelt mintákból 2,0-2,5 %-kal kevesebb lé préselhető ki, mint az 50 C°-on előkezelt zuzalékból.

A feketeribiszkből kinyert lé mennyisége elmarad a várakozástól, aminek az a magyarázata, hogy a zuzás nem volt tökéletes, sok volt az ép gyümölcs és a zuzalék erősen viszkózus állományú volt, ami az enzim molekulák mozgékonyágát lecsökkentette, amit állandó keveréssel lehetett volna kiegyenlíteni.

Ennek ellenére a Polizim készítmény feketeribiszke enzimes előkezelésére is alkalmas, és gazdasági eredménye jelentős lehet.

4.3.1.4 Fehérhusu gyümölcsök enzimes előkezelése lényszerűsítéshez

Irodalmi adatok és a kereskedelmi prospektusok elsősorban piroshusu, bogyós gyümölcsök enzimes előkezelésére ajánlják a pektinbontó enzinkészítményeiket.

A konzervipar jelentős mennyiségű csonthéjas, fehérhusu gyümölcsből is állít elő gyümölcslevet /sárgabarackból, őszibarackból, szilvából/, ezért az enzim felhasználásának gyakorlati lehetőségei itt is megvannak.

Laboratóriumi kísérleteimben az őszibarack préselés előtti enzimes előkezelés optimális körülményeit vizsgáltam.

Az őszibarack fehérhusu, világos színű levét ad, ami hajlamos polifenoloxidázok okozta barnulásra, ezért az enzimes előkezelés nem lehet hosszú, mert a lé színe romlik - barnul - az un. meleg előkezelés rövid fermentációs idővel és a préselés utáni enzimbénítással a lé világos színe megőrizhető.

2 óráig tartó, 50 °C-os előkezelés 2-3-4 ‰ enzinkoncentrációval 6-10 % létöbbllet érhető el. A párhuzamos minták közötti viszonylag nagy szóródást a gyümölcs érettségében lévő különbségek okozzák.

A 2-3-4 ‰ enzinkoncentrációkkal előkezelt minták préselési léhozamai között nincs jelentős különbség.

Az előkezelt és a kontroll minták léhozam százalékait az idő függvényében 2 x log. léptékben ábrázolva jól megfigyelhető a görbék tendenciája. Az enzimesen előkezelt zuzalékok léhozam görbéi párhuzamosan futnak a kontroll mintával. A pektinbontás következtében a léhozam többllet a kontrollhoz viszonyítva azonos a mért időtartományban, tehát az előzetes léelválást növeli az enzimes elő-

kezelés. A görbék párhuzamos jellege valószínűsíti azt a tényt, hogy az átlagos létöbblöt üzemi körülmények között is hasonló lesz.

4.3.2 A Polizim enzim almalé derítő- képessége

A konzervipar a hazai Polizim enzimet és NSzK gyártmányu Pektinol készítményt vásárolt almalé derítéséhez. 1969-ben 90 t 1500 SPA₇₅ aktivitásu készítménynek megfelelő enzimet használtak fel a konzervgyárak, aminek 65 %-a Polizim enzim volt. Ez a nagymennyiségű enzinkészítmény viszonylag drága, és a 72 t Polizim felhasználásán túl devizáért vásárolja az ipar a Pektinolt. Ezért az optimális üzemi enzim-felhasználás jelentős megtakarítást jelent és biztonságossá teszi a gyártást.

Az almalé pektintartalma a feldolgozási szezon folyamán változik és változik fajtánként és évjáratonként is. A pektintartalom változása mellett a pektinek minősége, észterezettségi foka is változik, ami nagyban befolyásolja a pektin bonthatóságát, a bontási sebességet is.

Ezért kialakítottuk a pektinbontás üzemi ellenőrzésének módszerét, meghatároztuk az optimális enzim adagolást és a derítési időt, Polizim és Pektinol enzimek felhasználására.

50 C°-os derítési hőmérsékleten biztonsággal lehet deríteni 3 órás derítési idővel:

4000 SPA₇₅ adag Polizim enzimmel

2500 SPA₇₅ adag Pektinol enzimmel,

ugyanezen a hőfokon 2 órás derítési idővel:

6000 SPA₇₅ adag Polizimmel és

4000 SPA₇₅ adag Pektinollal.

A kisebb koncentrációjú enzimadagolás gazdasági haszna akkor kerül előtérbe, ha a derítő edények kapacitása ezt lehetővé teszi, ahol kevés a derítő edény, ott nagyobb enzimkoncentrációt kell alkalmazni, de a 2 órás derítést már nem lehet lerövidíteni, mert nem megy végbe az ülepedés, és az ilyen levek szűrésekor a szűrők gyorsan eltömődnek és termelés-kiesést okoz.

Vizsgálataim során összehasonlítottam a Polizim és a Pektinol enzim almalé derítőkéességét, a pektinbontás sebességét almalében. Azonos poligalakturonáz aktivitásokkal végzett derítések eredményei azt mutatják, hogy a Pektinol készítmény gyorsabban bontja le az almalében levő pektineket, vagyis kevesebb azonos poligalakturonáz aktivitású készítmény felhasználása szükséges az enzimes derítésekhez.

A két készítmény közötti különbség oka az enzinkomponensek közötti arányokban van. A Polizim enzim kevesebb pektinmetileszterázt tartalmaz, mint a Pektinol. Az 1000 poligalakturonáz egységre tartozó pektinmetileszteráz arány kisebb a Polizimnél.

Az almalevek 80 % körüli észterezettségi fokú pektineket tartalmaznak, a poligalakturonáz enzim csak a nem metilezett galakturonsav egységeket képes hidrolizálni, és így depolimerizálni. A pektinmetileszteráz enzim demetilezi a pektin molekulákat, és így mintegy előkészíti ezt a PG enzimeknek a depolimerizálásra. Ha nincs egyensúlyban a PG, PE enzim arány, akkor alacsony PE hányados mellett nem képes a pektinmolekulát demetilálni, így feleslegbe kerül a PG aktivitás, ezáltal a pektinbontás sebessége a minimumban lévő PE bontási sebessége határozza meg a derítés sebességét. Tehát a Polizim enzim kevés pektinmetileszterázt tartalmaz, ami az almale derítésekor lassítja a derítést, a depolimerizálás folyamatát.

További feladat az, hogy az *Aspergillus niger* V₇₇₀ törzset nagyobb PE termelésre készítsük, vagy olyan törzseket válasszunk ki, amelyek a nagy PG aktivitás mellett optimális mennyiségben termelnek PE-t is.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A fejlett élelmiszeriparral rendelkező országokban széles körben elterjedt az enzimek gyakorlati alkalmazása. A hazai konzervipar gyümölcslevek gyártásához használ fel pektinbontó enzimek készítményeket a technológiai folyamat megjavítására és gyorsítására.

A pektinbontó enzimek hatásuk alapján az üzemi gyakorlatban kettős funkciót töltenek be. Egyrészt felszabadítják a pektinanyagok által közrezárt levet, s így növelik a préselési léhozamot, másrészt a gyümölcslevek zavarosságát okozó kolloid anyagok - elsősorban pektin - elbontásával a szuszpendálva tartott durva, diszperz anyagok felszabadulnak, leülepednek és ezáltal a gyümölcslé könnyen szűrhetővé és sűrithetővé válik.

A konzervipar 1958 óta gyárt pektinbontó enzimek készítményt Polizim néven, a Kecskeméti Konzervgyárban. Az enzimtermelést *Aspergillus niger* törzsszel tálcás /felületi/ módszerrel korpá tápközegen végzik. A penész micéliummal átszőtt enzimes korpából az enzimet sósavas vízzel, dusító diffúzióval nyerik ki.

Az enzimgyártó üzem kapacitása 60 t évente, amely 1967-ig fedezte az ipar szükségleteit. A növekvő gyümölcsle termelés megnövekedett enzimigényének kielégítése és az enzim gazdaságos felhasználása szükségessé tette az enzim előállításában és az ipari alkalmazásban jelentkező problémák vizsgálatát, aminek eredményeit foglalom össze.

A Polizim enzim előállításában, a tenyésztés optimalizálásában elért eredmények:

A kecskeméti Enzim Üzemben tenyésztett *Aspergillus niger* V₇₇₀ törzs enzintermelésének optimális hőmérséklete 40 °C. Ehhez viszonyítva 20-30 °C-on 50 %-kal kevesebb enzim állítható elő. 50 °C-os tenyésztési hőmérséklet az enzintermelést károsan befolyásolja. Az enzim aktivitása a tenyésztési idő függvényében nő. Jelentős termelés növekedés 96-100 órás tenyésztéssel érhető el. Az üzemben végzett felmérés alapján a tenyésztés során három szakaszt különítettem el: I. beindulási /gyenge hőtermelés/; II. szaporodási /intenzív hőtermelés/; III. enzintermelési szakasz /hőtermelés nincs/. Hőigény szerint az I. és III. szakasz fűtést, a II. szakasz hűtést igényel.

A vizsgálati eredmények alapján a technológiában módosításokat vezetünk be, amivel megvalósultak az irányított tenyésztés feltételei.

Az *Aspergillus niger* törzs enzintermelését sikerült növelni ammóniumsulfáttal és L-triptofánnal is. Üzemileg az 1 %-os ammóniumsulfát adagolását valósítottuk meg és 25-30 %-os termelés növekedést eredményezett. Sikeresen alkalmaztam a sárgarépa hulladékot is a korpa egy részének helyettesítésére, ami további aktivitás növekedést eredményez, de jelenleg nincsenek meg az üzemi bevezetés technikai feltételei.

A tenyésztés optimalizálásával és az ammóniumsulfát adagolásával az üzem termelése 1969-ben az 1967. évihez viszonyítva 41,2 %-kal nőtt, ami 800 000,- Ft termelésnövekedést eredményezett.

A gyümölcs-zuzalékok enzimes előkezelése és az almalé derítés technológiájának kialakításához meghatároztam a Polizim enzim aktivitását befolyásoló tényezők optimumait is. A Polizim enzim pektinbontási hőoptimuma 58-60 °C. Az enzim hőfok koeficiense Q_{10} 30-40 °C között 1,75-1,5. 50 és 60 °C között 1,08, e hőfoktartományban a legkevésbé érzékeny a reakciósebesség a hőmérséklet ingadozására. Az üzemi almalé derítés optimális hőmérséklete 2-3 órás derítési idő alatt 50 °C. A Polizim enzim vizes oldatban 60 °C-on aktivitásának 5 %-át veszíti el 1 óra alatt, míg 70 °C-on 20 perc alatt aktivitásának 5 %-át őrzi meg. A Polizim enzim kritikus inaktivá-

lódási hőmérséklete T_c^0 / $64\text{ }^{\circ}\text{C}$. A Polizim enzim pH-optimuma 3,5-4,5 egybeesik az almalé pH-jával. /3,8-4,2/ A készítmény széles pH intervallumban hat, tehát almalé derítésén kívül eltérő savtartalmu gyümölcsök levének és zuzalékok pektinbontó kezelésére is alkalmas.

A gyümölcs-zuzalékok Polizim enzimes előkezelésével jelentős léhozam növekedést értem el. Laboratóriumi préselés vizsgáló készülékkel málna zuzalékból Polizimes előkezelés hatására 10-15 % léhozam növekedést értem el, míg üzemi kísérleteim alkalmával 6,5-10 % többlet adódott, ami évenként mintegy 1,5 millió Ft közvetlen hasznot jelent a konzerviparban. Ezenkívül jelentős technológiai előnyöket is biztosít az enzim alkalmazása.

Kimértem az enzimes előkezelések főbb paramétereit is. Málna-zuzalék hideg enzimes előkezelése 0,3 % Polizim enzimmal, $20-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on és 20-24 órás pektinbontással a leggazdaságosabb. A meleg eljárás $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, 2-3 órára csökkenti az előkezelés időszükségletét, azonos enzinkoncentrációval.

Feketeribiszke zuzalékból 0,3 % Polizimmal, 7-8 % többlet léhozamot értem el.

Őszibarack-zuzalékból 0,2 % Polizimmal 2 órás, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os előkezeléssel 6-10 % többlet lényeredéket

préseltem ki. Az enzimesen előkezelt gyümölcs-
zuzalékok léhozam sebesség görbéi azt mutatják,
hogy az előkezelés az előzetes léelválást növeli.

Kimértém az almalé derítés optimális paramé-
tereit és meghatároztam a Polizin és Pektinol en-
zimek adagolását különböző pektintartalmu almale-
vek derítésére.

Köszönetet mondok Dr. Török Szilveszternek, a
kémiai tudományok kandidátusának, a Konzerv- és
Paprikaipari Kutatóintézet igazgatójának és
Dr. Fábri Ilonának, a Konzerv- és Paprikaipari
Kutatóintézet tudományos osztályvezetőjének dol-
gozatom elkészítésében nyújtott segítségükért.

IRODALOMJEGYZÉK

- ALBERSHEIM et al - ref. BOCK, W. /1960/: Pektine
im Fruchtsaft. Die Lebensmittel-Industrie
13. 298.
- ÁSVÁNY Á., NYESTE L. /1959/: Borgazdaság 4. 73.
- BARRET, A.J. und NORTHCOTE, D.H. /1965/: Biochem.
94. 617.
- BONNER, J. /1950/: - ref. BOCK, W. /1960/: Pektine
im Fruchtsaft. Die Lebensmittel-Industrie
13. 298.
- CARPENTER, D.C., WALSH, W.F. /1932/: - ref. KARDOS E.
/1962/: Gyümölcs- és zöldséglevék, üdítőitalok.
Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 91.
- CRUESS, W.V., GUACCHIA, R., ERICSON, K. /1955/:
Food Technologi 9, 601.
- FÁBRI I., KONCSIKNÉ, RÁCZKEVY E.A. /1966/: A Polizim
pektinbontó enzinkészítmény ipari előállításá-
nak problémái. Konzerv- és Paprikaipar, 4.
144.
- FÁBRI I. /1969/: Személyes közlés
- FREY-WYSSLING, A. /1959/: Die pflanzliche Zellwand.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg,
133.

- GÖRÖG J. /1962/: Ipari mikrobiológia és enzimológia.
Tankönyvkiadó. Budapest, 29.
- HORVÁTH Gy. /1960/: Ujitási javaslat, Kecskemét.
- JOSLYN, M.A. /1962/: Advances Food Res. 11. 1.
- KARDOS E. /1962/: Gyümölcs- és zöldséglevelek, üdítő-
italok. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 91.
- KOLLER, A. und NEUKOM, H. /1964/: Untersuchungen
über die pektolytischen Enzyme von *Aspergillus*
niger Schweizerische Landwirtschaftliche
Forschung 4. 512.
- KÖRMENDY I. /1961/: Alma préselésével kapcsolatos
mérési eredmények. Konzerv- és Paprikaipari
Kutató Intézet Közleményei 1. 1.
- KREBS, J. /1957/: Flüssiges Obst, 13. 24.
- LINEWEAVER, H., JANSEN, E.F. - ref. VAS K. /1953/:
A pektolizis vizsgálata. Agrochimica és talajtan.
2. 125.
- MEHLITZ, A. /1954/: Süßmost. Günter Hempel Braun-
schweig 107.
- NAGY Gy. /1963/: Enzimológia II. Élelmézésügyi Mi-
nisztérium Oktatási Osztálya. Budapest, 180.
- NEUKOM, H. /1963/: Über der Abbau von Pektinstoffen.
Schweizerische Landwirtschaftliche Forschung
2. 112.

- NYESTE L. /1961/: Penészeredeti poligalakturonáz
enzimek vizsgálata. Kandidátusi disszertáció,
Budapest.
- POMA A. /1968/: Importanza degli enzimi nell'in-
dustria dei succhi di frutta. Succhi di Frutta
e Bevande Gassate 2. 67.
- POPOVA, E.M. /1950/: Vinodelije i Vinogradarsztvo 11.
- PUSKÁS A. /1962/: Enzimológia. Tankönyvkiadó, Buda-
pest, 50.
- RZEDOWSKY, W. /1953/: Prace Glownego Inst. Przemysln-
kolnego i spor. Warszawa 3, 9.
- RZEDOWSKY, W. /1966/: Untersuchungen über thermosta-
bile pektolitische Präparate. MÉTE Élelmiszer-
ipari Tudományos Ülésszak.
- SCHUBERT, E. /1968/: Enzimek alkalmazása a korszerű
gyümölcsle gyártásában. Konzerv- és Paprika-
ipar 6. 231.
- STAUDINGER, H. /1932/: Die Hochmolekularen organischen
Verbindungen. Springer, Berlin.
- TÓTH A.-né, FÁBRI I., TÓTH M.-né /1970/: Az almalé
enzimes kezelése folyamán a derített lé pektin-
tartalma és a sűrítmény minősége közti össze-
függés. Konzerv- és Paprikaipar 2. 72.

- TÓTH A.-né /1970/: Pektinázok almaléderítő képességének iparban alkalmazható ellenőrzési módszerei. KÉKI kollokvium /előadás/ /febr./.
- VAS K. /1952/: Javaslat pektinbontó enzimkészítmények előállítására. Budapest, Kézirat.
- VAS K. /1953/: A pektolizis vizsgálata. Agrokémia és talajtan. 2. 125.
- VAS K. /1953/: Pektinkutatások újabb eredményei. Élelmiszeripari és Begyűjtési Könyv- és Lapkiadó Vállalat, Budapest, 131.
- VAS K., NEDRALEK M., SCHEFFER M. és KOVÁCSNÉ -
PROSZT G. /1967/: Methodical Investigations on the Determination of Some Pectic Enzymes. Fruchtseft Ind. 12. 164.

1. táblázat

Hazánkban és az európai országokban gyártott néhány pektin-
bontó enzinkészítmény

Enzim neve	Gyártó cég és ország	Állag	Aktivitás SPA ₇₅	Ára valuta	Ára Ft	1000 SPA ára, Ft
Polizim	Kecskeméti Konzerv- gyár	folya- dék	2000		40,-	20,-
Pektináz	Mogál Gyógyszer- gyár, Debrecen	por	10 000		1300,-	130,-
Pektopol	Jaslo, Lengyelo.	por	3400	4,8 Rb	72,-	24,-
Pektinol fl.	Röhm et Haas GmbH Darmstadt /NSzK/	folya- dék	13 000	2,3 %	144,-	12,-
Ultrazym sp.	Schubert A.G. Zürich /Svájc/	vivőn	13 000	6,0 %	820,-	68,-
Pektolase	Grindstedvaerket Aarhus /Dánia/	folya- dék	7000			
Panzym	Boehringer Sohn Ingelheim am Rhein /NSzK/	folya- dék szilárd				
Pectinex	Schweizerische Ferment A.G. Basel /Svájc/	folya- dék por				

2. táblázat

A korpa-sárgarépa különböző arányú keverékei- nek összetétele

Arány			% -os arány			Száranyag tart.		
Korpa	Répa	Víz	Korpa	Répa	Víz	Korpa	Répa	Összes
1	1	0	50,0	50,0	0	45,5	5,0	50,0
2	1	0,66	54,6	27,4	18,0	49,1	3,0	52,0
3	1	1,44	55,1	18,3	26,6	49,6	2,0	51,0
1	0	0,78	56,0	0	44,0	50,4	0	50,4

3. táblázat

A 2. üzemi málna préselési kísérlet nyomás adatai

Préselés időtartama perc		Kompresszor nyomás kg/cm ²	Rácsközi nyomás kg/cm ²
5	0 - 5	1 - 2	0,045 - 0,136
15	5 - 20	20 - 50	0,908 - 2,22
15	20 - 35	100	4,54
20	35 - 55	110	4,99

4. táblázat

Az Aspergillus niger V₇₇₀ törzs micélium és spóra képzése
a tenyésztési idő és a hőmérséklet függvényében laborató-
tórium körülmények között un. üveges kultúrában

tenyésztési hőfok	20 C°		30 C°		40 C°		50 C°	
tenyésztési idő	micélium	spóra	micélium	spóra	micélium	spóra	micélium	spóra
24 óra								
48 óra								
72 óra								
96 óra								
120 óra								
144 óra								

Jelmagyarázat: a sötétrel jelzett rész arányos a micélium képződés és a spórásodás mértékével

5. táblázat

A szárazkorpás enzim aktivitásának alakulása a tenyésztési idő
és a hőmérséklet függvényében laboratóriumi körülmények között
un. üveges kultúrában

A száraz enzimes korpa aktivitása /SPA ₇₅ /				
tenyésztési idő /óra/	20 c°	30 c°	40 c°	50 c°
48	1877	3283	3976	-
72	3551	4500	8065	2077
96	4504	5596	10 600	1868
120	4025	5545	12 220	2001
144	5340	5667	13 600	1628

A táblázat adatai 2-2 mérés átlagát képviselik

6. táblázat

Az enzimes korpa hőmérsékletének alakulása nem szabályozott üzemi
tenyésztés alatt a tálcák állványon való elhelyezésének függvé-
nyében

tenyésztési idő /óra/	0	2	4	6	8	16	18	20	22	24	26	28
alsó tálca	25	23	22	23	23	24	25	29	30	37	44	45
középső tálca	26	25	25	25	27	39	42	48	50	50	52	50
tenyésztési idő /óra/	30	32	40	42	44	46	48	50	52	54	56	64
alsó tálca	45	42	30	32	35	33	31	31	30	28	27	23
középső tálca	50	46	39	39	36	36	35	34	31	30	28	25

7. táblázat

Az enzimes korpá hőmérsékletének alakulása
az elhelyezés és az oltóanyag mennyiségé-
nek függvényében szabályozott üzemi tenyésztés
során

A tenyésztési idő /óra/	0,2 % oltóanyag		0,4 % oltóanyag	
	alsó tálca hőm. C°	középső tálca hőm. C°	alsó tálca hőm. C°	középső tálca hőm. C°
0	20	22	22	22
2	20	22	22	23
4	20	22	23	24
6	20	22	22	24
8	20	22	22	24
16	20	25	20	28
18	19	25	22	29
20	19	26	23	34
22	20	28	23	38
24	20	30	24	44
26	20	39	27	46
28	21	43	30	45
30	21	43	30	45
32	22	45	35	45
40	22	44	39	40
42	28	36	39	34
44	34	37	33	35
46	36	42	34	40
48	37	40	41	41
50	34	44	40	42
52	30	40	39	40
54	35	40	35	36
56	34	40	34	34
64	27	38	28	31
66	25	33	28	32
68	26	30	28	32
70	26	27	26	28
72	23	28	24	27
74	22	28	23	25
76	22	28	24	25
78	24	31	25	27
80	25	30	25	27
88	22	29	35	30

8. táblázat

Szabályozott üzemi tenyésztéssel előállított
száraz enzimes korpa aktivitása az oltóanyag
mennyiségének és a tálca elhelyezésének függ-
vényétől 48-72-90 óra után

Az oltóanyag mennyi- sége	A tálcák elhelye- zése	A száraz enzimes korpa akti- vitása /SPA ₇₅ /		
		48 óra	72 óra	90 óra
0,2 %	alsó	833	1298	2857
	középső	1315	6024	15 800
0,4 %	alsó	1220	2257	6024
	középső	1870	7352	10 800

9. táblázat

Az Aspergillus niger V₇₇₀ üzemi tenyésztésének szakaszai és jellemző paraméterei

Sza- kasz	tenyészet kora		tenyészet				optimális hőmérséklet		fűtési idő /óra/	hűtési idő /óra/
	nap	óra	enzim termelés	növe- kedés	hőter- melés	hőmér- séklet /°C/	tenyé- szet	terem		
I.	1.	10-18	nincs	lassu	alig	20-25	30-35	35-40	10-18	-
II.	2-3.	40-48	lassu	gyors	gyors	45-50	40	25-30	-	30
III.	3-5.	72-96	gyors	lassu	nincs	25-30	36-40	37-40	37-40	-

10. táblázat

Adalék anyagok hatása az enzimes korpa akti-
vitására a második nemzedékben
/72 órás tenyésztés után/

adalék anyag	Száras enzimes korpa aktivitása /SPA ₇₅ /				
	I.	II. s o r o z a t	III.	IV.	átlag
Kontroll	2478	2670	2412	2622	2295
Ammóniumszulfát	3973	3894	3489	3802	3789
Dinátriumhidro- foszfát	2150	2564	2631	2420	2441
Kalciumlaktát	2701	3333	3195	2967	2799
Triptofán	4166	4694	3495	3623	3994

11. táblázat

Közvetlenül a korpa tápközeghez adott adalék-
anyagok hatása az Aspergillus niger enzinter-
melésére
/3 nap tenyésztés után/

adalék anyag		enzimes korpa aktivitása /SPA ₇₅ /		
		I. sorozat	II.	átlag
Kontroll		3482	2682	3082
Triptofán	0,1 %	4347	3623	3985
Ammónium- szulfát	0,3 %	5555	5376	5435
Kalcium- laktát	0,3 %	3222	2610	2916
Dinátrium- hidrogén p.	0,3 %	3663	2890	3276

12. táblázat

Különböző arányú sárgarépa, korpá tenyésztő
közeg hatása az Aspergillus niger enzim
termelésére
/3 nap tenyésztés után/

korpa répa	Száras enzimes korpá aktivitása /SPA ₇₅ /			
	kontroll	1 : 1	2 : 1	3 : 1
I.	2700	2950	3694	2495
II.	2435	2718	2915	2489
III.	2200	2150	2564	2631
IV.	2100	2702	3333	3195
Átlag aktivitás /SPA ₇₅ /	2360	2630	3120	3200
Aktivitás a kontroll %-ában	100 %	110 %	132,2 %	136,2 %

13. táblázat

Különböző arányú sárgarépa, korpá tenyésztő
közeg hatása az Aspergillus niger enzim ter-
melésére
/6 nap tenyésztés után/

Keverési arány	Száras enzimes korpá aktivitása /SPA ₇₅ /			
	kontroll	1 : 1	2 : 1	3 : 1
I.	4426	2057	5102	5263
II.	4214	4032	5988	5917
átlag	4315	3044	5545	5590
%-os aktivitás növekedés	100 %	70,8 %	128,9 %	130 %

14. táblázat

Üzemi mérések eredményei az Aspergillus niger pektinbontó enzim
termelésének növelésére ammóniumszulfáttal és sárgarépa
hulladékkal

	Sorozat	Ammóniumszulfát		Korpa répa arány	
		0,5 %	1 %	2 : 1	kontroll
Száras enzi- mes korpa aktivitása /SPA ₇₅ /	1	10 040	10 800	8000	7540
	2	10 800	10 800	8330	6840
	3	-	12 700	8570	6840
	átlag	10 420	11 456	8300	7030
%-os növekedés		148,5 %	162,9 %	118,06 %	100 %
A lé aktivitása /SPA ₇₅ /		3100	3570	2380	2000
%-os növekedés		155 %	178 %	119 %	100 %

15. táblázat

A 30- és 40 C°-on tenyésztett Aspergillus
nigertől nyert enzinkészítmények pektin-
bontási hőoptimuma

Pektin- bontás hőfoka /C°/	50 ml pek- tinoldat- ba mért enzim /ml/	Polizim /30/		Polizim /40/	
		sp	B %	sp	B %
10	K	3,5	-	3,5	-
	0,1	3,39	3,2	3,27	6,6
20	K	3,65	-	3,65	-
	0,1	3,16	13,5	2,9	20,6
30	K	3,58	-	3,58	-
	0,1	2,18	31,4	1,97	50,-
40	K	3,91	-	3,91	-
	0,1	1,78	54,5	1,07	72,7
50	K	3,95	-	3,95	-
	0,1	1,28	67,6	0,56	85,9
60	K	3,54	-	3,54	-
	0,1	0,98	72,4	0,53	85,1
70	K	4,72	-	4,72	-
	0,1	1,53	64,2	0,78	81,8

sp = specifikus viszkozitás

16. táblázat

A Polizim enzim Q_{10} értékei 10- és 70 °C
hőmérséklet tartományban

Hőfok intervallum	Polizim /30/ Q_{10}	Polizim /40/ Q_{10}
10-20 °C	4,2	3,12
20-30 °C	2,32	2,5
30-40 °C	1,73	1,54
40-50 °C	1,24	1,16
50-60 °C	1,08	0,99
60-70 °C	0,95	0,961

17. táblázat

A Polizim 40 enzim inaktiválódása vizes oldatban
20-40-60 perces hőkezelés után

Hőkezelés °C	20 perc			40 perc		60 perc	
	enzim /ml/	sp	B %	sp	B %	sp	B %
50	0,2	0,07	94,3	0,07	94,5	0,07	94,5
60	0,2	0,09	92,3	0,09	92,7	0,1	91,9
70	0,2	0,94	22,5	1,07	12,3	1,08	11,5
80	0,2	1,17	4,1	1,2	1,7	1,2	1,7

18. táblázat

A pH hatása a Polizim /30/: /40/ enzim

bontási sebességére

pH	Enzim ml	Polizim /30/		Polizim /40/	
		sp	B %	sp	B %
1,5	0	2,26	-	2,26	-
	0,2	1,52	32,8	1,47	35,0
3,05	0	3,93	-	3,93	-
	0,2	0,74	81,2	0,4	89,9
3,25	0	3,03	-	3,03	-
	0,2	0,36	88,2	0,21	93,1
4,0	0	3,85	-	3,85	-
	0,2	0,16	95,8	0,13	96,7
5,0	0	3,79	-	3,79	-
	0,2	0,52	86,3	0,45	88,2
6,5	0	3,82	-	3,82	-
	0,2	3,38	11,6	3,29	13,9

19. táblázat

20 C°-on Polizimmal előkezelt málna zuzalék
préselési léhozamai az előkezelési idő függ-
vényében /2 mérés átlaga/

	100 g málnából kipréselt lé /g/				Több- let lého- zam
	12 óra	24 óra	36 óra	64 óra	
Kontroll	68	70	73	75	
Polizim 0,3 %	84	85	83	87	12 %
Polizim 0,5 %	84	86	88	88	13 %

20. táblázat

50 C°-on Polizimmal előkezelt málna zuzalék
préselési léhozamai az előkezelési idő függ-
vényében /2 mérés átlaga/

Enzim mennyiség	100 g málnából kipréselt lé /g/				Több- let léhozam %
	0,5 óra	1 óra	4 óra	20 óra	
Kontroll	64	44	69	72	
Polizim 0,3 %	67	74	79	87	13
Polizim 0,5 %	68	74	81	88	14

21. táblázat

0,3 % Polizim hatása a málna zuzalék préselési
léhozamára 20 és 50 C°-on /4 mérés
átlaga/

	100 g málnából kipréselt lé /g/						Több- let lého- zam
	1 óra	2 óra	4 óra	8 óra	12 óra	24 ó	
Kontroll 20 C°	62	66	70	73	73	73	
Polizim 2,5 C°	70	74	78	81	83	86	13 %
Polizim 50 C°	75	78	80	83	85	88	15 %

22. táblázat

Üzemi préselés a málna zuzalék enzimes elő- kezelés után 0,3 % Polizim enzimmel

	Pré- selt málna /kg/	Tör- köly súly /kg/	Málna- lé %	Lé ref. %	Többlet lé- hozam
Kontroll	342,5	107,5	68,3	13	
Polizim 0,3 %	326,5	75,0	77,1	13	8,8

23. táblázat

A 2. üzemi kísérlet présnyomás adatai

Préselési szakaszok /perc/	Összes idő /perc/	Kompresszor nyomása /kg/cm ² /	Rácsközi nyomás /kg/cm ² /
5	0 - 5	1 - 2	0,045 - 0,136
15	5 - 20	20 - 50	0,908 - 2,22
15	20 - 35	100	4,54
20	35 - 55	110	4,99

24. táblázat

Üzemi málna préselés eredményei 60 órás enzimes
előkezelés után

	Málna /kg/	Törköly /kg/	Málnalé /%/	Lé /ref. %/	Többslet léhozam
Kontroll	1310	303	76,8	12	
Polizim 0,3 %	1386	231	83,8	13	6,5 %

25. táblázat

20 C⁰-on Polizimmal előkezelt feketeteribiszke
szalalék léhozamai és présmaradécai

Enzim koncentráció	Súly /g/	Előkezelési idő /óra/							
		1	2	4	6	8	12	24	
Kontroll	présmaradék	27,3	37,0	25,0	22,6	22,4	25,0	21,5	
	lé	22,7	13,0	25,0	27,4	27,6	25,0	28,5	
Polizim 0,3 %	présmaradék	25,3	23,9	20,1	18,4	18,1	17,9	18,0	
	lé	24,7	26,1	29,9	31,6	31,9	32,1	32,0	
Polizim 0,6 %	présmaradék	27,2	22,5	19,0	17,7	17,5	17,4	17,6	
	lé	22,8	27,5	31,0	32,3	32,5	32,6	32,4	

26. táblázat

50 C°-on Polizimmal előkezelt fekete-
ribiszke zuzalék léhozsmai és présma-
radékai

		Előkezelési idő			
		/óra/			
		1	2	4	6
Kontroll	présmaradék	20,5	21,0	21,1	20,1
	16	29,5	29,0	28,9	29,9
Polizim 0,3 %	présmaradék	18,8	17,8	16,7	10,1
	16	31,2	32,2	33,3	33,9
Polizim 0,6 %	présmaradék	18,7	17,7	17,3	16,2
	16	31,3	32,3	32,7	33,8

Őszibarack zuzalék préselési léhozamainak időbeni alakulása3 enzinkoncentrációval/4 párhuzamos mérés átlaga/

Préselési idő /perc/	A lé leadás sebessége /g/											
	Kontroll						Polizim 0,2 %					
	1	2	3	4	Átlag	%	1	2	3	4	Átlag	%
1	54,0	58,0	65,0	71,0	64,6	43,0	79,0	61,0	72,0	72,0	71,0	47,3
2	60,0	66,5	70,0	82,5	69,9	46,6	84,0	66,5	82,5	80,5	78,3	52,2
4	61,5	71,0	76,0	86,0	71,1	74,4	86,5	70,0	87,0	85,5	82,2	54,8
6	64,5	73,5	79,0	89,0	76,5	51,0	89,0	72,5	89,5	89,0	85,0	56,6
8	65,5	75,0	81,0	91,0	78,1	52,0	90,5	74,0	92,5	91,0	87,0	58,0
10	66,5	77,0	82,5	93,0	79,9	53,2	92,0	76,5	95,5	93,5	89,3	59,5
12	68,6	78,5	84,0	94,5	81,3	54,2	93,0	78,0	97,0	94,5	90,6	60,4
15	69,5	80,5	85,5	96,5	83,0	55,3	94,0	80,0	99,5	98,0	92,87	61,9
Törköly súly /g/	62,2	58,4	53,0	41,7	53,82		35,3	56,8	41,0	42,1	43,8	

27. táblázat folytatása

Préselési idő /perc/	A lé leadás sebessége /g/											
	Polizim 0,3 %						Polizim 0,4 %					
	1	2	3	4	Átlag	%	1	2	3	4	Átlag	%
1	64,5	67,0	71,0	120,0	80,6	53,7	73,0	58,0	66,0	75,0	68,0	48,7
2	73,0	73,5	80,0	124,0	87,6	58,4	85,0	68,0	75,0	83,0	77,7	55,6
4	76,0	76,5	86,5	127,0	91,5	61,0	87,5	76,0	79,0	86,5	82,2	58,8
6	78,0	79,5	89,0	129,0	93,8	62,5	90,0	79,0	82,5	89,5	85,2	61,2
8	80,0	82,5	92,0	131,0	96,3	64,2	92,0	82,5	85,5	93,0	88,2	63,2
10	82,0	84,0	94,0	131,5	97,8	65,2	94,0	84,5	88,0	95,0	90,3	64,6
12	84,0	85,5	96,0	132,0	99,3	66,2	96,5	87,5	90,0	98,0	94,0	67,2
15	84,5	89,5	98,5	133,0	101,3	67,5	98,0	89,5	93,5	99,5	95,1	68,2
Törköly súly /g/	50,3	48,6	42,5	7,5	37,2		40,3	50,8	47,7	40,7	44,9	

28. táblázat

Polizim és Pektinol enzimmel, 50 C°-on 3 derítési idővel és 4 különböző
enzimkoncentrációval végzett almaléderítés
eredményei

	Adagolt aktivi- tás SPA ₇₅	2 óra		3 óra		4 óra		5 óra
		alkohol- próba	B %	alkohol- próba	B %	alkohol- próba	B %	alkohol- próba
Polizim	2000	+	14,7	+	32,2	±	44,2	±
	4000	+	27,0	+	42,9	±	46,2	-
	6000	+	30,8	±	45,3	-	48,6	-
	8000	±	44,0	-	47,7	-	51,4	-
Pektinol	2000	+	33,4	±	42,9	±	46,9	-
	4000	+	35,9	±	45,3	-	47,2	-
	6000	±	48,4	-	48,9	-	50,7	-
	8000	-	51,0	-	54,8	-	56,7	-

Az almalé pektintartalma 0,289 %

Jelmagyarázat:

- + kocsonyás
- ± szemcsés
- tiszta

29. táblázat

A Polizim és Pektinol enzim almalé derítési
sebességének összehasonlítása alkohol-
próba alapján

Enzim	Adagolt aktivitás SPA ₇₅	Derítési idő		
		2 óra	3 óra	4 óra
Polizim	2000	+	+	+
	4000	+	±	±
	6000	±	±	-
	8000	-	-	-
Pektinol	2000	+	+	±
	4000	±	±	-
	6000	±	-	-
	8000	-	-	-

Az almalé pektintartalma 0,17 %

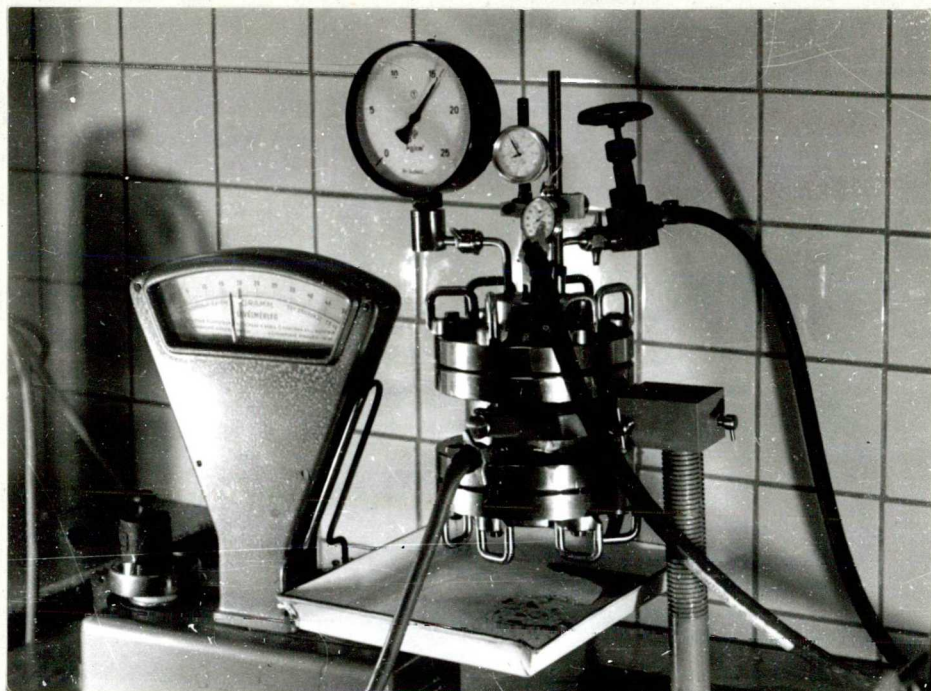
30. táblázat

Különböző pektintartalmú almalevek derítése
50 °C-on, 2 óráig Polizim és Pektinol en-
zimmel

Enzim	Adagolt aktivitás SPA ₇₅	Bontási százalék	
		0,158 % pektin- tartalmu alma- lé	0,22 % pektin- tartalmu alma- lé
Polizim	2000	53,5	49,6
	4000	55,7	67,0
	6000	57,2	75,3
Pektinol	2000	55,9	73,0
	4000	65,0	78,0
	6000	66,3	81,0

4. ábra

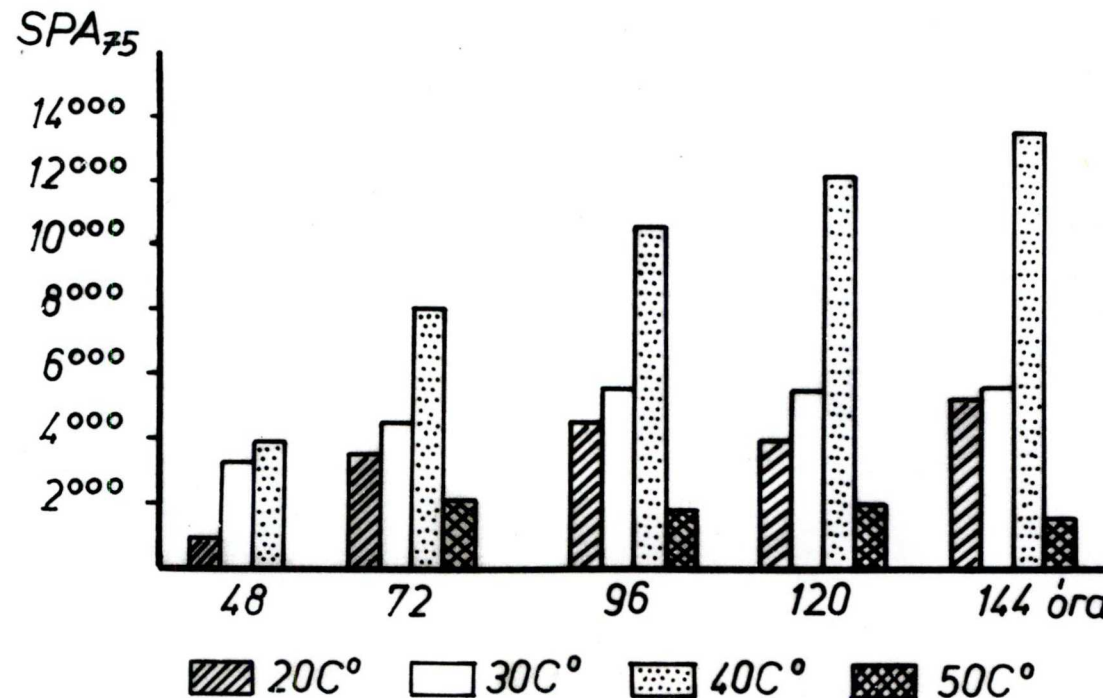
A II. számú Körmeny-féle préselés
vizsgáló készülék



5. ábra

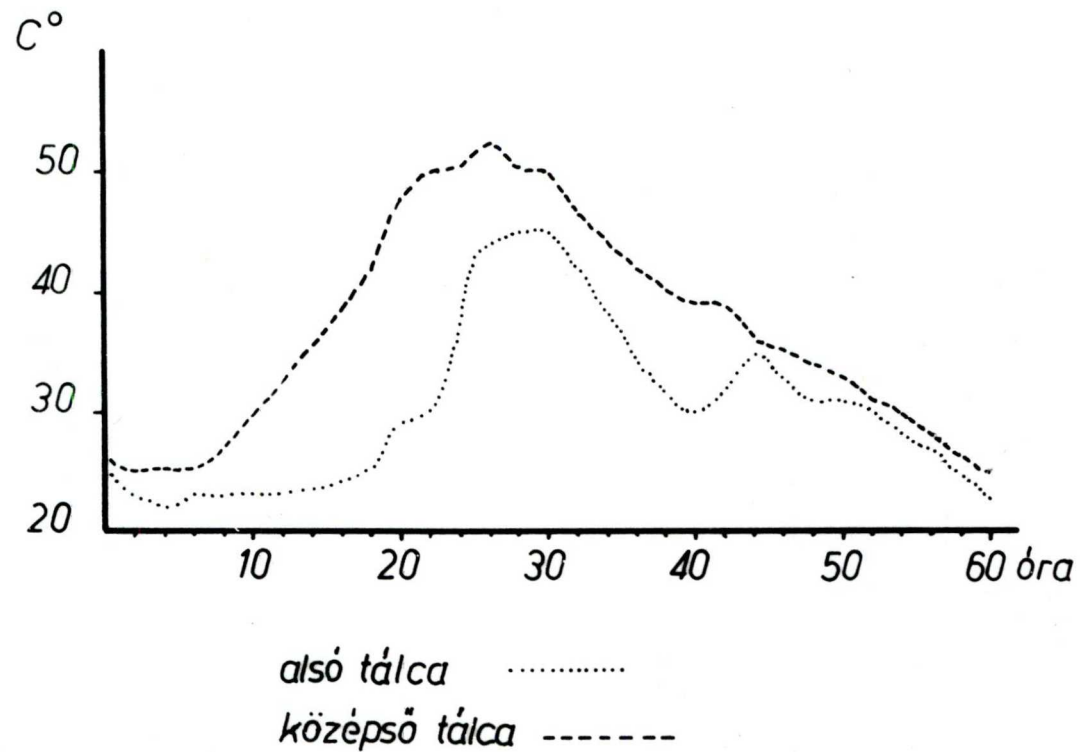
Aspergillus niger V₇₇₀ által termelt pektinbontó
enzim aktivitásának alakulása a tenyésztési idő
és hőmérséklet függvényében

(laboratóriumi mérés)



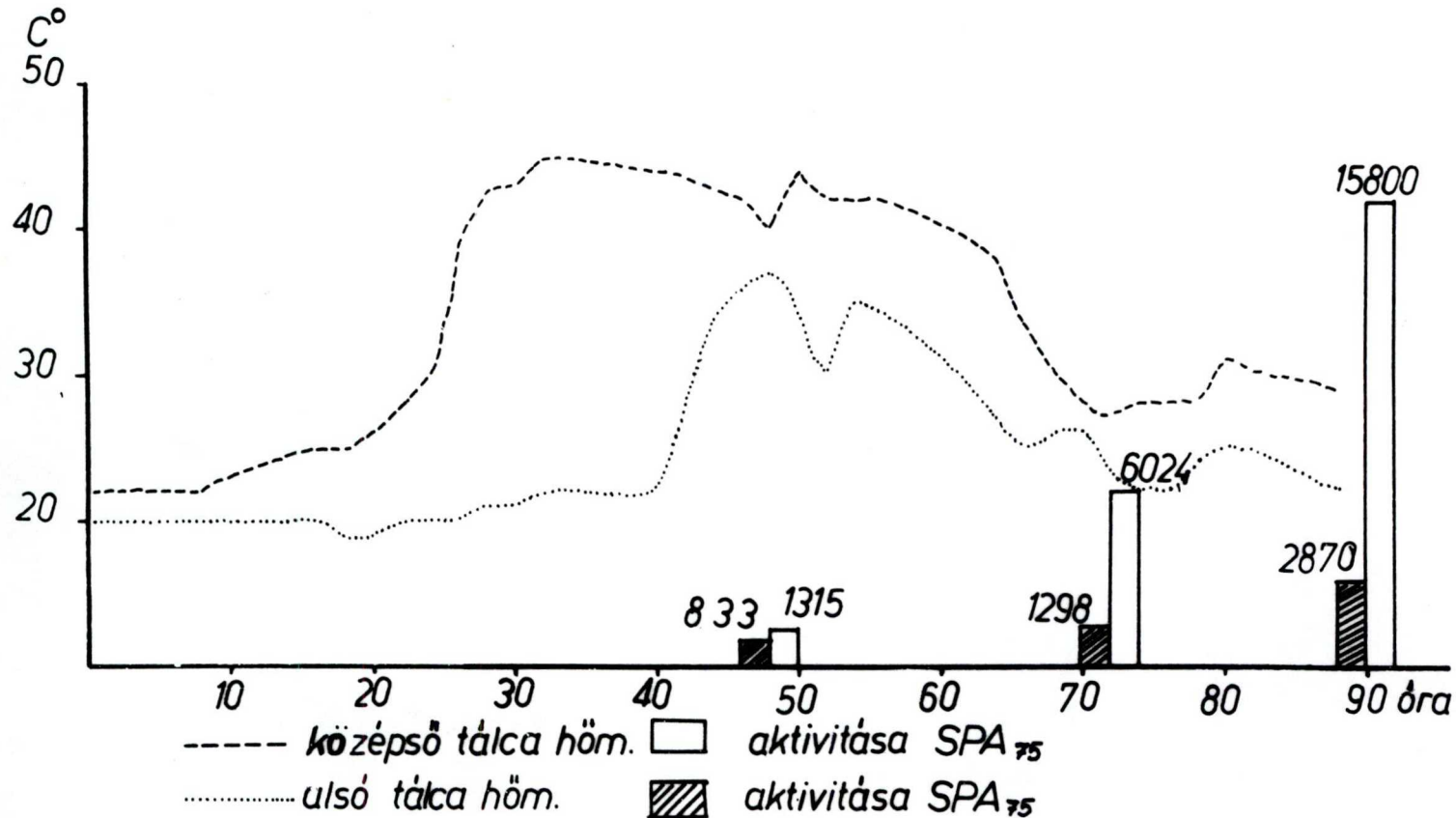
6. ábra

Tálcás tenyészetek hőmérsékletének alakulása
a tenyésztés során az állványzaton való
elhelyezés függvényében



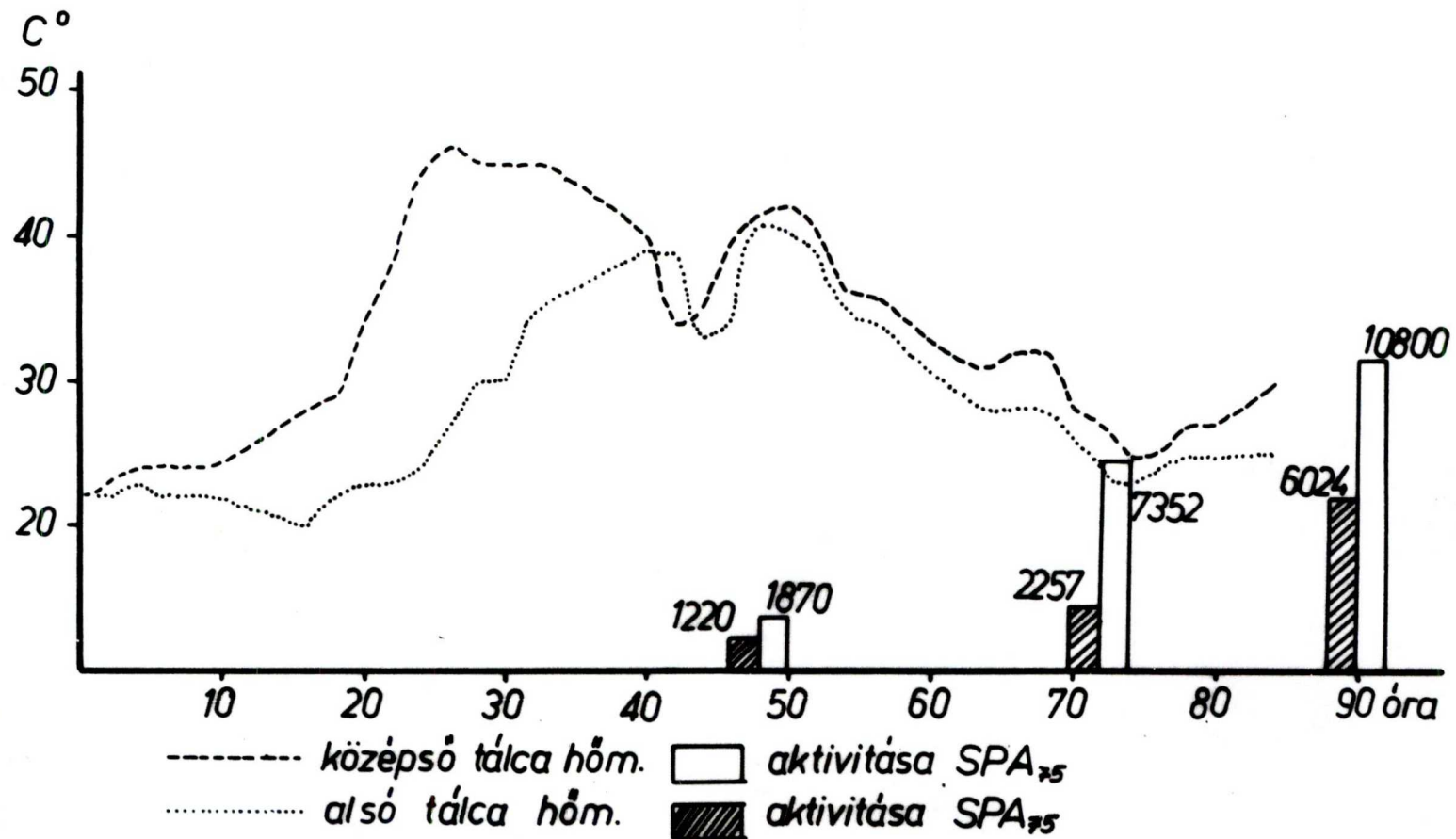
7. ábra

0,2% oltóanyagot tartalmazó enzimes korpák hőmérsékletének és aktivitásának alakulása a tenyésztési idő és az állványon való elhelyezés függvényében (üzemi mérés)



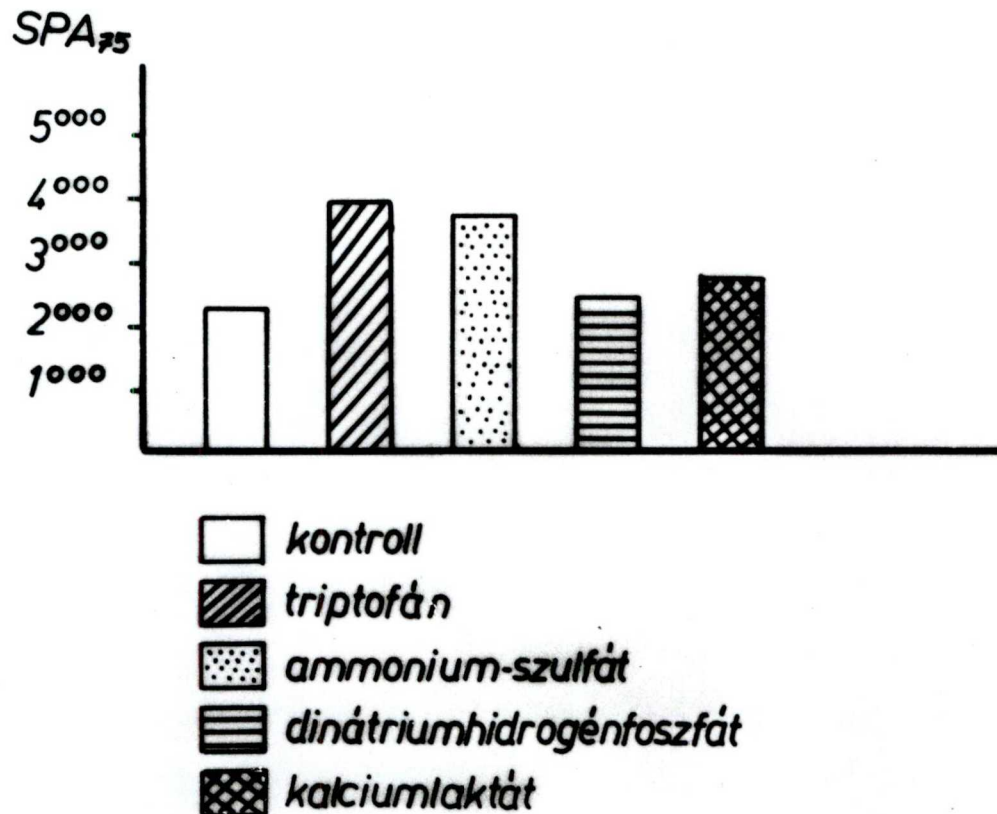
8. ábra

0,4% alóanyagot tartalmazó enzimes korpák hőmérsékletének és aktivitásának alakulása a tenyésztési idő és az állványon való elhelyezés függvényében (üzemi mérés)



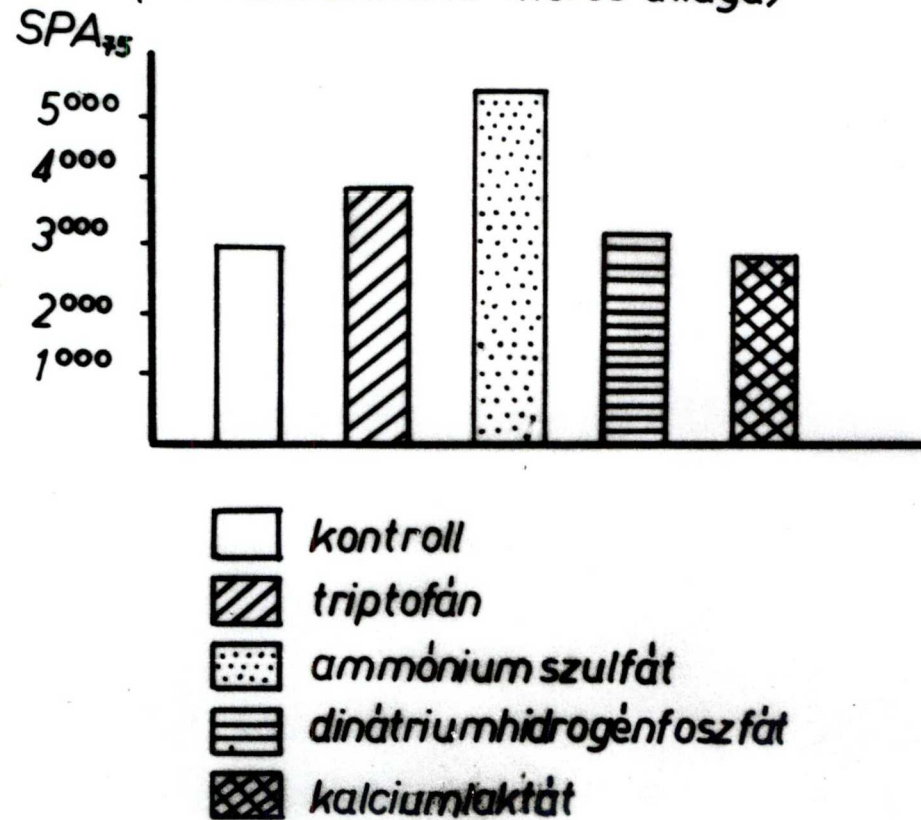
9. ábra

Adalékanyagok hatása az *Aspergillus niger* V₇₇₀
enzim termelésére a második nemzedékben 72 órás
30 °C-os tenyésztés során
(4 laboratóriumi mérés átlaga)



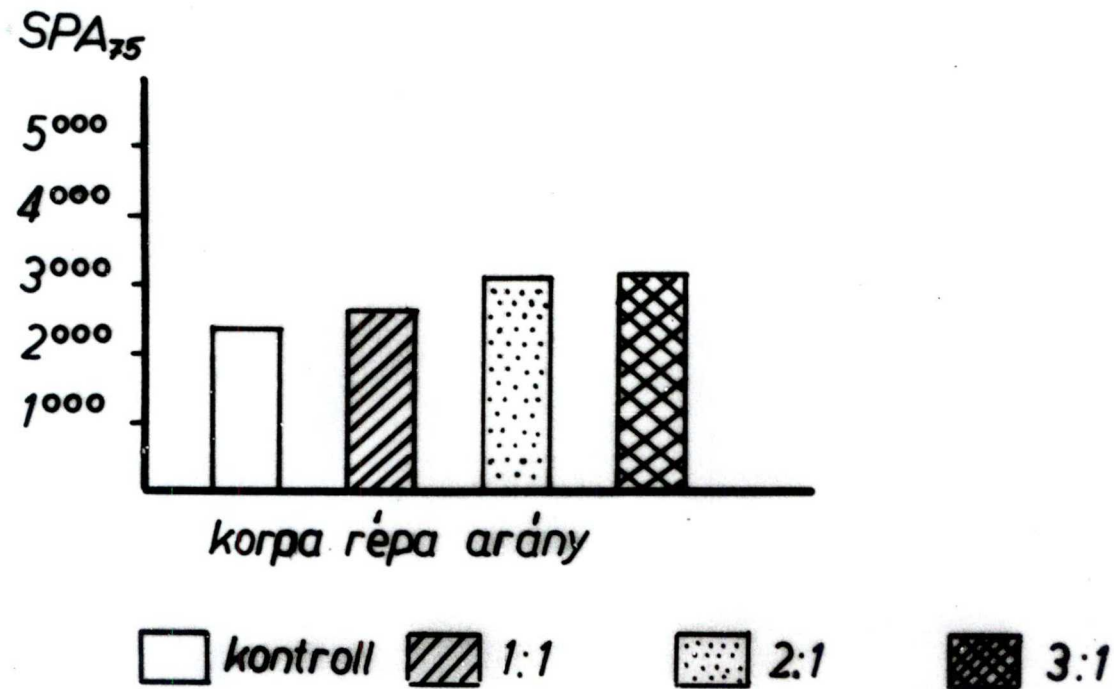
10. ábra

Adalékanyagok hatása az *Aspergillus niger* V₇₇₀
enzim termelésére üveges kultúrában 72 órás
30C° os tenyésztés után
(2 laboratóriumi mérés átlaga)



11. ábra

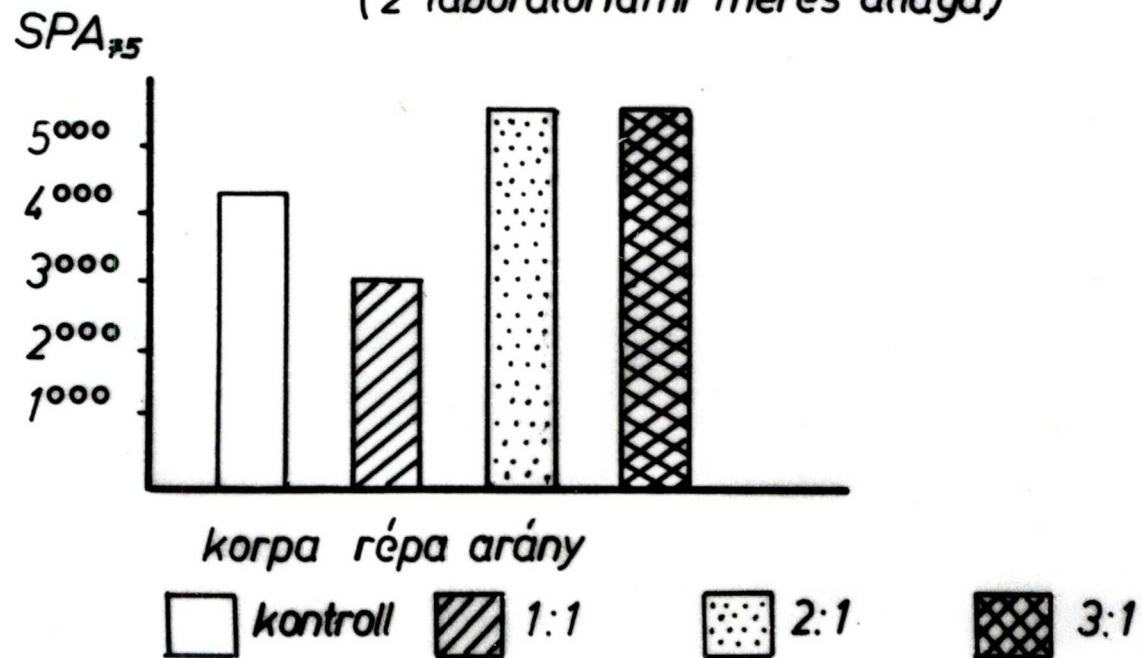
Különböző arányú korpa sárgarépa tápközegekben
mért aktivitási értékek 6 napos 30C°-os
tenyésztés után
(4 laboratóriumi mérés)



12. ábra

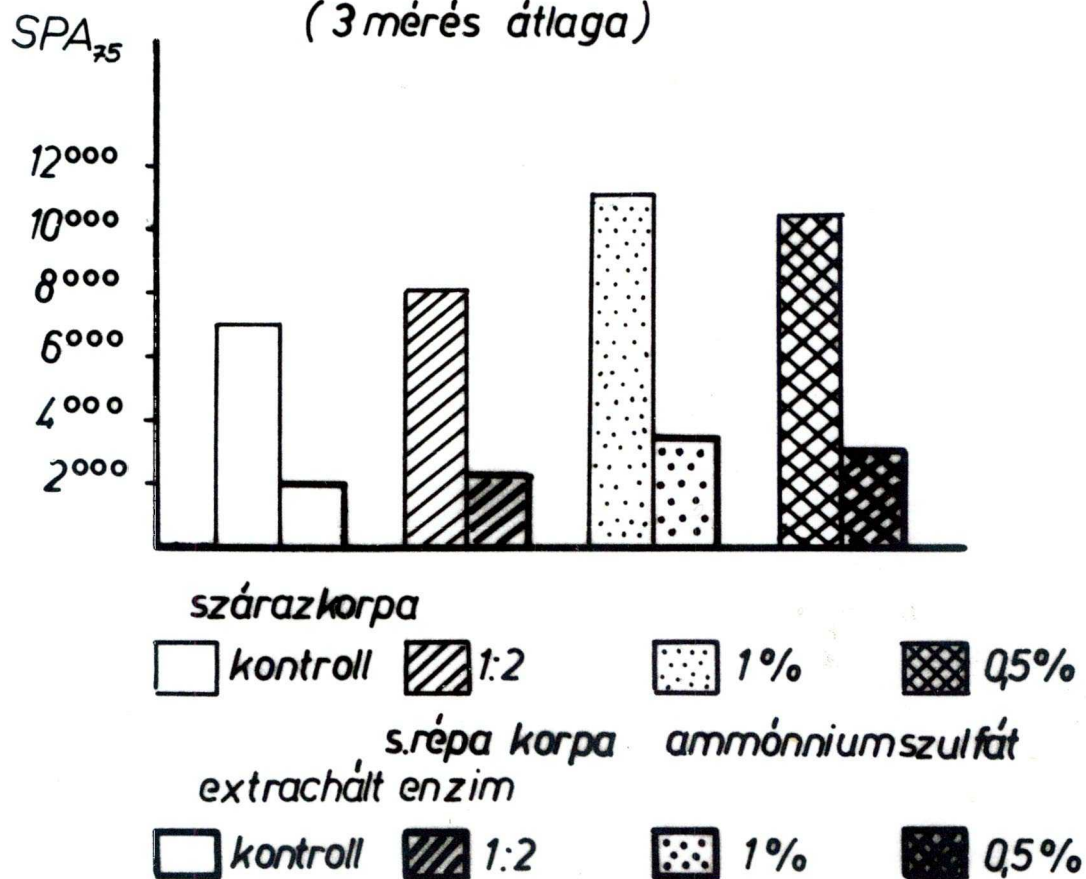
Különböző korpa répa arányú tápközegekben
mért aktivitási értékek 6 napos 30C°-os
tenyésztés során

(2 laboratóriumi mérés átlaga)



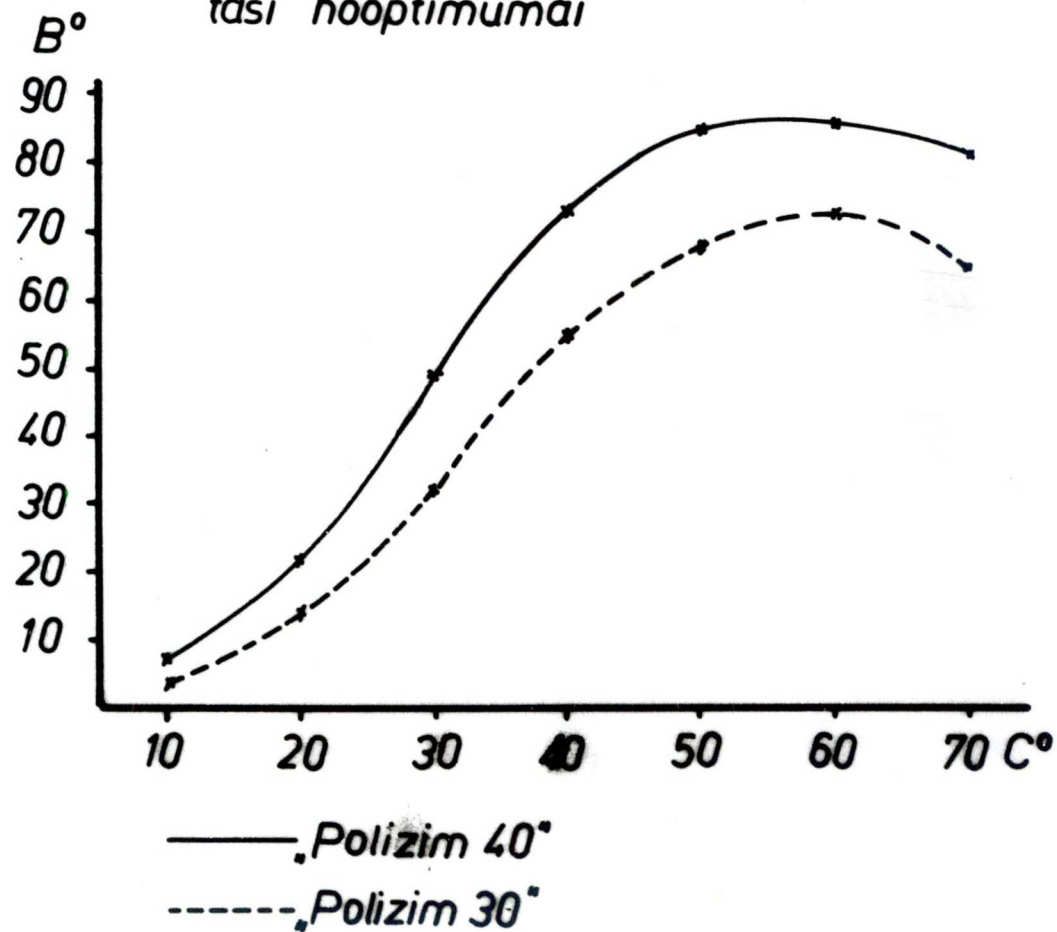
13. ábra

A száraz enzimes korpa és az extrahált enzim aktivitásának alakulása 0,5%- és 1% ammóniumszulfát és 33% sárga répa adagolás mellett
(3 mérés átlaga)



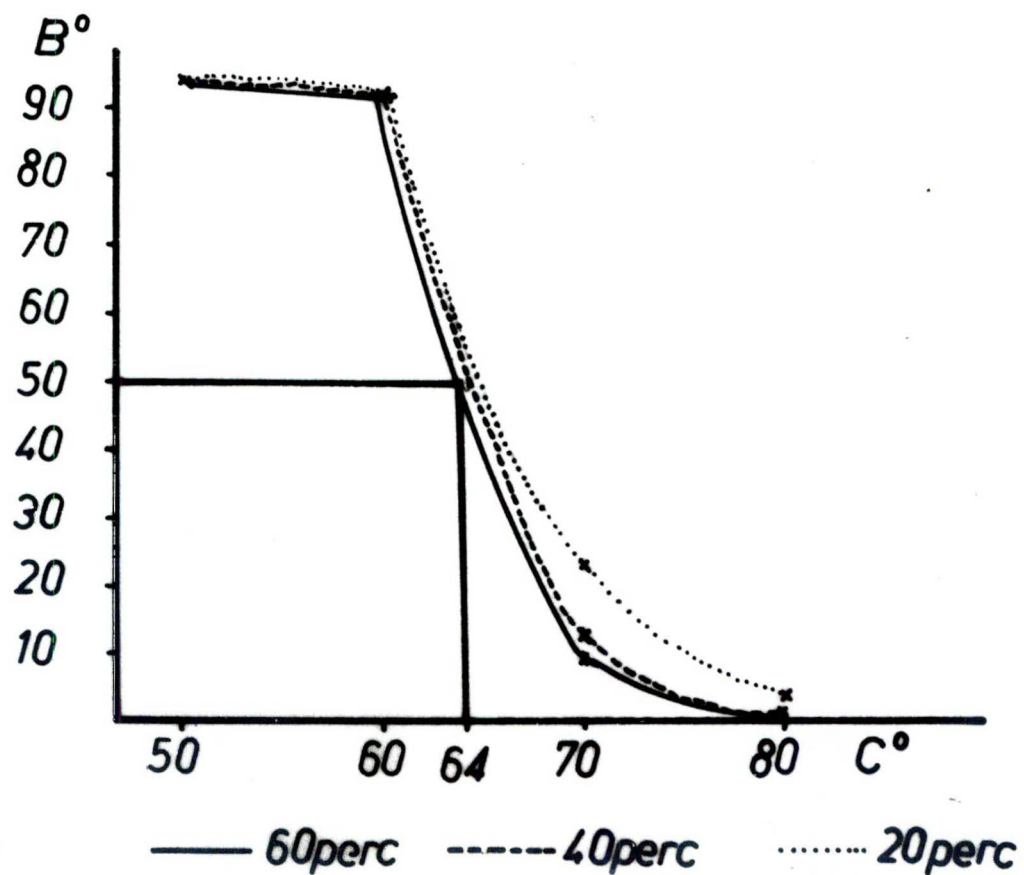
14.ábra

A 30 és 40C°on tenyésztett *Aspergillus niger* V₇₇₀
micéliumaiból nyert enzim-preparátumok bon-
tási hőoptimumai



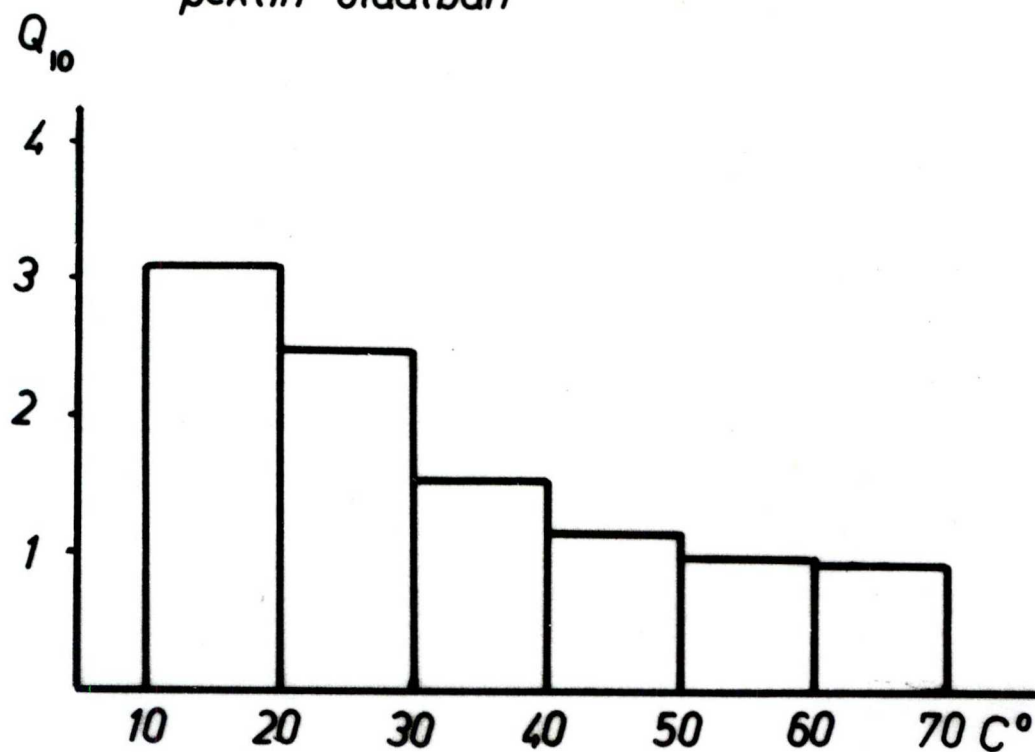
15. ábra

„Polizim 40” enzim inaktiválódása vizes oldatban
a hőmérséklet függvényében 20-40-60 perces
hőkezelés után



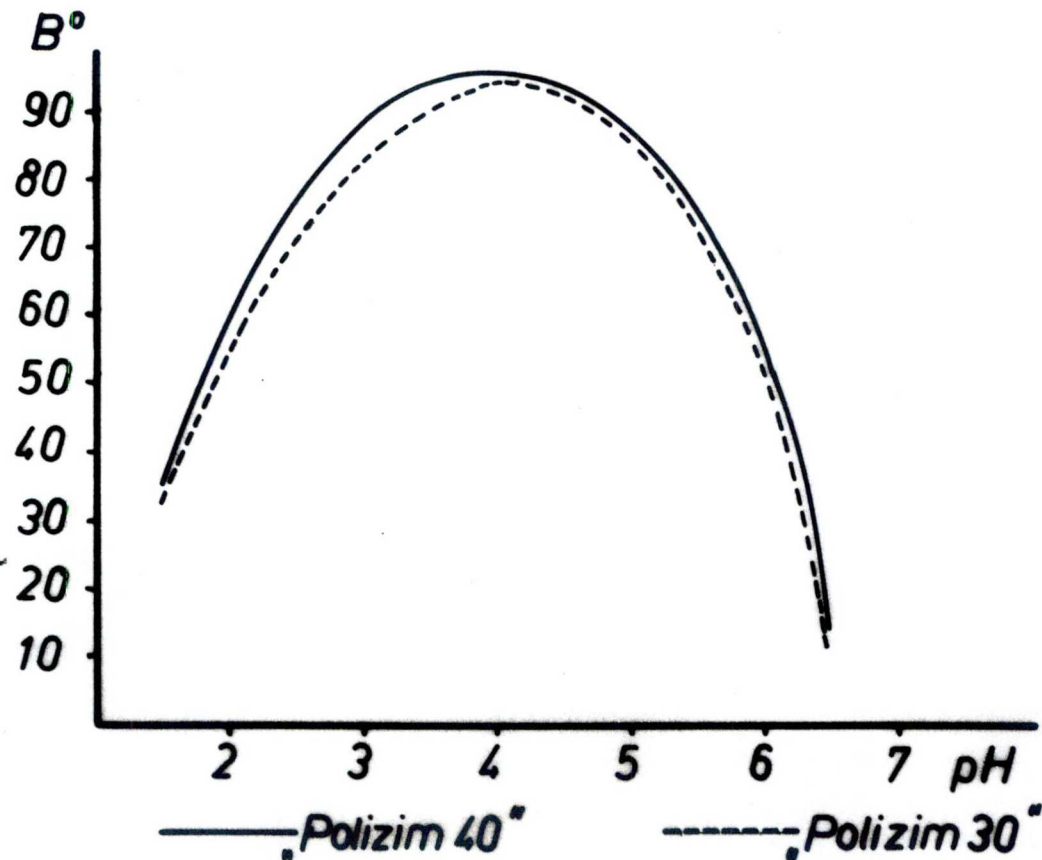
16.ábra

A Polizim enzim Q_{10} értékei 0,6%-os Pomosin
pektin oldatban



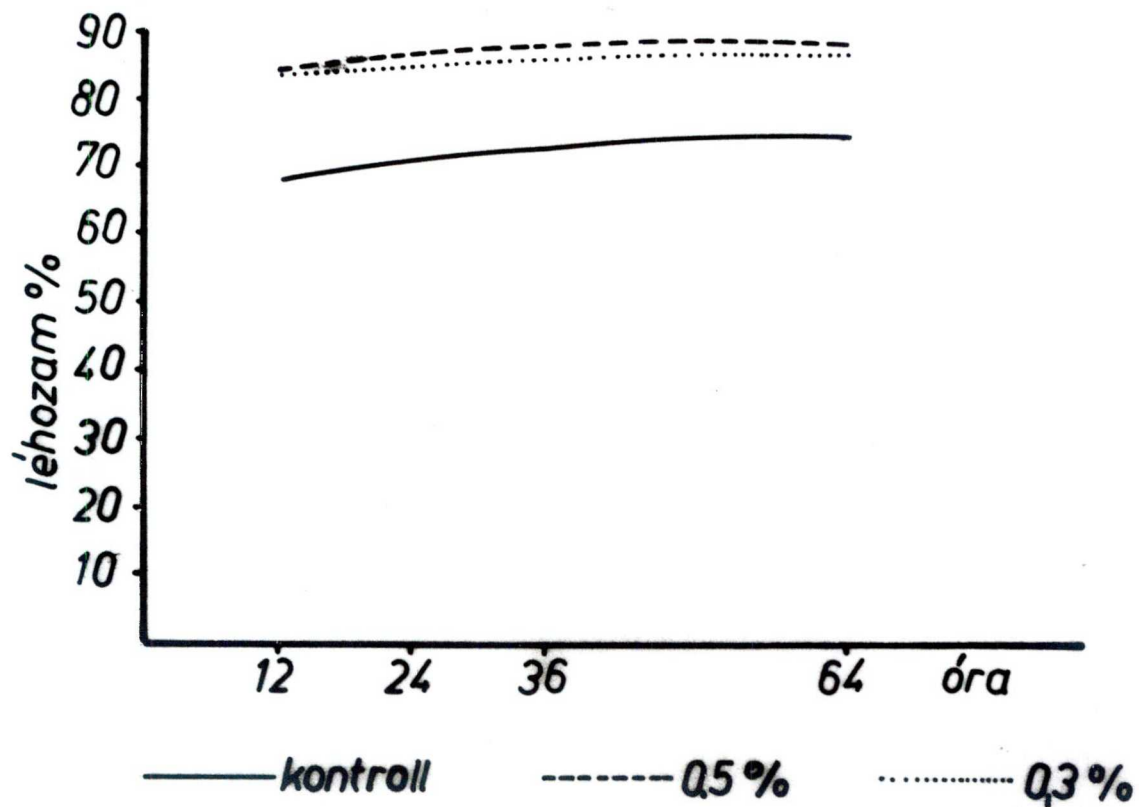
17. ábra

A Polizim enzim aktivitása különböző pH-jú pektin oldatokban 1órás 50C°-os hőntartás mellett



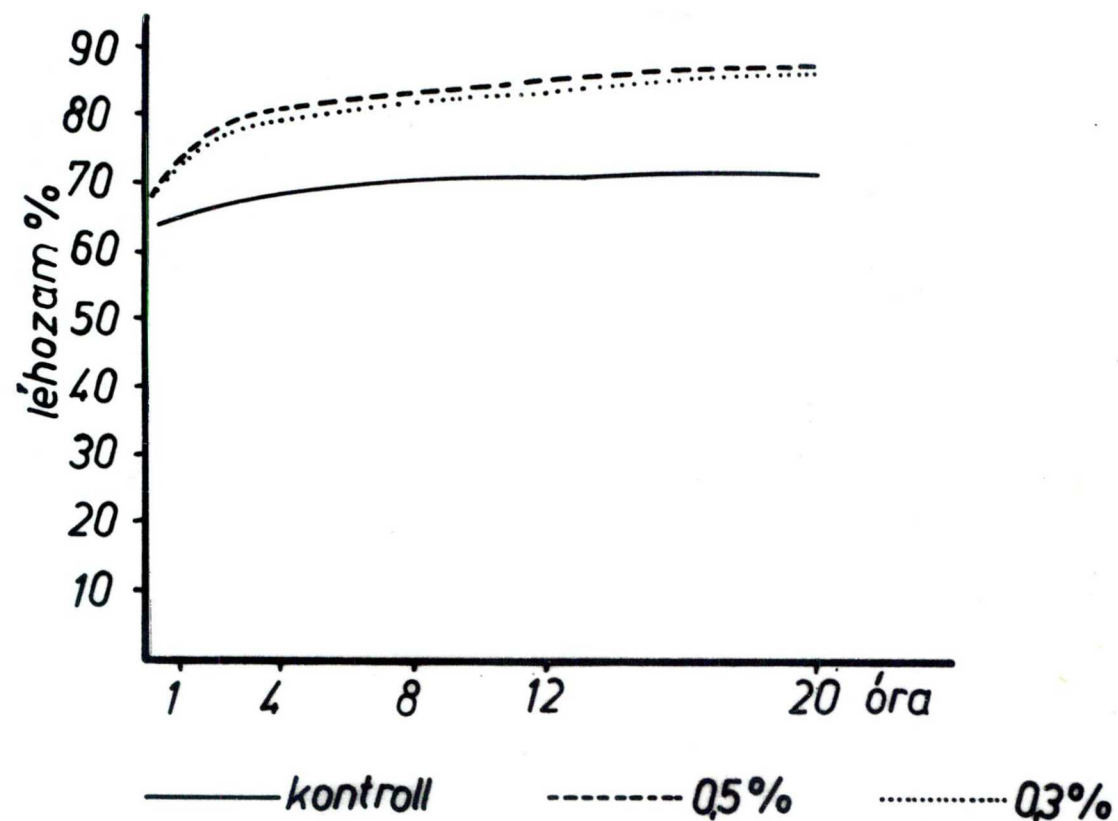
18. ábra

20C°-on 0,3 és 0,5% Polizimmal előkezelt málna-
zuzalék préselési léhozamai a kezelési idő
függvényében



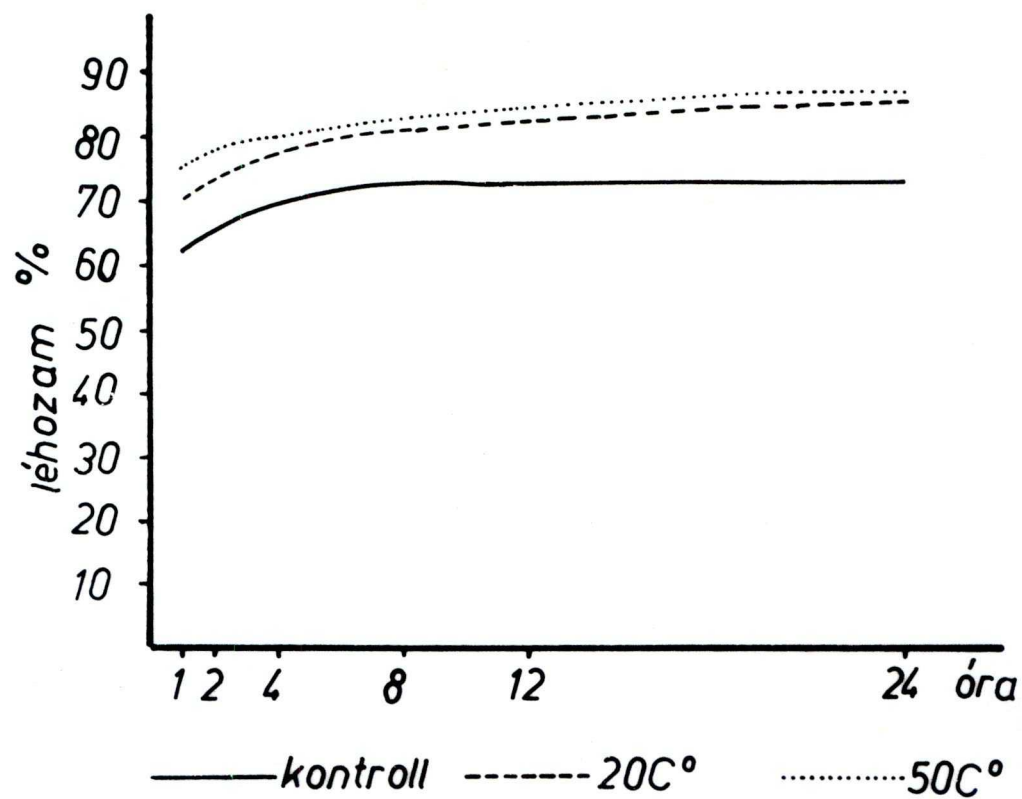
19. ábra

50C° on 0,3 és 0,5% Polizimmel előkezelt málna-
zuzalék préselési lehozamai a előkezelési idő
függvényében



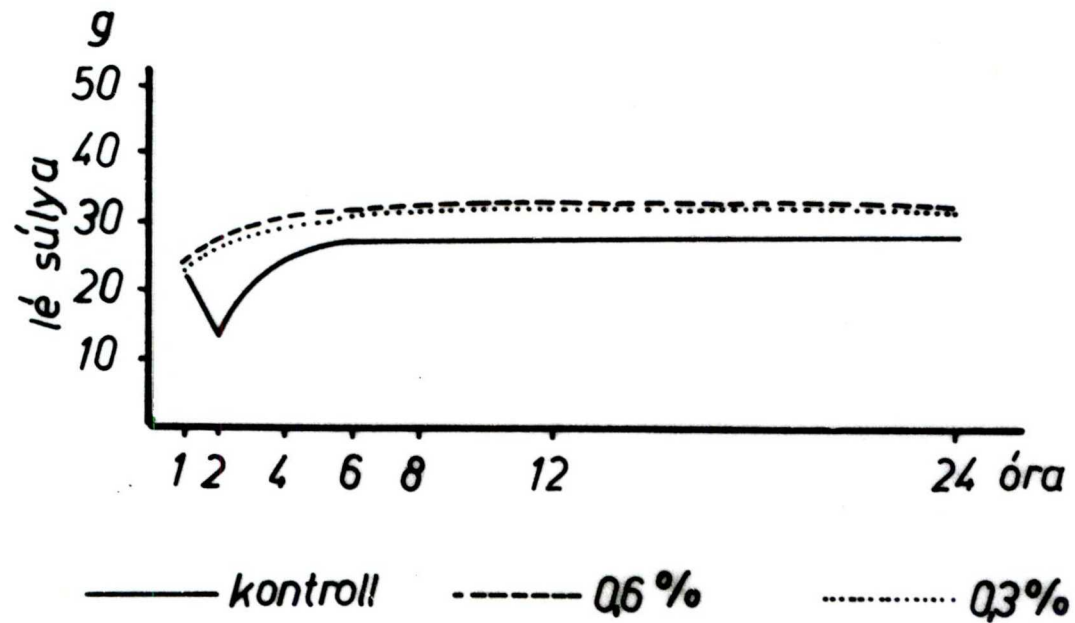
20. ábra

0,3% Polizim léhozam növelő hatása
málnazuzalékban 20 és 50 C°on



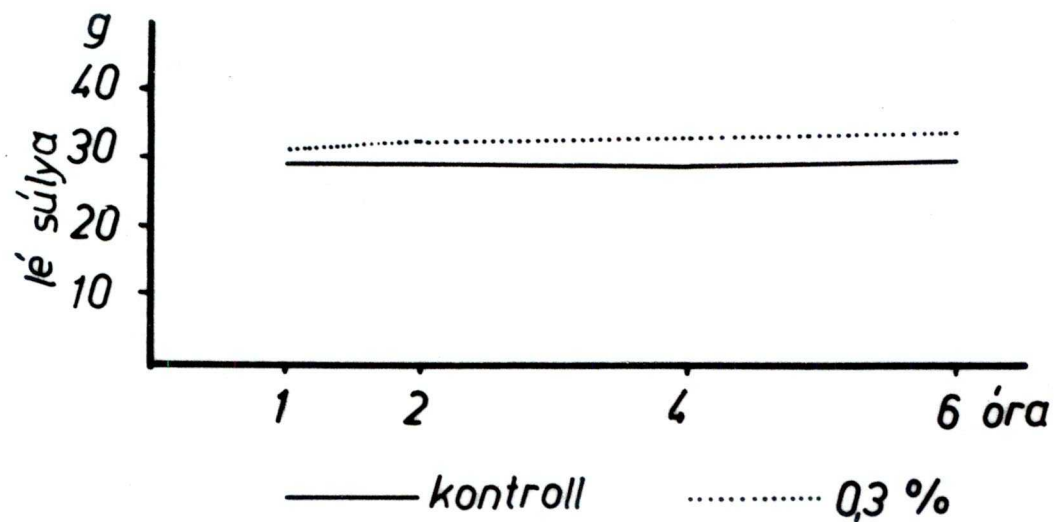
21.ábra

20C°-on 0,3 és 0,6 % Polizimmel előkezelt fekete-
ribizke-zuzalék préselési lehozamai
(50g bemért zuzalék)



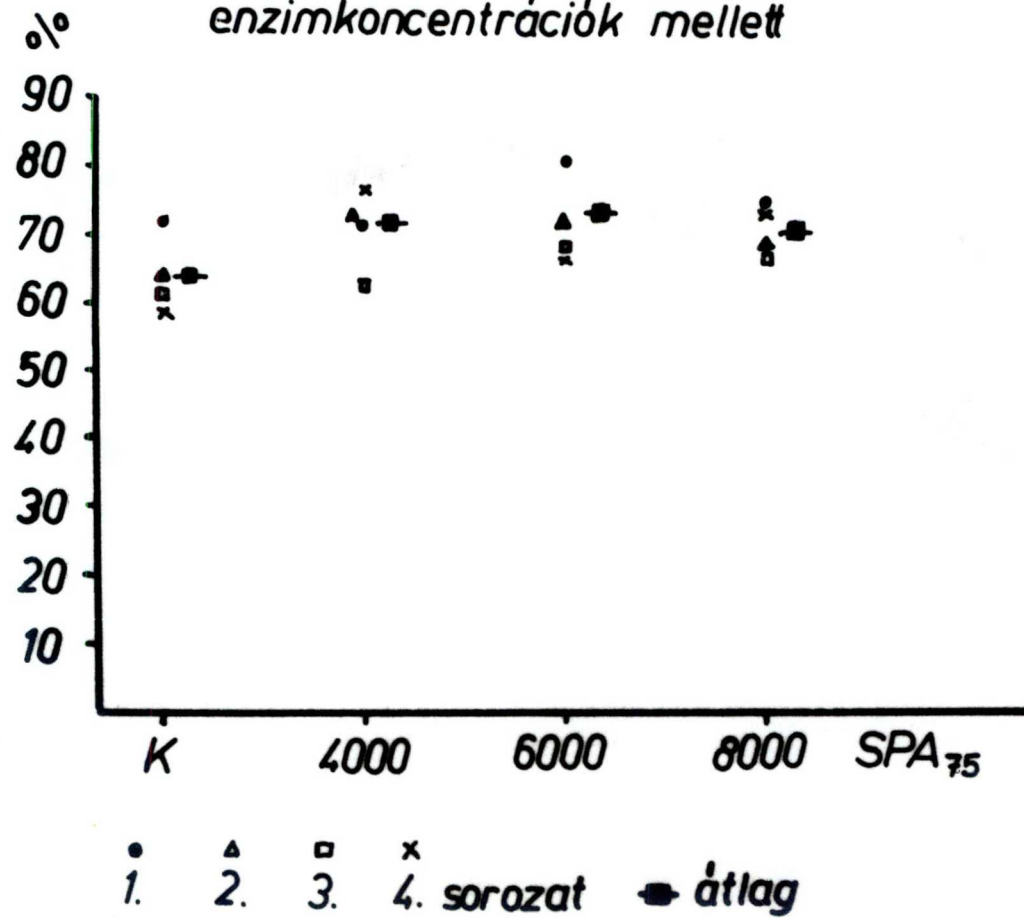
22.ábra

50C°on 0,3% Polizimmel előkezelt fekete-
ribizke-zuzalék préselési léhozamai a keze-
lési idő függvényében (50g bemért súly)



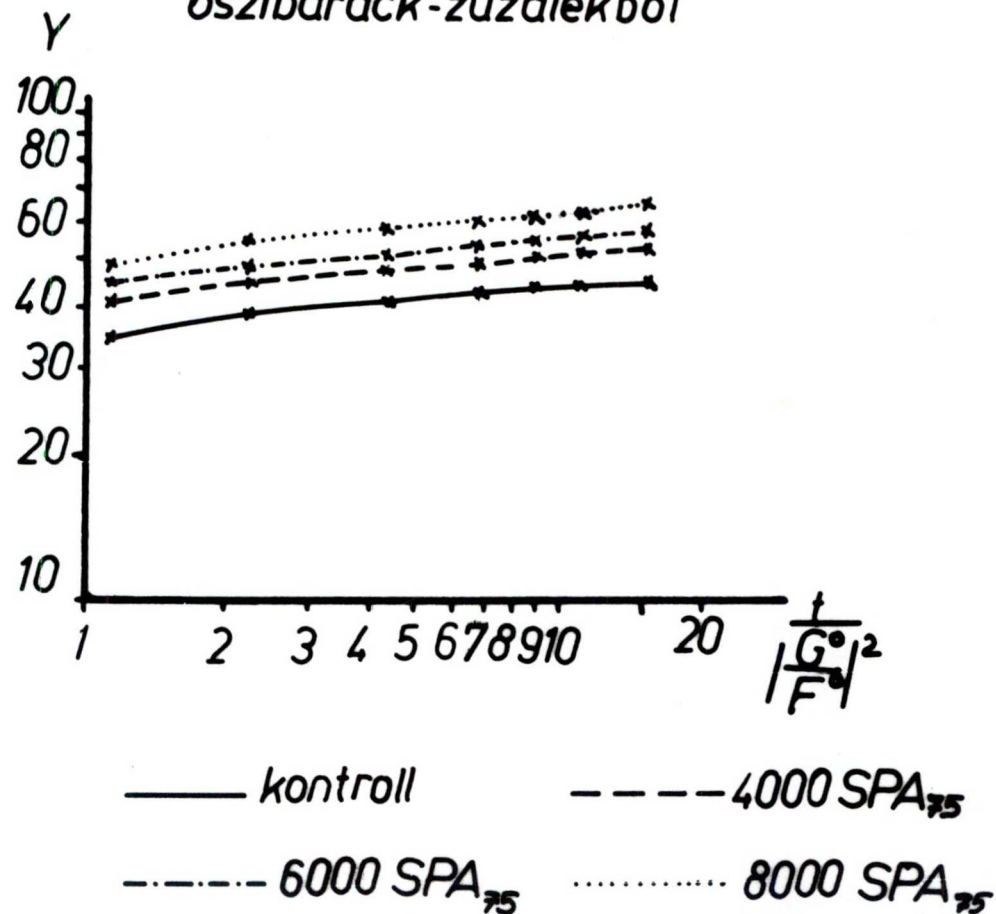
23.ábra

50C°-on 2 óráig Polizimmel előkezelt őszibarack-zuzalék %-os léhozamai különböző enzimkoncentrációk mellett



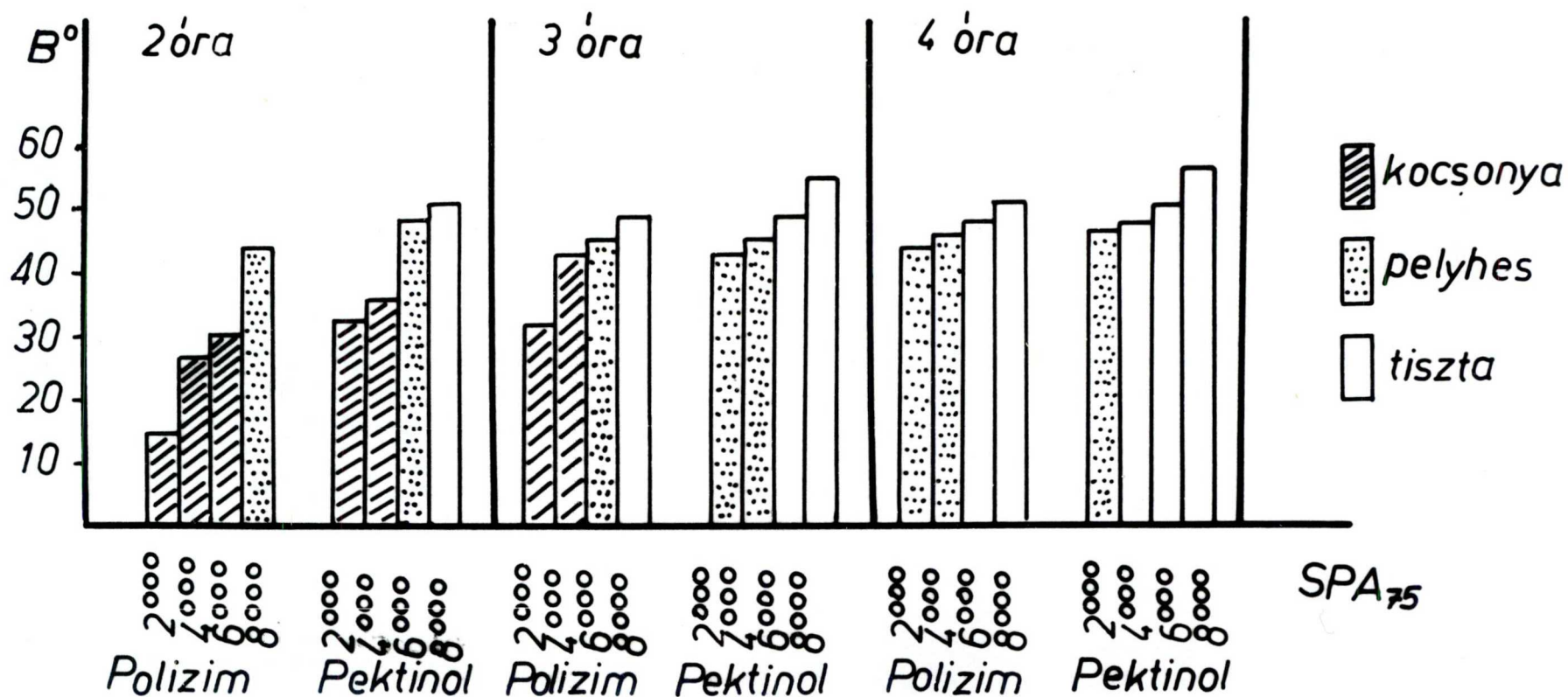
24.ábra

50C°-on 2órás enzimés előkezelés után
mért préselési léhozamsebességek
őszibarack-zuzalékból



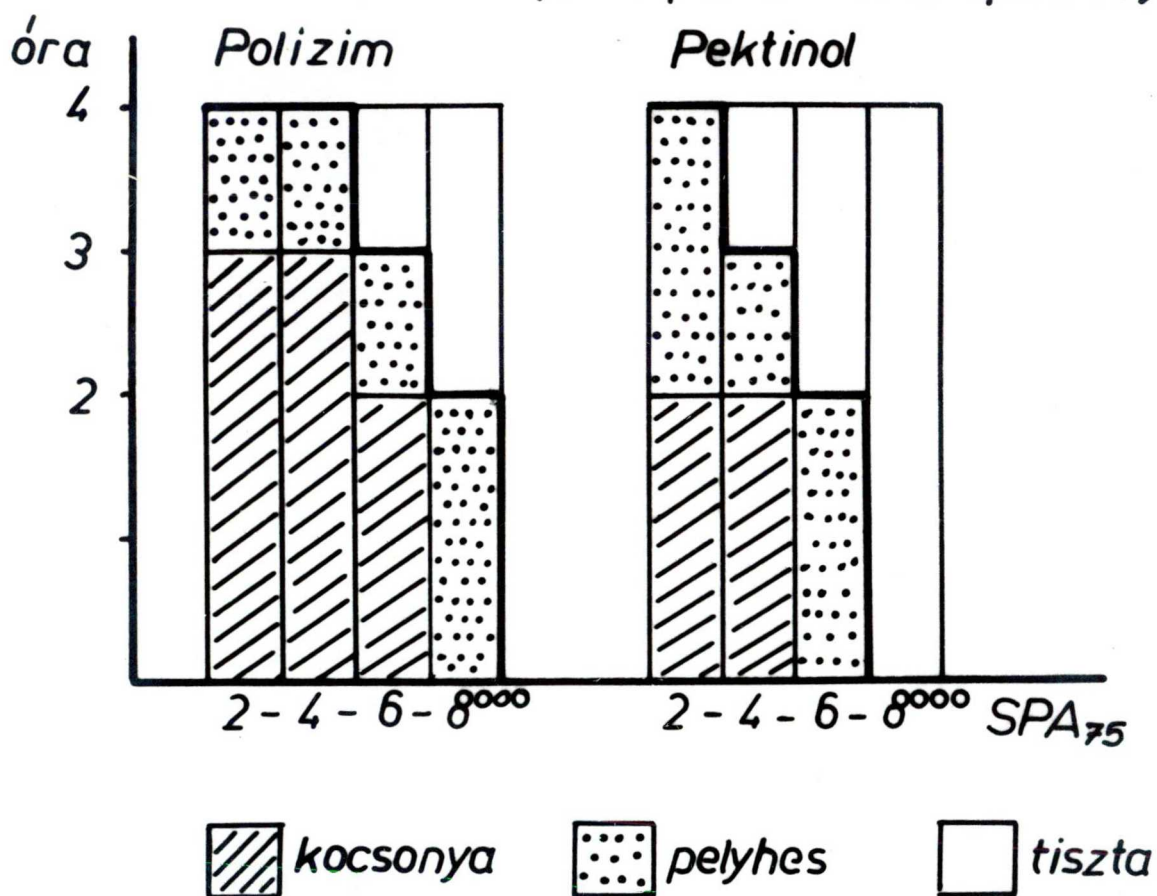
25.ábra

Polizim és Pektinol enzimmel 50C°-on 2-3-4 órás almale deritések
 pektinbontási százalékaik és alkoholpróbái
 (az almale pektintartalma 0,289%)



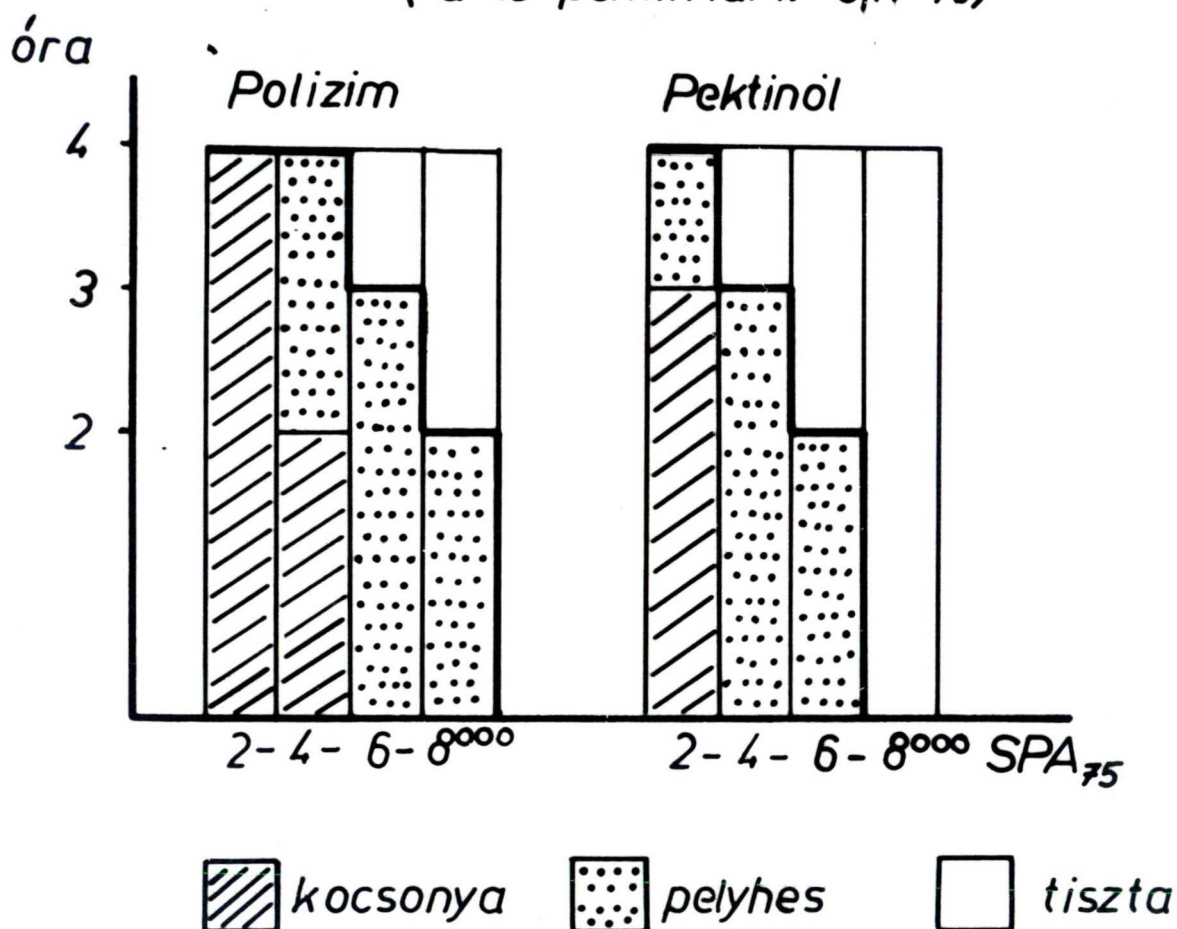
26. ábra

50C°-on Polizimmel és Pektinollal 2-3-4 óráig
végzett almalé derítések alkoholpróbái
(a lé pektin-tart. 0,289%)



27.ábra

50C^o-on Polizim és Pektinol enzimmel végzett
almalé derítések alkoholpróbái
(a lé pektintart. 0,17%)



28. ábra

Különböző pektintartalmú almalevek 2 órás
50C°-os derítése után mért bontási fokai

