

# IPARI ENZIMEK



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

## IPARI ENZIMEK

### Történelem, mérföldkövek

- Ősrégi: borjúgyomor – tejalvasztó enzim, rennin
- maláta – keményítőtőbontó enzimek, amilázok
- 1836 Schwann: pepszin a gyomornedvből (triviális név)
- 1876 Kühne: enzim elnevezés (de még nem tudták pontosan, hogy mi az)
- 1890 TAKAMINE (USA) „takadiasztáz” preparátum *Asp. oryzae*, emésztés-segítő, proteáz + amiláz
- 1894 E. Fischer: sztereo-specifitás,  $\alpha$  és  $\beta$  glükózidázok
- 1913 Michaelis-Menten: enzimkinetika  $v_{\max}$ ,  $K_M$
- 1926 Sumner: kristályos enzim, ureáz kardbabból
- 1966 teljes térszerkezet, lizozim



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

## IPARI ENZIMEK

### Történelem, mérföldkövek

- 1969 Enzimek és sejtek immobilizálása
  - 1969 DL-Met reszolválása, Tanabe, J
  - 1973 6-amino-penicillánsav előállítása
  - 1974 xilóz izomeráz – High Fructose Corn Syrup
  - 1977 laktáz – low lactose milk
- 1975 Kliganov: enzimreakció szerves fázisban – lipáz
- 1999 Enzyme Data Bank: ~4000 emzim, [www.expasy.ch](http://www.expasy.ch)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

## ENZIMEK ALKALMAZÁSAI

Ipar: amilázok, proteázok, izomerázok, penicillin aciláz,  
konverziók (pl. az eddigi előadásokban felsoroltak)  
Piac: ~2000 MUSD/év

Analitika, diagnosztikumok: glükóz-oxidáz, alkohol dehidro-  
genáz, koleszterin oxidáz, ... stb

Medicina: proteázok, lipáz, aszparagináz, sztreptokináz, he-  
parináz, ... stb  
Piac: ~3000 MUSD/év

Kutatás/génmanipuláció: restrikciós endonukleázok, reverz  
transzkriptáz, DNS-ligáz, DNS polimeráz, ....

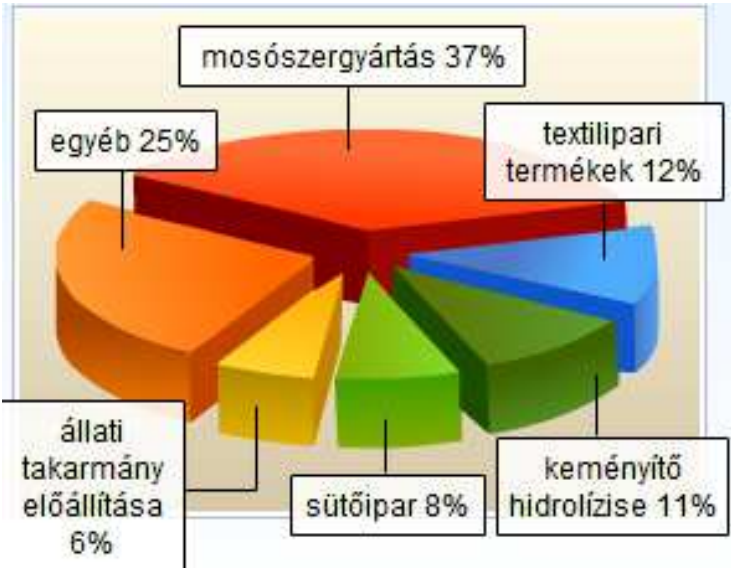
Mi itt az ipari enzimekkel foglalkozunk.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

## MEGOSZLÁS IPARÁGAK SZERINT



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

## IPARI ENZIMEK PIACA

Néhány multi uralja:

Novozymes (DK)  
DuPont/Danisco (USA)  
Roche (CH)

USA            40 %  
Európa        35 %  
Japán          24 %

| Enzyme               | Sales (% of total) |
|----------------------|--------------------|
| Bacillus proteázok   | 45                 |
| Glükamilázok         | 13                 |
| Bacillus amilázok    | 5                  |
| Glükóz izomerázok    | 6                  |
| Rennin (mikrobiális) | 10                 |
| Amilázok (penész)    | 4                  |
| Pektinázok           | 3                  |
| Proteázok (penész)   | 2                  |
| Egyéb                | 12                 |



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

## IPARI ENZIMEK FORRÁSAI

### Állati szövetek:

emésztőcsatorna emésztőenzimeit: tripszin, rennin  
májból: glutamát dehidrogenáz

### Növényi eredetű:

Papain, bromelin  
 $\alpha$  és  $\beta$ -amilázok: malátában

### Mikroorganizmusok:

Sok extracelluláris hidroláz  
Egyenértékű vagy jobb enzimet termelnek.

Ma a termelt enzimek 60%-a nem természetes, vagy

- génmanipulációval átvitték egy másik mikroorganizmusba
- protein engineering-gel megváltoztatták a szerkezetét.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

## IPARI ENZIMEK TERMELÉSE

Anyagcsere: egyetlen fehérjét kell termelni nagy mennyiségben.

Szabályozások: néhány konstitutív enzimtől eltekintve ezek induktív enzimek → indukálni kell → általában a szubsztráttal

|                       |                           |
|-----------------------|---------------------------|
| Amilázok              | - keményítővel            |
| Invertáz              | - szacharózzal            |
| $\beta$ -galaktozidáz | - laktózzal               |
| Glükóz-izomeráz       | - xilózzal (xilán, korpa) |

Katabolit represszió: a bőséges cukor (glükóz, fruktóz, stb) lefékezi az alternatív anyagcserét. Kivédése:

- más, nehezen hozzáférhető szénforrás (laktóz, glicerin, ..)
- glükóz adagolással limitben tartani
- szabályozási mutánsok keresése



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

## IPARI ENZIMEK TERMELÉSE

Tenyésztés általános jellemzői:

Felületi: még előfordul – tálca, forgó dob

Szubmerz: általános

Szakaszos: tisztán ritkán fordul elő

Rátáplálásos: a leggyakoribb

Folytonos: ahol csak lehet

Oxigén ellátás: nincs általános szabály

van, ahol az oxigén limit a jó (pl. glükóz izomeráz,...)

van, ahol nagy OUR szükséges (pl. proteáz, ...)

van ahol +8% CO<sub>2</sub> bevezetése előnyös



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

## IPARI ENZIMEK TERMELÉSE

Feldolgozás jellemző műveletei:

Extracelluláris – intracelluláris enzimek (sejtfeltárás)

(a cél az extracelluláris, pl. génmanipulációval egy szignálpeptidet kapcsolnak a fehérje elejére)

Kicsapás - kicsapás, oldószeres kicsapás (IEP)

Ultraszűrés – koncentráció, diaszűrés

Kromatográfia – ioncsere, adszorpció, néha affin- és gél-

Szárítás – fluid ágyas, porlasztva szárító, dobszárító

Granulálás – extruderrel, sima felületű gyöngyök, por nélkül

A két utolsó lépés drága, és árthat az enzimnek, ezért sokszor inkább oldatban hozzák forgalomba (stabilizálás)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

## IPARI ENZIMEK

Az ipari léptékben termelt enzimek szinte mind hidrolázok. Ezen belül a szubsztrátok szerint célszerű csoportosítani az egyes készítményeket.

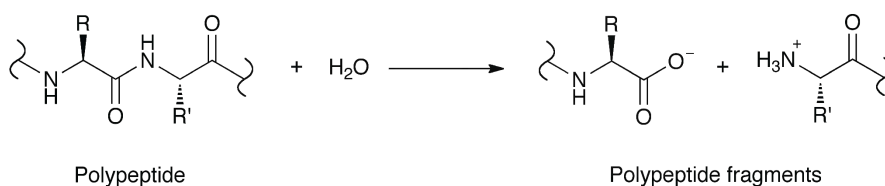
- Szénhidrátbontó enzimek (ezeket itt nem tárgyaljuk, mert párhuzamosan a keményítőipar kapcsán tananyag)
- Proteázok (pH optimumuk szerint lúgos, semleges és savas proteázok)
- Lipázok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

## Proteázok



A proteázok az ipari enzimek egyik legfontosabb csoportja (6200 t tiszta enzimfehérje/év)

Peptid kötések bont (létrehoz) (hidrolízis, szintézis)

Fehérje lebontás: élelmiszer, tejjavítás, mosóenzimek, infúzió, vérrögoldás (fibrin oldás)

Peptid szintézis: aszpartám előállítása



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

## Proteázok

Hidrolízis-ekvivalens (h):

(mól elbontott peptidkötés)/(kg fehérje (szubsztrát))

Hidrolízis fok (DH = degree of hydrolysis), bontási százalék:

$$DH = \frac{h}{h_{tot}} \cdot 100\%$$

(mól elbontott peptidkötés)/(mól összes peptidkötés)

$h_{tot}$  = 1 kg fehérjében található összes peptidkötés (mól).

Ez ~8 mól/kg, mert ha az aminosavak átlagos molekula-tömege 125 g/mol, akkor 1 kg fehérjében 8 mól aminosav = 8 mólnyi peptidkötés van.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

## Proteázok

Csoportosítás:

- Exo- és endoproteázok
- termelő szervezetek alapján (baktérium, gomba)
- pH optimum alapján (alkalikus, neutrális, savas)
- kulcs-aminosav szerint (Ser, Cys, Asp proteázok)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14



## Alkalikus proteázok

Termelő mikroorganizmusok:

*Streptomyces* nemzetség, *Aspergillus* nemzetség, *B. amyloliquefaciens* (szubtilizint termel – szerin-proteáz, reverzibilis a hidrolízis)

A **mosószer** proteázoknál feltétel a kompatibilitás:

- detergenssekkel
- lúgokkal
- kelátképzőkkel
- perborátokkal
- hőstabilitás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

## Alkalikus proteázok a bőriparban

Bőrkikészítés:

- Tartósítás
- **Áztatás** – proteázokkal leemésztik a nem-rost fehérjéket
- **Szőrtelenítés** – az enzimek nem a szőrt (keratint) bontják, hanem a szőrtüszőt
- Zsírtalanítás
- Pácolás
- Cserzés



BME



## Törzsek

### **Screening**

pH = 10-es fehérje agaron szélesztéssel

### **Törzsjavítás** (génmanipuláció, protein engineering)

Célja: az adott törzs több enzimet termeljen

- 1.) erős promótert teszünk az adott gén elé
- 2.) multikópiás plazmid: az adott gén több példányban legyen jelen.
- 3.) protein engineering: pl.:a stabilitás érdekében a 222 Met-t (amitől egy fehérje általában instabil) Ser-re cserélték - jobb aktivitást tapasztaltak, de a stabilitás nem lett jobb.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

## Fermentációs technológia

- Fed batch fermentáció
- Az  $\text{NH}_4$  és aminosav koncentrációt alacsonyan kell tartani
- intenzív  $\text{O}_2$  bevitel kell
- 48-72 h

1971-ben termék-krízis: a por állagú enzim a gyár levegőjében szállva a dolgozóknál erős allergiát okozott.

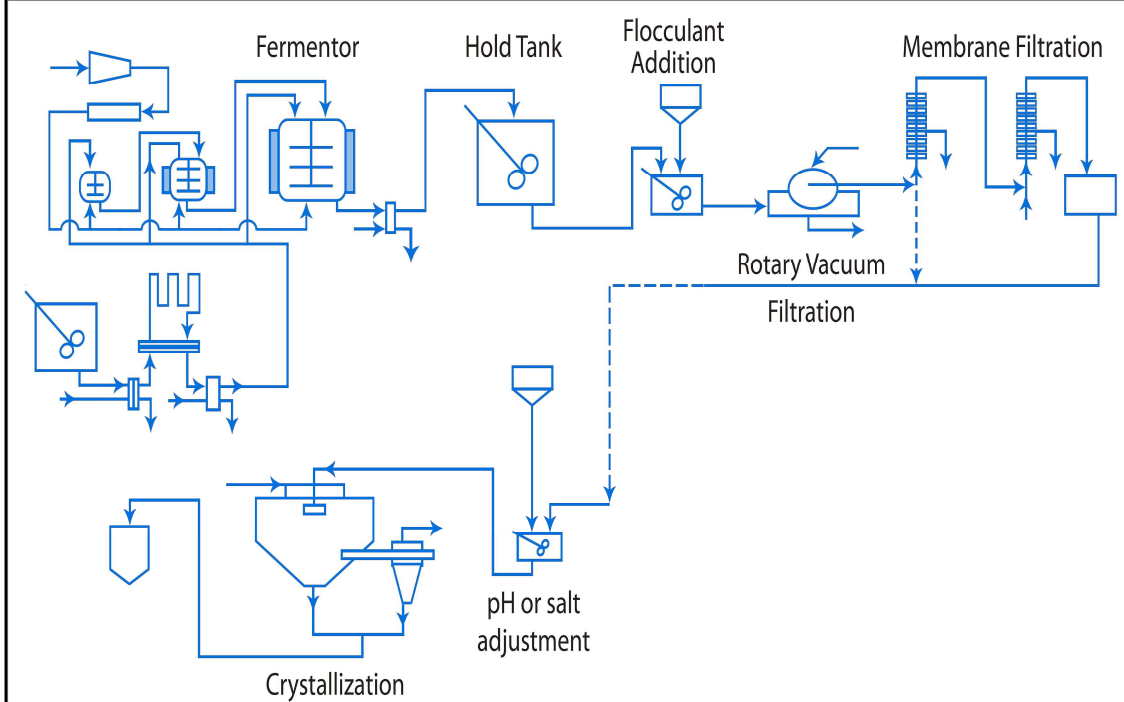
Megoldás: mikrokapszulázás, extruder granulálás – sima felületű szemcsék, nem porzik.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

## Egy alkális proteáz gyártási technológia



## Neutrális proteázok

Termelő mikroorganizmusok:

*Bacillus subtilis*, *S. griseus*, *Aspergillus orizae*

Érzékeny:

- hőre
- stabilizátorokra ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaCl}$ )
- alkalikus proteáz gyorsan lebontja

Felhasználás:

- Élelmiszeriparban
- Bőriparban



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

21

## Neutrális proteázok a sütőiparban

A sütőiparban: elbontják a siker fehérjét, ezzel

- Enye bontásnál a tészta lazább lesz, nagyobbak a buborékok
- Erősebb bontásnál a tészta nem rugalmas lesz, hanem kemény, roppanós (keksz, ropi)
- Több szabad amino csoport keletkezik – Maillard reakció – barna szín



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

22

## Neutrális proteázok húsiparban

A húsiparban: érlelés, fehérje rostok fokozatos lebontása (rágós → puha)

- Spontán, saját enzimekkel +4 fokon 2-3 hét
- Felgyorsításához proteázt injektálnak
- Hidegen ez is lassan megy, de a sütés/főzés során felgyorsul a folyamat



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

## Savas proteázok

### Asp és Glu proteázok

Pepszin típusú:  $pH_{opt} = 2-4$ , *Aspergillus*-ok termelik

Rennin típusúak:  $pH_{opt} = 5-7$ , (*Rhizo*)*mucor*-ok termelik

### Felhasználás:

- emésztést elősegítő enzimek (pepszin pótlása)
- szója hidrolízis, szója szósz előállítása
- tej alvasztása



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

24

## Oltóenzim, rennin, rennet, chymosin

### Savas proteáz

A sajtgyártás kulcsenzime, alvasztó enzim, Asp van az aktív centrumban (= aszparaginsav proteáz)

A 3-4 hetes borjú gyomrában található pre-pro-chymozin formában.

Két izoenzime van, egy aminosav (244) különbség:

- *chymozin A*: Asp (~40%, nagyobb az aktivitás)
- *chymozin B*: Gly (~60%)

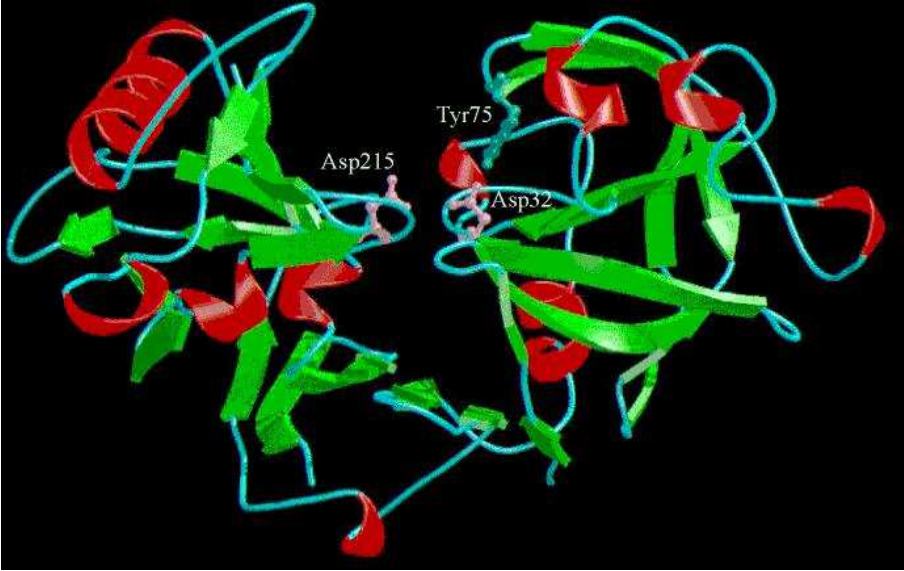
Genetikailag meghatározott, vagy A vagy B van termelődik.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

Chymosin-B

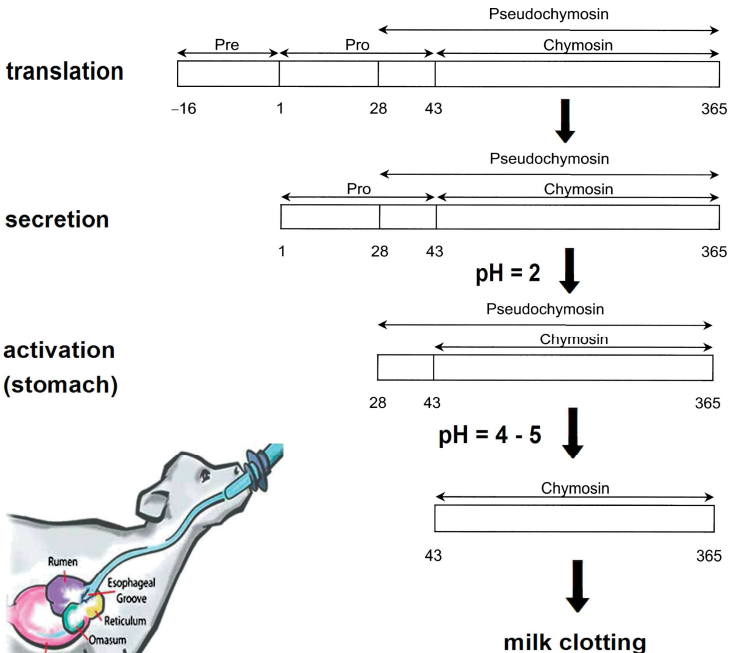




BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

Az aktív kimozin kialakulása





BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

## Kimozin

Megnövekedett igény, nincs elég borjú gyomor.

A hiányzó mennyiség pótlására:

1. állati (pl. csirke) pepszinek (Izrael, Csehország)
2. savas penész proteázok - *Rhizomucor miehei*, *R. pusillus*, *Cryphonectria (Endothia) parasitica*  
*E. parasitica* enzim: kereskedelmi készítmény, 1967, Supraren (USA, Franciaország)
  - pH = 4 - 5,5
  - hőstabilitása (viszonylag) nagy (itt hátrány)
  - extracelluláris enzim, kicsapódhat

Protein engineering-gel próbálták javítani.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

## Rekombináns kimozin

### 3. Rekombináns DNS technikával

#### *E. coli*

- 1980 elején az állati chymozin gént klónozták, RENNET<sup>R</sup> néven szabadalmaztatták és engedélyeztették
- az enzim oldhatatlan, zárványtest (inclusion body) formában van
- az összfehérje 15-20%-a rennin

*B. subtilis*: ártalmatlan mikroba, de ez is intracelluláris

*Saccharomyces cerevisiae*: gyenge termékképzés



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29

## Rekombináns kimozin

*Aspergillus niger var. awamori* törzzsel

Egyszerű inokulálás, spórákkal, hosszabb, egy hetes fermentáció.

Extracelluláris, könnyű feldolgozni, de: a komplex tápoldat miatt szennyezettebb.

Elég porlasztva szárítani, ha tiszta enzim kell, akkor oszlopokon tisztítják.

Christian Hansen, (CHY-MAX); Genencor (CHYMOGEN)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

30

## Rekombináns kimozin

*Kluyveromyces lactis*-sal: élelmiszeripari mikroba, tejsavóból izolált élesztő, a tejcukrot bontja (vö.: SCP gyártás),

A tejiparban használatos  $\beta$ -galaktozidázt ezzel termeli a Gist-Brocades.

Extracelluláris enzimtermelés: az élesztő  $\alpha$ -faktor leadert, mint szignál szekvenciát beépítették az N-terminálisra ezáltal a prochymosint extracellulárisan termeli. (1988 F, NL)

A törzs kevés más extracelluláris fehérjét termel, ezért könnyű a kimozint izolálni.

Prochymosin  $\rightarrow$  chymosin (MAXIREN<sup>®</sup>)

Jól ismert törzs, egyszerű a scale up.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

31



## MAXIREN<sup>R</sup>

A termék nem tartalmazhat élő sejtet, ezeket benzooesavval alacsony pH-án előlik, és szűrik (ultraszűrés után sterilszűrés → élelmiszeripari enzim)

Közben a prochymosin → chymosin átalakulás végbemegy

A terméket benzooesavval tartósítják.

Régebben plazmidon elhelyezkedő génről termeltették a prochymosint, azután a prochymosin gént beépítették a kromoszómába.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

32

## MAXIREN<sup>R</sup>

- tisztább, mint a borjú kimozin, nincs kísérő enzim (pepszin + egyéb)
- a kimozinnal kémiailag és biológiailag teljesen azonos
- termelése olcsó
- állandó tisztaságú, mentes állati szervmaradványoktól (pl. nincs BSE veszély)
- korlátlanul termelhető



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

33

## MAXIREN<sup>R</sup>

- 1988-tól ipari termelés Seclinben (F), az üzem ISO 9002 minősítéssel rendelkezik rekombináns élesztő tenyésztésére, kóser minősítés, vegetáriánus minősítés.
- engedélyeztetése nehéz volt, csak
- DNS stabilitás, patogenitás, mutagenitás, toxikusság, etetési teszt, allergia, sajtgyártási teszt, organoleptikus vizsgálatok után fogadták el.
- EC, EU előírásait be kell tartani (termelésre és termékre egyaránt)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

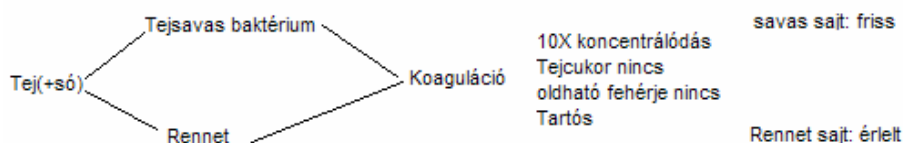
34

## A kimozin hatása

A sajtgyártás kulcslépése a tejfehérje megalvasztása.

A sajt az első termék, melynél enzimet és mikrobát (tejsavbaktériumot) is használnak évezredek óta.

Évente  $25 \cdot 10^6$  liter kimozint forgalmaznak, 140 M USD értékben, olcsó enzim.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

36

## A tej fehérjéi

| Fehérjék        | %  | Foszfát csoportok<br>molekulánként |                                            |
|-----------------|----|------------------------------------|--------------------------------------------|
| Kazein          |    |                                    |                                            |
| α s1-kazein     | 32 | 8                                  | Hőstabil P miatt, Ca<br>kötő micella képz. |
| α s2-kazein     | 8  | 10-13                              |                                            |
| β-kazein        | 32 | 5                                  |                                            |
| κ-kazein        | 8  | 1-2                                |                                            |
|                 | 80 |                                    |                                            |
| Savó fehérjék   |    |                                    |                                            |
| β-laktoglobulin | 12 | 0                                  | Ezek ultraszűréssel<br>eltávolíthatók      |
| β-laktalbumin   | 4  | 0                                  |                                            |
| Immunglobulin   | 3  | 0                                  |                                            |
| Szérum albumin  | 1  | 0                                  |                                            |
|                 | 20 |                                    |                                            |

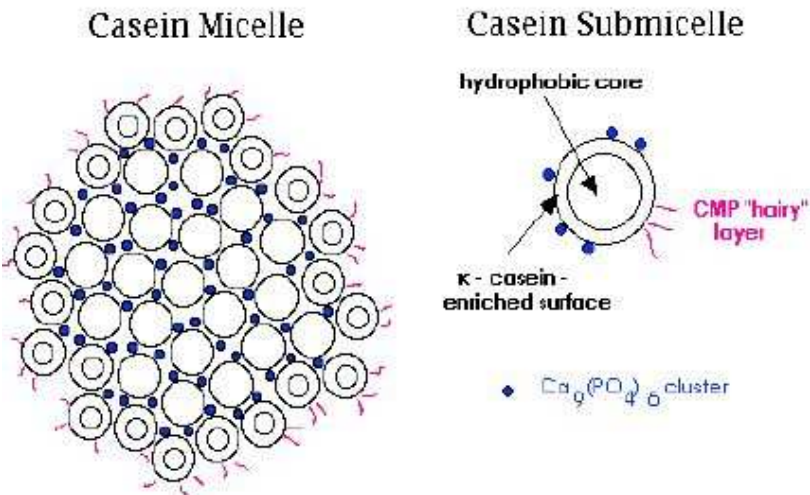


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

37

## Kazein micellák

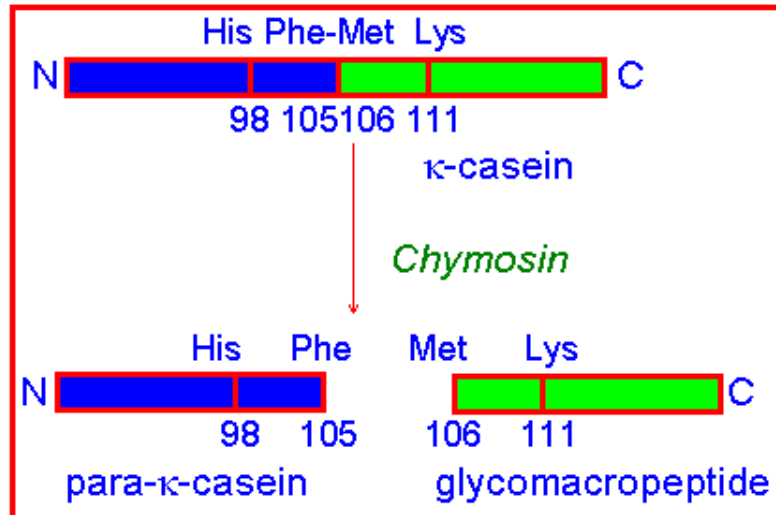
0,1% Ca jelenlétében a kazeinok micellát képeznek.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

38

## A kimozin hatása



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

39

## A kimozin hatása

1. *fázis*: A rennin fenilalanin-metionin között végez hasítást, kettévágja a  $\kappa$ -kazeint és ezzel destabilizálja a micella szerkezetét.
2. *fázis*: koaguláció, mely a magasabb hőmérsékleten és  $\text{Ca}^{2+}$  ionok hatására fokozódik

*Szétválasztás*: túró (fehérje: a 8%-ból 7, zsír, Ca, foszfát) + savó (tejcukor ~7,5% és ~1% fehérje, ásványi sók)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

40

## Sajtérlelés

Bizonyos sajtokat érlelnek (4 hét-2 év), az idővel a víztartalom csökken.

Közben kémiai, biokémiai, mikrobiológiai változások zajlanak le.

- ha tejcukor maradt a sajtban és ezen a mikrobák elszaporodnak → kellemetlen íz
- sok szabad zsírsav keserű (szappanszerű) ízt ad
- a fehérje bomlás folyamatos, aminosavak, biogén aminok, ammónia



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

41

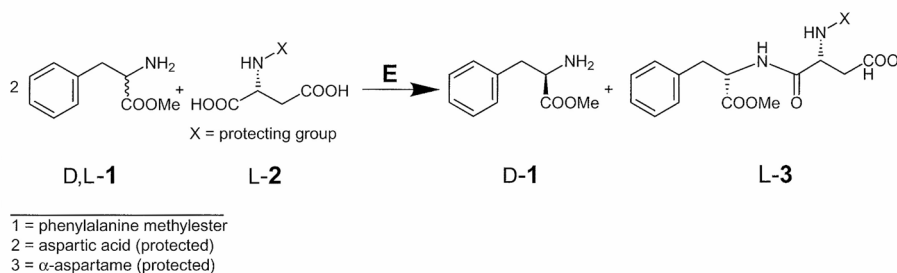
## Fémproteázok

termolizin Zn proteáz, az aszpartám gyártás enzime

Aszpartám: mesterséges édesítőszer.

Felhasználása élelmiszerekénél: italok, tej, jam, cukorkák...

A fenilalanin metil észterének és aszparaginsavnak az összekapcsolásával keletkezik:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

42

## Termolizin

Forrása: *Bacillus proteoliticus*

Mérete: 316 aminosav, 34.333 Da

Japán hőforrásból izolálták → jó a hőstabilitása

A kofaktora  $\text{Zn}^{2+}$  ion, a stabilitását 4  $\text{Ca}^{2+}$  biztosítja.

Optimális körülmények:  $\text{pH} = 7-8$   $T = 70^\circ\text{C}$

Izolált enzimként, oldott vagy immobilizált formában alkalmazzák.

Szakaszos eljárás, keverős reaktorban

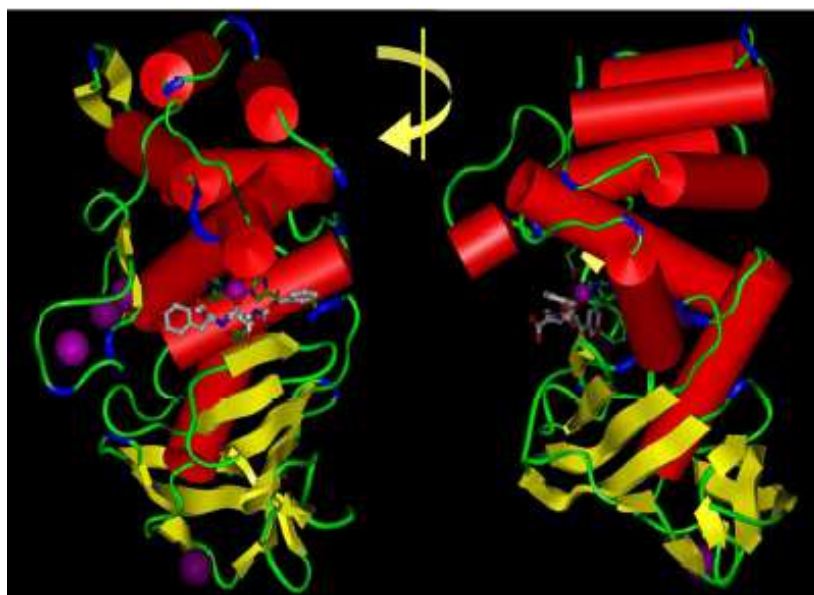
Enantiomer tisztaság: 99,99 %



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

43

## Termolizin

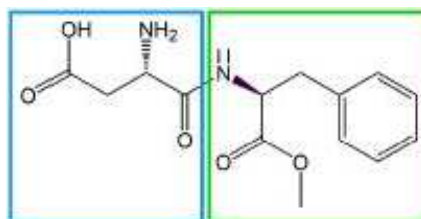


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

44

## Aszpartám gyártás

Ahhoz, hogy csak a fenilalanin aminocsoportja reagáljon az aszparaginsav  $\alpha$ -karboxil csoportjával, a rajtuk lévő egyéb funkciós csoportokat blokkolni kell, egyébként random di- és oligopeptidek képződnek.

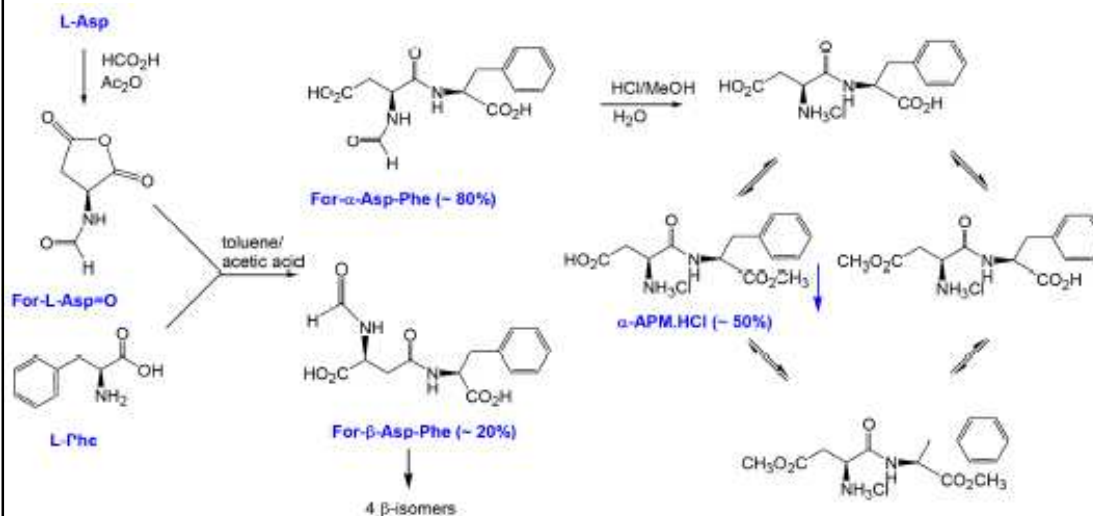


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

45

## Aszpartám gyártások

Kémiai eljárás (formilezés, NutraSweet, Ajinomoto):

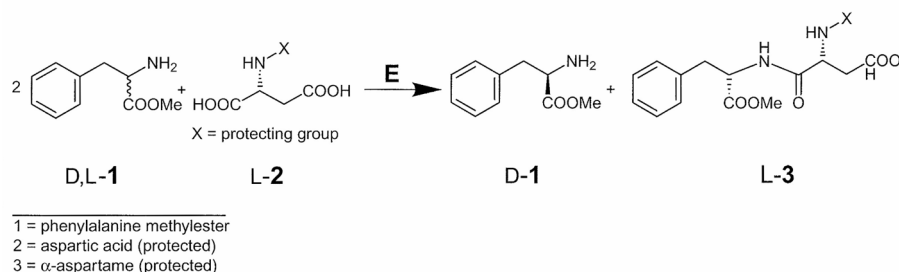


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

40



## Enzimes eljárás (HSM = Holland Sweeteners Company)



A Phe metilésztere a karbonsavat blokkolja, az Asp aminos-csoportját pedig egy benzoi-oxi-karbonil (BOC) csoporttal védik (ez végül hidrogénezéssel eltávolítható).



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

47

## Enzimes eljárás (HSM)

Az enzimes eljárás előnyei:

- Nem keletkezik β-aszpartám (ami keserű)
- Sztereoszelektív a reakció, csak L-aszpartám keletkezik, így alapanyagként DL-Phe (racém, olcsóbb) is használható.
- Nincs racemizáció a szintézis alatt
- A reakció vizes közegben, enyhe körülmények között végrehajtható.
- A keletkező védett aszpartám adduktot képez a feleslegben lévő D-PheOMe-rel, ami kicsapódik.
- A termék kicsapódása miatt az egyensúlyinál jobb konverziót lehet elérni (5% → 90%).



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

48



## Az enzimes aszpartám gyártás lépései

Szubsztrátok:

L-aszparaginsav + DL-fenilalanin-OMe (racém, olcsóbb)

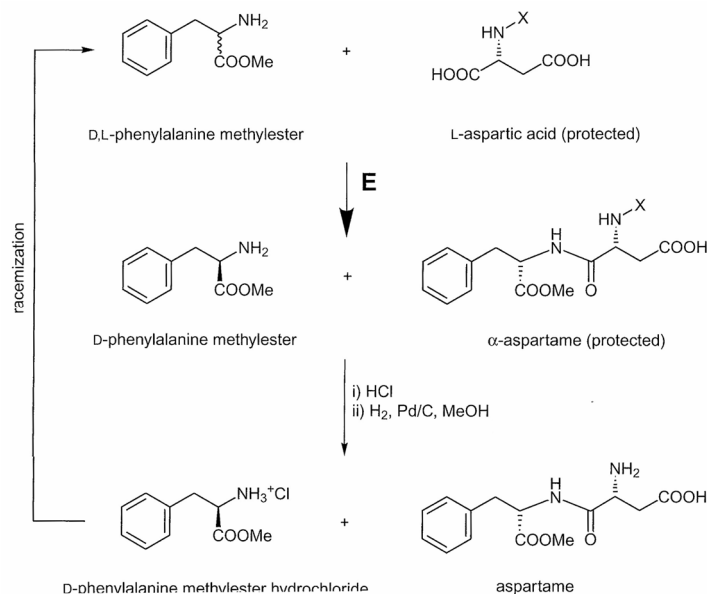
- A keletkező védett aszpartám adduktot képez a feleslegben lévő D-PheOMe-rel, ami kicsapódik.
- Szűrés
- Sósavval visszaoldják.
- A BOC csoportot lehidrogénezik, a D-PheOMe-t racemizálják és visszaviszik a folyamat elejére.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

49

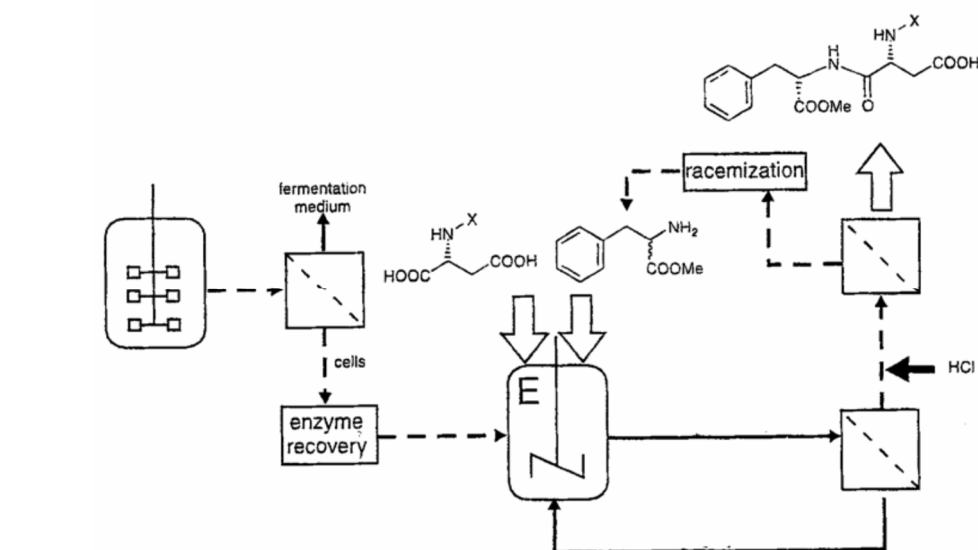
## Aszpartám gyártás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

50

## Az aszpartám gyártás folyamatábrája



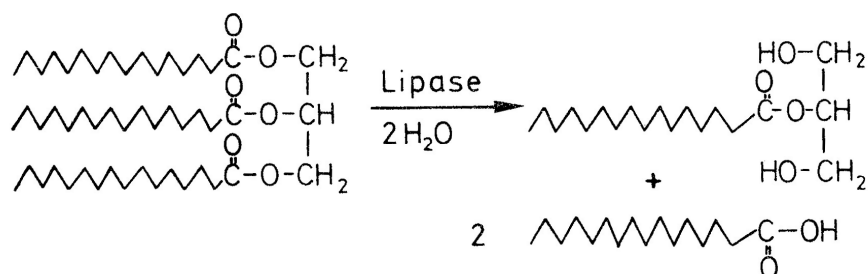
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

51

## Lipázok

Alapreakció: a zsírok észterkötéseit hidrolizálják, termékek: szabad zsírsavak, mono- és digliceridek, glicerín.

Egyensúlyi reakció, visszafelé is megy.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

52

## Lipázok

Vannak régióspecifikusak, amelyek csak a szélső zsírsavakat hidrolizálják, a középsőt nem, de vannak erre érzéketlenek is. A szénlánc hossza csak a sebességet befolyásolja.

Szerves oldószerekben is jól működnek, igen kis víztartalom mellett.

Sőt a hőállóságuk is jobb ebben a közegben → 70 °C.

Adszorpcióval könnyen immobilizálhatóak szerves és szervetlen hordozók felületén (hidrofil-hidrofób jelleg a használt oldószer szerint).



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

53

## Lipázok

Termelő mikroorganizmusok:

- *Aspergillus* nemzetség,
- *Mucor* nemzetség,
- *Rhizopus* nemzetség,
- *Candida* nemzetség

Általában sejthez kötött enzimek, de  $Mg^{2+}$  ionok hatására leválnak

Induktor: olaj, zsírok (szubsztrát),  
Represszor: glükóz (katabolit represszió), glicerín (termék inhibíció)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

54

## Lipázok felhasználása

1. Emésztést elősegíti (pankreász lipáz pótlása)
2. Sajtérlelésben ízjavító (tejzsír irányított bontása)
3. Szappan ipar, kíméletes elszappanosítás (*Candida* lipáz)
4. Átészterezés, észterképzés → dinamikus egyensúly → a karbonsav csoportok folyamatosan cserélődnek →

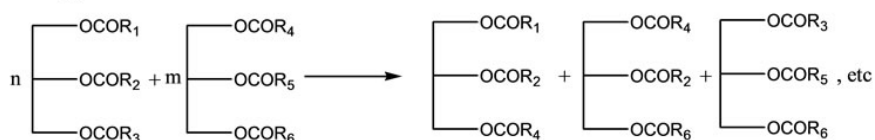


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

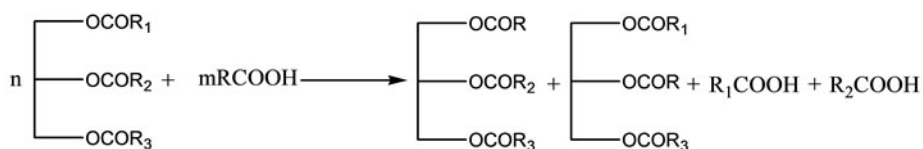
55

## Zsírok átészterezése

### 1. Trigliceridek között



### 2. Triglicerid és zsírsav között



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

56

## Kakaóvaj-pótló anyag előállítása

Pálmag-olaj átészterezése kakaóvajszerű zsiradékká  
(csokoládé gyártás)

| Triglyceride | Palm oil mid-fraction<br>(% dry weight) | Enzymically produced<br>fat (% dry weight) | Cocoa butter<br>(% dry weight) |
|--------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------|
| StStSt       | 5                                       | 3                                          | 1                              |
| POP          | 58                                      | 16                                         | 16                             |
| POSt         | 13                                      | 39                                         | 41                             |
| StOSt        | 2                                       | 28.5                                       | 27                             |
| StLnSt       | 9                                       | 8                                          | 8                              |
| StOO         | 4                                       | 4                                          | 6                              |
| Others       | 2                                       | 1.5                                        | 1                              |

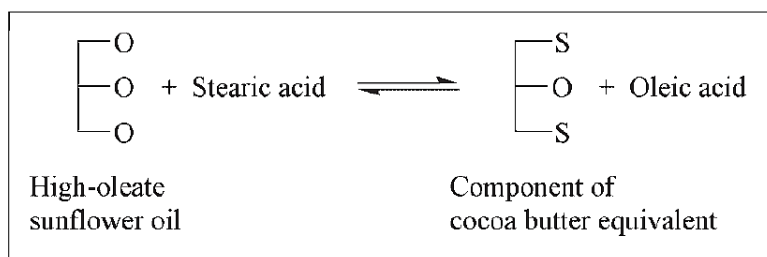


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

57

## Kakaóvaj-pótló anyag előállítása

Napraforgóolaj átészterezése kakaóvajszerű zsiradékká  
(csokoládé gyártás) *régió-szelektív* lipázokkal.



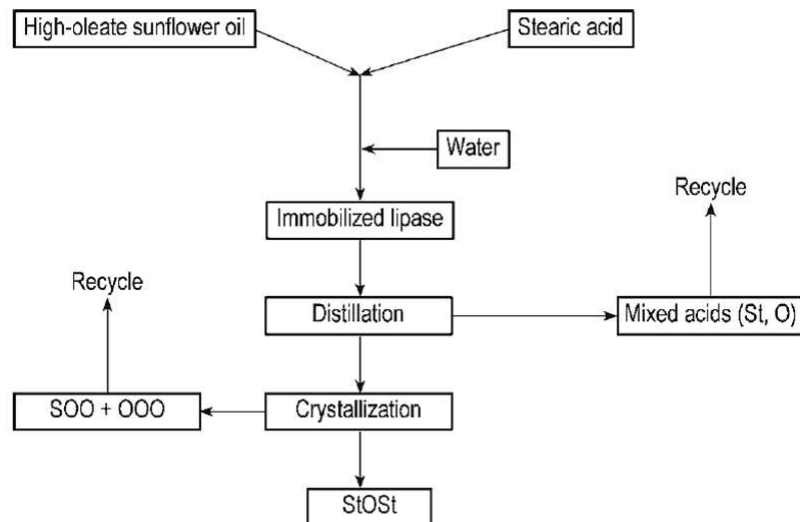
A termékből a szabad savakat eltávolítják molekuláris desztillációval, azután hűtéssel frakcionált kristályosítás: a sztearinsav észterek válnak ki először, az olajsavasok folyékonnyak maradnak.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

58

## Kakaóvaj-pótló anyag előállítása

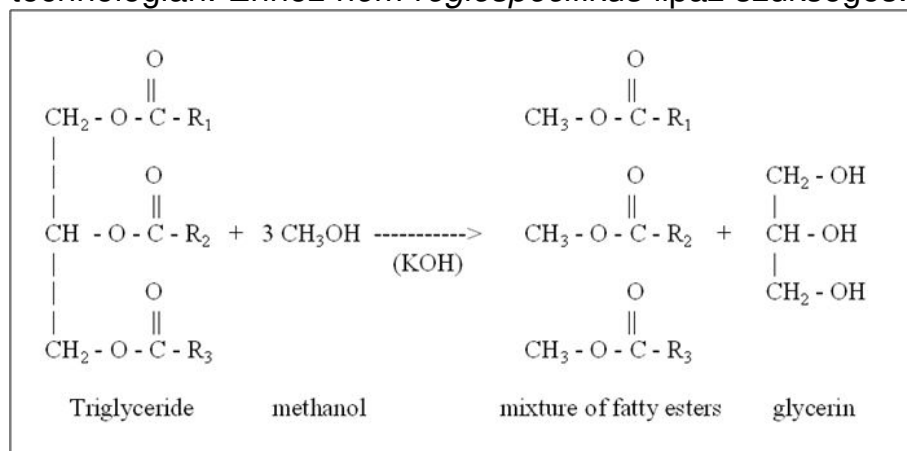


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

59

## Növényolaj átészterezése biodízellé

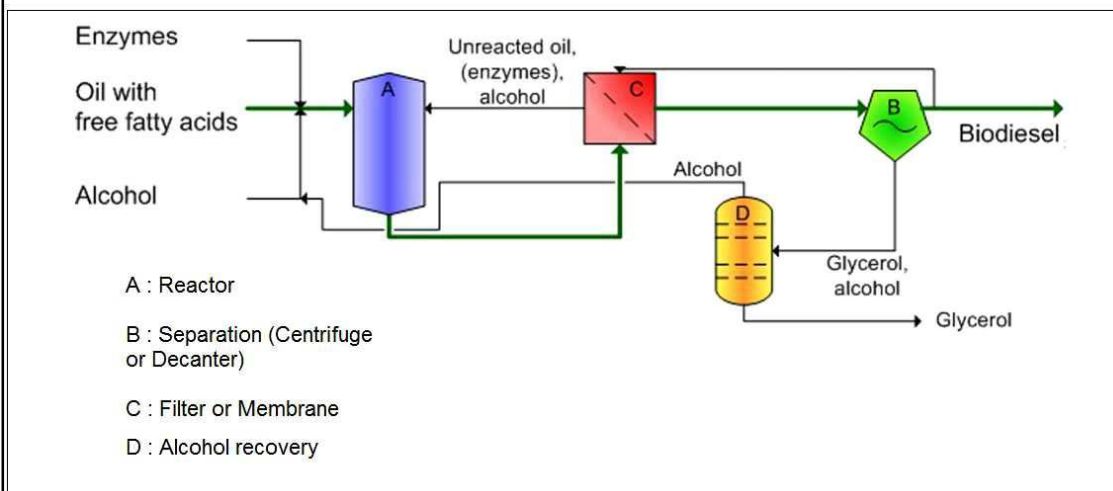
A biodízel gyártása során a növényi olajat átészterezik metilészterré. Ezt KOH-val végzik, de dolgoznak az enzimikus technológián. Ehhez *nem-régióspecifikus* lipáz szükséges.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

60

## Növényolaj átészterezése biodízzelé



Sok (~12%) glicerín keletkezik



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

61