



Enzimológia Amiláz enzimek



Keményítő

Termelődése

- zöld növényekben
- legfontosabb emberi szénhidrát-tartalmú táplálékokban:
 - rizs
 - búza
 - kukorica
 - burgonya
 - manióka (trópusok)
- Tároló szövetekben az érés során

Funkciója

- energia-tárolás: elhanyagolható az ozmotikus nyomása ezért, jobb ebben a formában raktározni a növényeknek
- A csírászás során szén és energia forrásként szolgál

Tárolása

- magokban, gyümölcsökben, gumókban, gyökértörzsekben
- félkristályos keményítő granulákként (kukorica: kb. 2-30 μm , burgonya: 5-100 μm)
- a kloroplasztban (levél) és az amiloplasztban (gumó, mag, gyökér)



Keményítő

Amiláz / α -amylase

- lineáris
- α -1,4
- 10-30%
- burgonya **DP 1000-6000**
- kukorica **DP 200-1200**
- redukáló és nem-redukáló vég
- gyengén vízoldható, micellákat képez
 - helikális elrendeződés
 - hajlamos visszaalakulni
 - 2 molekula ütközik
 - részlegesen dehidratálódik, kinyúlik
 - hidrogén kötések → asszociálódik
 - pehely csapadék
 - főleg az amilózra jellemző (retrogradáció)
 - (őreg kenyér morzsásodása)
- jóddal → kék szín



Keményítő

Bevezetés

- Fontos szénhidrát forrás az emberi táplálkozásban
 - Magok, gyökerek, gumók
- Keményítő tartalmú gabonák természetese korai idők óta (későbbi keményítőipar legfontosabb nyersanyag forrása)
 - Búza, Kukorica, Rozs, Árpa, Rizs(Ázsia)
- Megjelenik a keményítő maga: Ókor
 - Egyiptom: papír, hajpuder, ruhakeményítés
 - Kína: papír
- Keményítőgyárak megjelenése: Középkor
 - Hollandia, Németország: ruhakeményítés
- Keményítőipar berobbanása: 19. sz.
 - Módosított keményítők felfedezése, dextrinek, édesítők
- Ma
 - Sűrítő, ragasztó, keményítő, textiltipar (rezés, biodegradálható műanyagok, keményítő lebontási termékek (pl.:izocukor), keményítő itálakítási termékek (pl.:fokkuálószerkek), üzemanyag alkohol



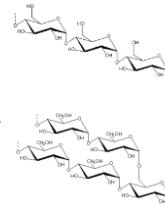
Keményítő

Jellemzői

- fehér
- íztelen
- szagtalan
- por

Felépítése

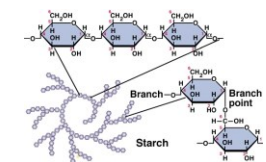
- szénhidrát
- poliszacharid, monomere: glükóz
- 2 féle glükopolimer: **amilóz, amilopektin**
 - a növényekre jellemző az **amilóz/amilopektin arány**
 - rozs: 26% amilóz
 - kukorica: 22-28%
 - **viaszos tengeri: 1%**
 - **„high amylose corn”: 80%**
 - búza: 17-27%
 - burgonya: 23%
 - banán: 17%



Keményítő

Amilopektin / amylopectin

- elágazó
- láncban α -1,4
- elágazás csatlakozás α -1,6
- 70-90%
- elágazás minden 12-30. cukormolekulán
- oldallán: 15-45 monomer
- DP: akár **>10.000 monomer egység**
- vízben oldódik, micellákat képez
- jóddal → vörösés lilás szín





Keményítő

Fajtái

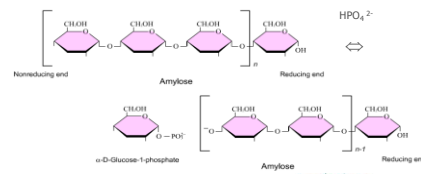
- Natív keményítő
 - Sokféle módosított keményítő termék nyersanyaga
- Waxy corn starch= „viaszos” tengeri keményítő
 - Csak amilopektin
 - Ázsiai kukorica fajta
 - Jóddal piros szín
- High amylose corn starch
 - amilóz>70%
 - Cukorka gyáarak, sűrítés: szószok, gélek
 - Biodegradálható fólia



Keményítő

Lebontása a növény által

- lépésről-lépésre monomerré
- α -1,4 kötések a **keményítő-foszforiláz** által
- α -1,6 kötések az **α -1,6-glikozidáz** által



Rezisztens keményítő

- Bontás nélkül megy át az emésztőrendszeren**, csak a vastagbélben kezdődik el a lebontása, ezáltal jó táptalajt biztosítva az ott élő hasznos mikroorganizmusoknak

- RS1:** Olyan keményítő, mely működő sejtekbe van bezárva, így az emésztőenzimek nem, vagy nehezen férnek hozzá pl: egész, vagy durván őrölt gabona magvak, hüvelyesek
- RS2:** Olyan keményítő mely nem bomlik le a vékonybélben pl: nyers krumpli, zöld banán
- RS3:** Olyan keményítő, mely a retrogradációs folyamatok során keletkezik (irreverzibilis átmenet az oldott formából az oldhatatlanba) pl: megfőzött, majd kihűtött rizs, krumpli
- RS4:** Kémiaiilag módosított keményítő



Keményítő

Fajtái

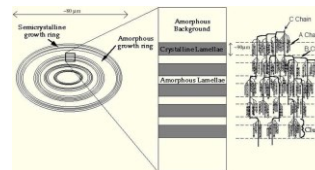
- Kémiaiilag módosított keményítők
 - Az ipar (papír, élelmiszer, kozmetikai) számára még inkább megfelelőbb keményítő változatok
 - Fagyaszott, instant ételek állagjavítás, eltarthatóság
- „Természetesen” módosított keményítők
 - Nem utólag kémia módon
 - A növényben történő bioszintézis módosítása
 - Pl. amilóz-amilopektin arány befolyásolása
 - GMO növények



Keményítő

Lebontása az ember által

- Nyalban és hasnyálmirigyben található amiláz enzimekkel
- főzés → emészthetőség ↑
- rezisztens keményítő: bontás nélkül megy át az emésztőrendszeren



Keményítő lebontása az iparban

- Korábban savas-savas hidrolízis
- Később savas-enzimes hidrolízis
- Ma: enzimes-enzimes hidrolízis





Amilázok

Amilázok

- Alfa-amilázok
- Béta-amilázok
- Izoamilázok



Béta-amilázok

- Termelik
 - Baktériumok
 - Gombák
 - Növények: édesburgonya, szójabab, árpa, rozs
 - Ember, állatok: nem termelik, csak a bélcsatorna mikroflórája
- Exo enzim
 - Nem redukáló láncvégen hasít
- Két nagy csoport
 - Klasszikus béta-amilázok
 - glükóamilázok



Izoamilázok

- Elágazás bontó enzimek
- Endo mechanizmussal bontanak
- 1,6 kötést bont
- Lineáris maltodextrineket eredményez
- „R- enzim”
- Pullulanáz
 - Aerobacter aerogenes
 - C forrás: pullulán



Alfa-amilázok

- Termelik
 - Baktériumok: B. amyloliquefaciens, B. subtilis, B. coagulans, Pseudomonas saccharophila, Aspergillus oryzae
 - Gombák, növények, állatok
 - Ember: nyál, hasnyál
- Endo enzim
 - Nem meghatározott terméket adnak, hanem eltérő hosszúságú malto-oligoszacharidokat
 - Keményítő viszkozitása drasztikusan csökken hatására: folyósító enzim
 - Jóddal adott két szín eltűnik
- Ca²⁺
- Előállítás
 - Fermentációval
 - Rátáplálás
 - Katabolite represszió
 - Keményítő adagolás: C forrás és induktor
 - Extracelluláris termék
 - Kicsapás, Ultraszűrés, Kromatográfia, (Szárítás, Granulálás)



Béta-amilázok

- klasszikus**
 - Termelik
 - Baktériumok: B. polymyxa, B. cereus
 - Terméke:
 - Béta-maltóz + határdextrinek
 - ~ 1,4 kötést bont
 - Előállítás: régen malátából ma fermentációval
- glükóamiláz**
 - Termelik:
 - Baktériumok: A. niger, A. awamorii
 - Terméke: D-glükóz
 - Cukrosító enzim
 - 1,4 és 1,6 kötést is bont
 - Előállítás: fermentációval



Ősbaktériumok által termelt amilázok

- Ősbaktériumok
 - Szoklatban környezetben is képesek megélni
 - Nagy hő
 - Nagy sókoncentráció
 - Termékek amilázokat
 - Enzimek hőm. optimuma: ~90°C!
 - Nagy ipari érdeklődés
 - Enzimek génjeinek más mikroöbektől történő klónozása

Table 7.1 Thermophilic archaeobacterial amylolytic enzymes¹⁰

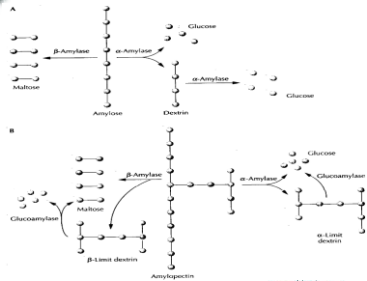
Bacterium	Enzymes	Optimum temperature of activity, °C	Optimal pH of activity	Main products	Location of enzyme ^a
Dsaziflavococcus meinas	α-amylase pullulanase	100 100	5.5 5.0	- -	- -
Pyrococcus furiosus	α-amylase α-glucosidase	100 105-115	5.0 5.0-6.0	G4, G5, G6 G1	I E
Pyrococcus sp. KOD1	α-amylase	98	5.5	G2, G5	E
Thermococcus	α-glucosidase	100	5.0-5.5	G1	E
Thermococcus	α-amylase	100	5.5	G2, G3	E
Thermococcus	α-amylase	75-85	5.0-5.5	G3, G4	E
Hydrothermus	α-glucosidase pullulanase	110 100	6.0	G1 α(1-6)	I I
Thermococcus	α-amylase	125	5.0-5.5	G1, G4	E
Thermococcus	α-amylase	80	5.5-6.0	G2, G3	E
Thermococcus	α-glucosidase	75	7.0	G1	E
Thermococcus	pullulanase	80-95	5.0-5.5	α-1-6 debranching	E E

^aI = intracellular; E = extracellular





Amilázok



2018 Enzimológia – Amiláz enzimek

19



Keményítő

Dextróz egyenérték

- a keményítő **hidrolízis mértéke**
- elbontott glikozidkötések száma / kezdeti összes [%]**
- redukáló cukor** glükózban kifejezve / teljes szénhidrát mennyiség [%]
- a **szárazanyag %-ában** számított redukálóképesség
- a **keményítő hány %-a** van dextróz (glükóz) formában

$$DE = 180 / (162 \times n + 18) \times 100$$

ahol n az **átlagos DP**

glükóz DE 100
 maltóz DE 53
 maltotrióz DE 36
 keményítő DE közel 0

fordítva arányos a polimerizációs fokkal, a maltodextrinek móltömegével

2018 Enzimológia – Amiláz enzimek

21



Keményítő

Ipari felhasználás

- papíripar**
 - felületi enyvezés → szilárdság, felület simasága, fehérség, nyomtathatóság
 - hullámpapír ragasztó eny
 - könyvkötés, tapéta, papírszák, boríték, üveg-címke ragasztás
- textilipar**
 - pamutszájak bevonása szővés előtt (jrezés)
 - ruha keményítés
 - simá, ropogó éleek, szennyeződések könnyebb eltávolítása
- Kozmetikai ipar**
 - híntőpor (talkum helyett)
- Bioműanyagok**
- Bioetanol**

2018 Enzimológia – Amiláz enzimek

23



Amilázok

Aktivitásuk mérése (Nagyon jól definiált körülmények között: Szubsztrát, Termék, pH, T, Reakcióidő)

Az α -amiláz aktivitás meghatározásának alapjai

- a **redukáló cukrok mennyiségének** növekedése
 - keményítő hasítása → dextrinek → kisebb egységek (maltoteteraóz, maltotrióz, maltóz és glükóz)
 - új cukor redukáló végek megjelenése**
 - pl. dinitro-szalicilsavas eljárás: 3,5-dinitro-szalicilsav oxidálja a glükóz aldehid csoportját → 3-amino-5-nitro-szalicilsav keletkezik → barnás-sárgás szín, fotometrián mérhető, **megfelelő cukorkalibráció szükséges**
- a **keményítő-jód komplex kék színének** intenzitáscsökkenése
 - amiláz → kezdetben hosszabb molekulájú dextrinek → jóddal barnásvörös szín (**kalibráció kell**)
 - keményítő teljes lebomlása → az elegy jóddal nem ad színreakciót
- keményítő szuszpenzió **viszkózitásának** változása (**kalibráció kell**)
- mesterséges szubsztrát** hidrolízise
 - kromofór csoport felszabadulása (Phadebas tableta, kék szín 620 nm) gyári kalibráció
 - fotometrián mérhető

2018 Enzimológia – Amiláz enzimek

20



Keményítő

Élelmiszeripari-felhasználás

- élelmiszer adalékanyag
 - sűrítő, stabilizáló (pudingok, szósok, salátaöntetek, tészták stb.)
 - rezisztens keményítő
- keményítő bontásából származó egyéb termékek
 - maltodextrinek (dextróz egyenérték, DE 10-20%) – **töltőanyag**, sűrítő
 - keményítő szörp/szirup (DE 30-70) – **édesítő**, sűrítő
 - dextróz (DE 100) – kereskedelmi glükóz
 - Izocukor, HFS (nagy fructose syrup) (glükózból glükóz-izomerázzal, ioncserés fruktóz elválasztás, majd visszakeverés)
 - cukoralkoholok (cukor redukálásával v. fermentációval előállított édesítők) általában nem, vagy kevésbé emelik a vércukrot, alacsony kalória-tartalmúak, nem okoznak fogszuvasodást
 - Etanol

2018 Enzimológia – Amiláz enzimek

22



Amilázok felhasználása

Ipari felhasználás

- sütőipar**
 - cukrok → élesztő C-forrása → CO₂
 - amiláz → a pékáruk térfogata ↑, állaga javul
- sörgyártás:** cukor- és alkohol-tartalom beállítása
- gyümölcslevek:** keményítő-tartalmú gyümölcsök (pl. éretlenül szedett alma)
- takarmányok** emészthetőségének javítására

2018 Enzimológia – Amiláz enzimek

24



Amilázok felhasználása

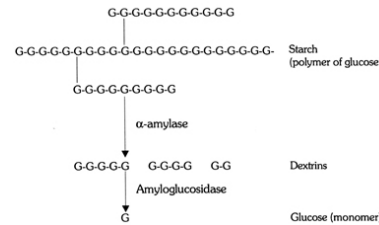
Ipari felhasználás

kukorica keményítő bontása

- **glükóz** és, α -amilázzal, pullulanázzal, amiloglükozidázzal
- **izocukor** és. (fruktóz 42% glükózból, immobilizált glükóz-izomerázzal
- **HFS** és. (fruktóz 55% izocukorból, loncserével elválasztott fruktóz visszakeverésével)
- **keményítőszörp** és. Keményítőből (α -amilázzal, amiloglükozidázzal), glükóz + dextrinek, DE kb. 40%; édesipar: cukorkák és.)
- **maltóz szörp** és. β -amilázzal



Amilázok felhasználása



Amilázok felhasználása

Izocukor előállítás

- kukorica keményítőtől és. glükózoldat tisztítása, loncseréje (Ca^{++} eltávolítás), sterilizálása
- a glükóz-oldatot ($+\text{MgSO}_4 + \text{Na-hidrogén-szulfid}$) **immobilizált glükóz-izomeráz** (xilóz izomeráz) enzimmel feltöltött oszlopokon engedik át (**pH 7-8, T: 42-45 °C**) intracelluláris E → nehéz kinyerni → immobilizálják
 - az enzimet *Bacillus coagulans* baktérium tenyésztésével állítják elő (Novozymes)
 - xilóz alapú fermentáció (xilán és xilóz tartalmú búzákorpán)
 - glükóz-izomeráz (xilóz izomeráz) indukciója
 - egyensúlyi reakció → a glükóz egy része fruktózá izomerizálódik
 - elmeletileg max. 50% fruktóz
 - rövidebb reakcióidő → kevesebb melléktermék, de így csak **42% fruktóz**
- oldatot tisztítása töményítése bepárlással **71,5%-ra**, hogy az 1 l izocukor **édesége** az 1 kg kristálycukorral legyen **azonos**
- glükóz és fruktóz **kromatográfiás elválasztása**
- **fruktóz bekeverése a 42%-osba** → HFCs (high fructose corn syrup) ált **55% fruktóz**



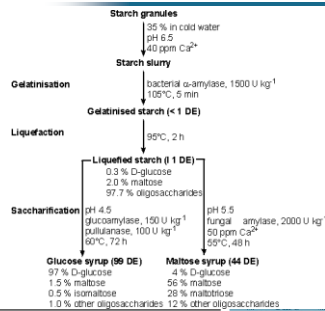
Amilázok felhasználása

Glükóz előállítás (led. Mezőgazd. Iparok)

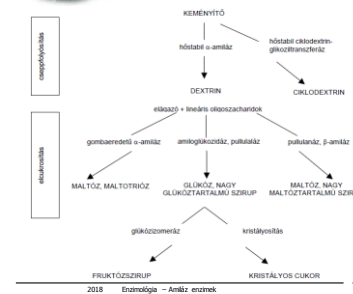
- kukorica keményítő kinyerése
 - a kukoricaszemekből eltávolítják a fehérjertartalmú csírték → állati takarmány/csíraolaj kinyerése
 - a csírtékanyagot szemeket megőrlik
 - a keményítőt elkülönítik, tisztítják
- előhidrolízis, **elfolyósítás**
 - 105-110 °C, 5 perc (gélésítés) → <1 DE
 - 30-40% sz.a. szuszpenzióhoz **α -amiláz** (*B. licheniformis*) (+ 20 ppm Ca^{++})
 - 85-95 °C, pH 6,0, 1-2 óra → **8-18 DE**
- **elcukrosítás**
 - **amiloglükozidáz** (*A. niger*) + **pullulanáz** (*Bacillus*) → további hidrolízis → glükóz
 - 60 °C, pH 4,5, 48-96 óra → **95 DE**
 - szárítás
- termék: 95-98% glükóz



Amilázok felhasználása



Amilázok felhasználása





Amilázok felhasználása

Izocukor

- glükóz-fruktóz elegy tömény vizes oldata
- élelmiszeriparban édesítőszerként
- nehéz kristályosodik,
- fűtött tartályokban szállítják (min. 30°C, alacsony hőmérsékleten a fruktóz krikristályosodik)
- maltószörp + izocukor → csökkenti az izocukor kristályosodási hajlamát
- erős nedvszívó képességű
- ⇒ megakadályozza a készítmény vízvesztését
- Mo.: Szabadegyháza, Hungrana Kft.

Európa legnagyobb kukoricafeldolgozója

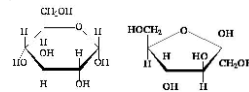
> 1 M t/év

(3.500 t/nap feldolgozási kapacitás)

Európa legnagyobb izocukor-kvótája

(220.000 t/év)

EU termelés 27%-a



Amilázok felhasználása

Keményítő savas / enzimes bontása (Keményítőszörpök)

- savas katalízissal (régében) → 28-55 DE
- elfolyósítás savval, elcukrosítás amiloglukozidázzal → további lebontás
- hőstabil amiláz felfedezése → még több lehetőség a termék összetételére
- enzimes, enzimes technológia (ma a fejlett világban kizárólag ezt alkalmazzák (folyósítás α-amilázzal, cukrosítás amiloglukozidázzal):
- porlasztva szárítható termékek (pl. kávékrémporba)
- lekvárokban magas cukor-tartalom
- mikrobák növekedését gátolja
- glükóz szirup kedvezőbb mint a sacharóz, mert kevésbé édes
- hagyományos felhasználások: keményítőkörökben
- később: italokban (sör) magas maltóz-tartalmú szirupok felhasználása



Amilázok felhasználása

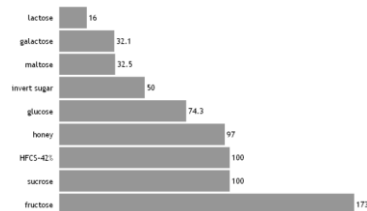
Textilipar

- a fonalat szövés előtt dextrinnel vagy keményítővel vonják be: ízezés
- a felületet simává teszik
- növelik a szilárdságot
- a kész textilből amilázzal eltávolítják: irtelenítés
- szelektív eltávolítás, a rostok nem sérülnek
- elmosás
- nedvesítés és a nem keményítő anyagok eltávolítása
- impregnálás az enzimmoldattal
- 65-70 / 75-80°C
- keményítőhidrolízis (már az impregnálásnál is)
- 2-16 óra reakcióidő, pH 6-7 (az enzim optimumán), 70-75 / 90-110°C
- utómosság: az enzim és a hidrolízis termékek eltávolítása
- szintetikus detergens + NaOH, 95-100°C, sav hozzáadás a lúg semlegesítésére
- hőtűrő baktericidális amiláz



Amilázok felhasználása

Relative sweetness of sugars and sweeteners



Amilázok felhasználása

Sütőipar

- az élesztő erjeszti a cukrokat
- alkohol és CO₂ keletkezik
- a tészta megkel
- az élesztő termel amilázokat, de hosszadalmas (hosszú idejű kelt tészták, savanyú kenyerek)
- amiláz hozzáadás → a keményítőszemcséknek lebontása kismolekulájú dextrinre
- az élesztő tovább tudja bontani → gyors
- csíráztatott árpa (maláta) vagy gombaeredetű α-amiláz
- megnöveli a tészta térfogatát, és javul a bízait textúrája, rugalmassága
- + öregedés késleltetése
- már csekély túladagolásuk ragadós, gumiszerű tésztát eredményez
- α-amiláz hatására keletkező elágazó DP 20-100 maltodextrin miatt
- elágazásbontó enzim, pl. pullulanáz adagolása



Amilázok felhasználása

Papírpar

- primer rostok feldolgozásakor (fából kinyert cellulóz)
- felületi kezelésére vagy ragasztóanyagként
- alacsony viszkozitású, nagy molekula tömegű keményítő-szarmazékokok, dextrin
- ennek előállítása: α-amilázzal
- szekunder rostok felhasználásakor (hulladékpapír)
- amilázos kezeléssel a rostok felülete megtisztítható
- az előző feldolgozás során alkalmazott keményítő alapú segédanyagoktól
- a rost-rost kapcsolat fokozódik
- erősebb papírokat lehet előállítani
- javulnak a nedvesedési tulajdonságok
- a rostosítás gyorsul