


---



# Enzimológia

## Amiláz enzimek

---

**Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem**  
**Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék**



## Bevezetés

- Fontos szénhidrát forrás az emberi táplálkozásban
  - Magok, gyökerek, gumók
- Keményítő tartalmú gabonák termesztése korai időktől (későbbi keményítőipar legfontosabb nyersanyag forrásai)
  - Búza, Kukorica, Rozs, Árpa, Rizs( Ázsia)
- Megjelenik a keményítő maga: Ókor
  - Egyiptom: papír, hajpúder, ruhakeményítés
  - Kína: papír
- Keményítőgyárak megjelenése: Középkor
  - Hollandia, Németország: ruhakeményítés
- Keményítőipar berobbanása: 19. sz.
  - Módosított keményítők felfedezése, dextrinek, édesítők
- Ma
  - Sűrítő, ragasztó, keményítő, textilipar írezés, biodegradálható műanyagok, keményítő lebontási termékek (pl.:izocukor), keményítő átalakítási termékek (pl.:flokkulálószer), üzemanyag alkohol



## 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 csírázás során szén és energia forrásként szolgál

## Tárolása

- magokban, gyümölcsökben, gumókban, gyökértörzsekben
- félkristályos keményítő granulákként (kukorica: kb. 2-30  $\mu\text{m}$ , burgonya: 5-100  $\mu\text{m}$ )
- a kloroplasztban (levél) és az amiloplasztban (gumó, mag, gyökér)



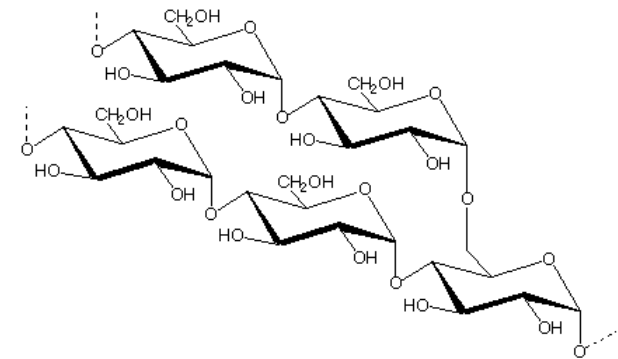
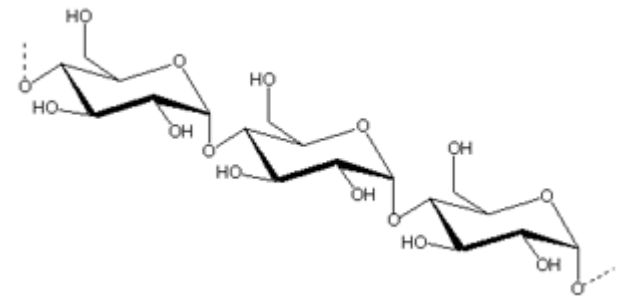
# Keményítő

## Jellemzői

- fehér
- íztelen
- szagtalan
- por

## Felépítése

- szénhidrát
- poliszacharid, monomere: glükóz
- 2 féle glükózpolimer: **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%





## Amilóz / $\alpha$ -amylose

- lineáris
- $\alpha$ -1,4
- 10-30%
- burgonya **DP 1000-6000**  
kukorica **DP 200-1200**
- redukáló és nem-redukáló vég
- gyengén vízoldható, micellákat képez  
→ helikális elrendeződés
- főleg az amilózra jellemző (retrogradáció)  
(öreg kenyér morzsásodása)
- jóddal → kék szín

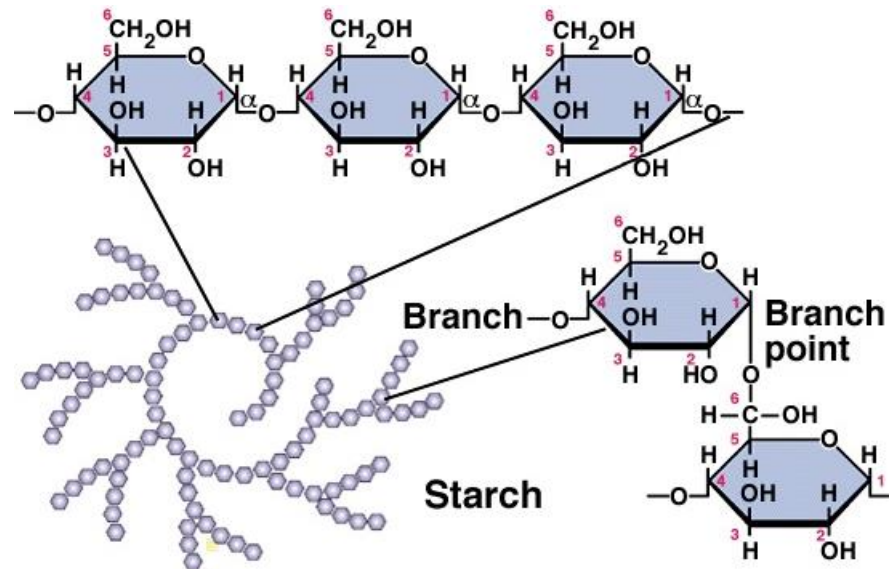


Amylose



## Amilopektin / amylopectin

- elágazó
- láncban  $\alpha$ -1,4
- elágazás csatlakozás  $\alpha$ -1,6
- 70-90%
- elágazás minden 12-30. cukormolekulán
- oldallánc: 15-45 monomer
- DP: akár **>10.000 monomer egység**
- vízben oldódik, micellákat képez
- jóddal  $\rightarrow$  vöröses lila szín





## Fajtái

- Nativ 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 gyárak, sűrítés: szószok, gélek
  - Biodegradálható fólia



## Fajtái

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

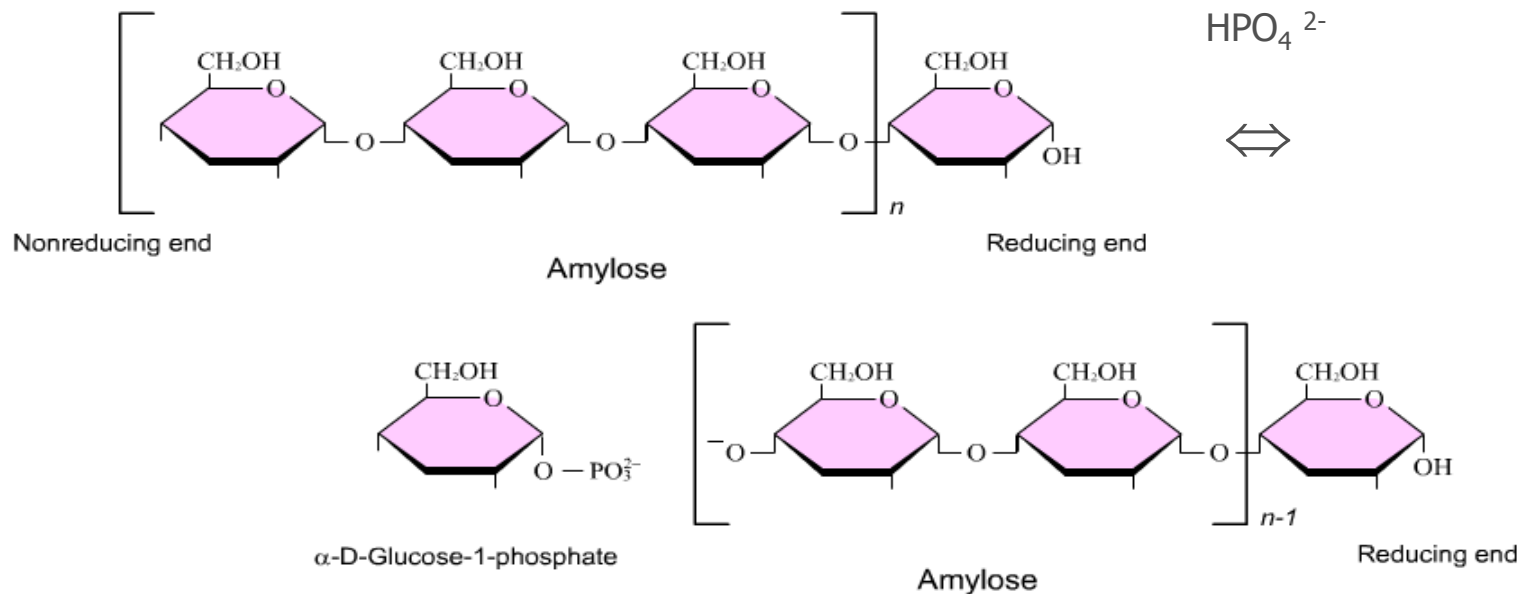




# Keményítő

## Lebontása a növény által

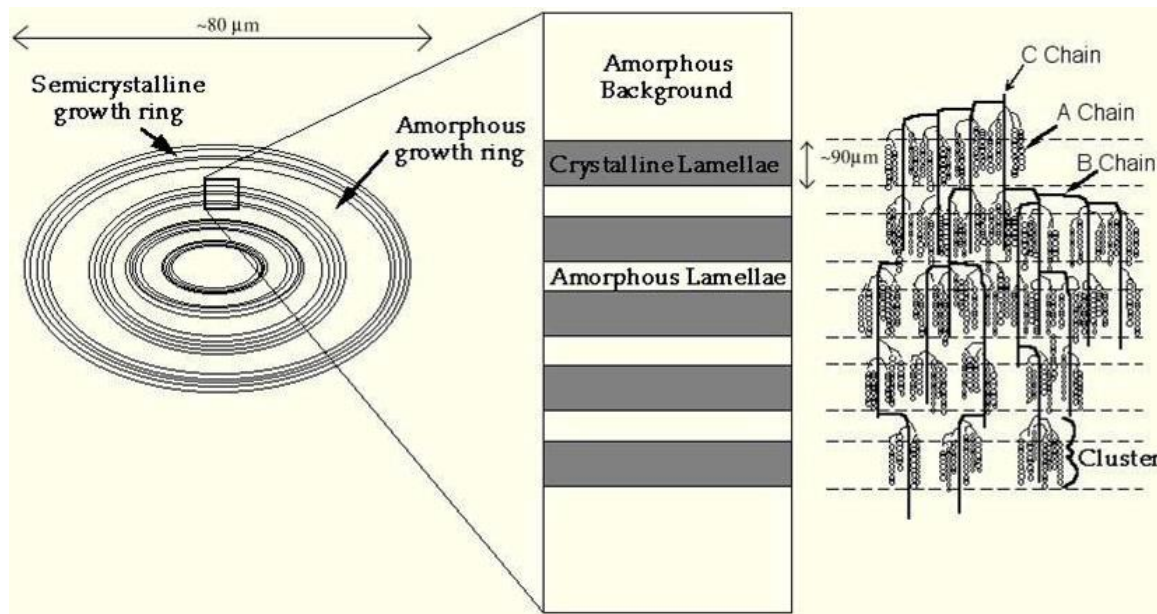
- lépcsőről-lépésre monomerré
- $\alpha$ -1,4 kötések a **keményítő-foszforiláz** által
- $\alpha$ -1,6 kötések az  **$\alpha$ -1,6-glükozidáz** által





## Lebontása az ember által

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





# 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:** Kémiaailag módosított keményítő
  - **RS5:** Keményítő-lipid interakció



# Keményítőbontás

---

- **Keményítő lebontása az iparban**
  - Korábban savas-savas hidrolízis
  - Később savas-enzimes hidrolízis
  - Ma: enzimes-enzimes hidrolízis



## Amilázok

- Alfa-amilázok
- Béta-amilázok
- Izoamilázok

- 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 kék szín eltűnik
- $\text{Ca}^{2+}$
- Előállítás
  - Fermentációval
    - Rátáplálásos
    - Katabolit represszió
    - Keményítő adagolás: C forrás és induktor
    - Extracelluláris termék
  - Kicsapás, Ultraszűrés, Kromatográfia, (Szárítás, Granulálás)

- 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



## klasszikus

- Termelik
  - Baktriumok: *B. polymyxa*, *B. cereus*
- Terméke:
  - ◆ Béta-maltóz + határdextrinek
  - 1,4 kötést bont
- Előállítás: régen malátából ma fermentációval

## glükoamiláz

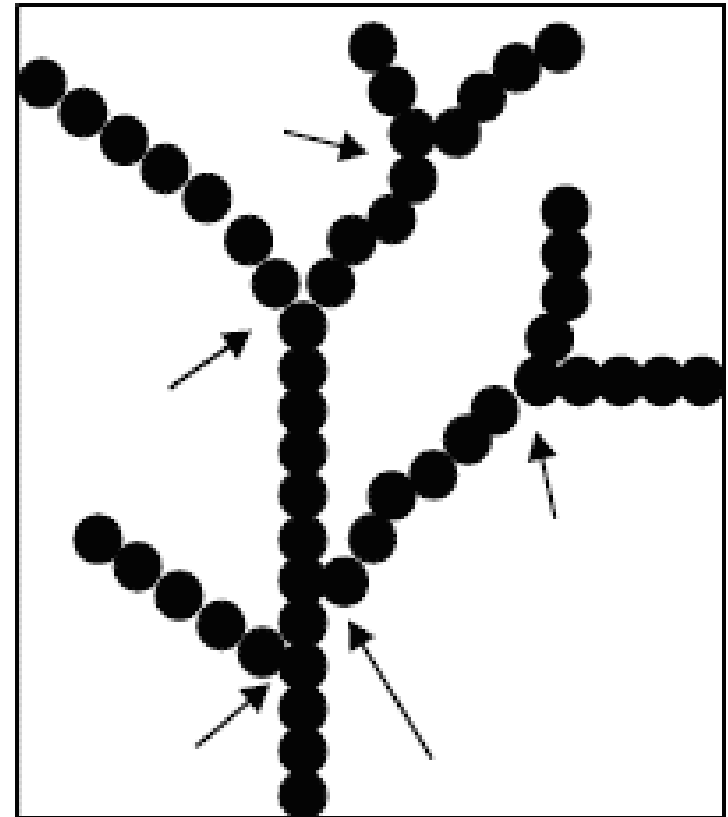
- Termelik:
  - Baktériumok: *A. niger*, *A. awamorii*
- Terméke: D-glükóz
  - Cukrosító enzim
  - 1,4 és 1,6 kötést is bont
- Előállítás: fermentációval





# Isoamilázok

- Elágazás bontó enzimek
- Endo mechanizmussal bontanak
- 1,6 kötést bont
- Lineáris maltodextrineket eredményez
- Pullulanáz
  - *Aerobacter aerogenes*
  - C forrás: pullulán (maltrióz egység)





# Ősbaktériumok által termelt amilázok

- Ősbaktériumok
  - Szokatlan környezetben is képesek megélni
    - Nagy hő
    - Nagy sókoncentráció
  - Termelnek amilázokat
    - Enzimek hőm. optima: ~90°C!
  - Nagy ipari érdeklődés
  - Enzimek génjeinek más mikrobákba történő klónozása

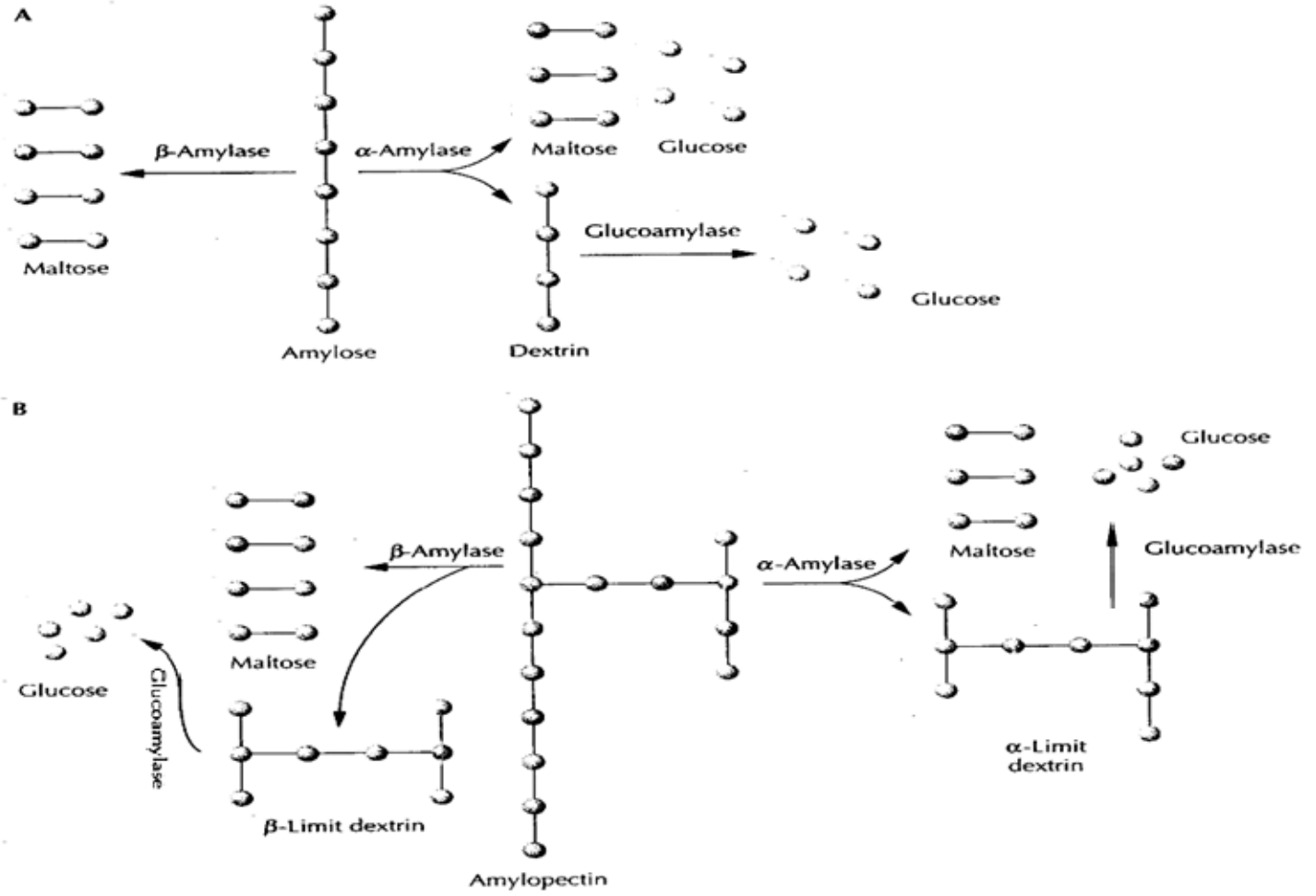
**Table 7.1 Thermophilic archaeobacterial amylolytic enzymes<sup>78</sup>**

Bacterium	Enzymes	Optimum temperature of activity, °C	Optimal pH of activity	Main products	Location of enzyme <sup>a</sup>
<i>Desulfurococcus mucosus</i>	α-amylase	100	5.5	-	-
	pullulanase	100	5.0	-	-
<i>Pyrococcus furiosus</i>	α-amylase	100	5.0	G4, G5, G6	I
	α-glucosidase	105–115	5.0–6.0	G1	E
<i>Pyrococcus woesei</i>	α-amylase	98	5.5	G2, G5	E
	α-glucosidase	100	5.0–5.5	G1	E
<i>Pyrococcus</i> sp. KOD1	α-amylase	100	5.5	G2, G3	E
<i>Thermococcus hydrothermalis</i>	α-amylase	75–85	5.0–5.5	G3, G4	E
	α-glucosidase	110	6.0	G1	I
	pullulanase	100		α-(1→6) debranching	I
<i>Thermococcus litoralis</i>	isoamylase	125	5.0–5.5	α-(1→6) debranching	E
<i>Thermococcus profundus</i>	α-amylase	80	5.5–6.0	G2, G3	E
<i>Thermococcus zilligii</i>	α-glucosidase	75	7.0	G1	E
	pullulanase	80–95	5.0–5.5	α-1→6 debranching	E

<sup>a</sup>E = extracellular; I = intracellular



# Amilázok





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

## Az $\alpha$ -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, fotometriásan 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 **viszkozitásának** változása (**kalibráció kell**)
- **mesterséges szubsztrát** hidrolízise
  - kromofór csoport felszabadulása (**Phadebas tableta, kék szín 620 nm**) gyári kalibráció
  - fotometriásan mérhető



## Dextróz egyenérték

- a keményítő **hidrolízis mértéke**
  - **elbontott glikozidkötések száma / kezdeti összes [%]**
  - **redukáló cukor** glükózban kifejezve / teljes szénhidrát mennyiség [%]
  - a **száranyag %-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



## Élelmiszeripari-felhasználás

- élelmiszer adalékanyag
  - sűrítő, stabilizáló (pudingok, szószok, 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 (high fructose syrup) (glükózból glükóz-izomerázzal, ioncserés fruktóz elválasztás, majd visszakeverés)
  - cukoralkoholok (cukrok redukálásával v. fermentációval előállított édesítők)  
általában nem, vagy kevésbé emelik a vércukrot, alacsony kalória-tartalmúak, nem okoznak fogszuvasodást
  - Etanol



# Amilázok felhasználása

---

## Ipari felhasználás

### kukorica keményítő bontása

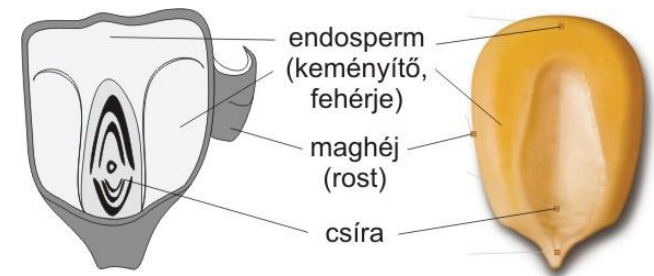
- **glükóz** eá.  $\alpha$ -amilázzal, pullulanázzal, amiloglikozidázzal
- **izocukor** eá. (fruktóz 42%) glükózból, immobilizált glükóz-izomerázzal
- **HFS** eá. (fruktóz 55% izocukorból, ioncserével elválasztott fruktóz visszakeverésével)
- **keményítőszörp** eá. Keményítőből ( $\alpha$ -amilázzal, amiloglikozidázzal), glükóz + dextrinek, DE kb. 40%; édesipar: cukorkák eá.)
- **maltóz szirup** eá.  $\beta$ -amilázzal



# Amilázok felhasználása

## Glükóz előállítása (Isd. Mezőgazd.Iparok)

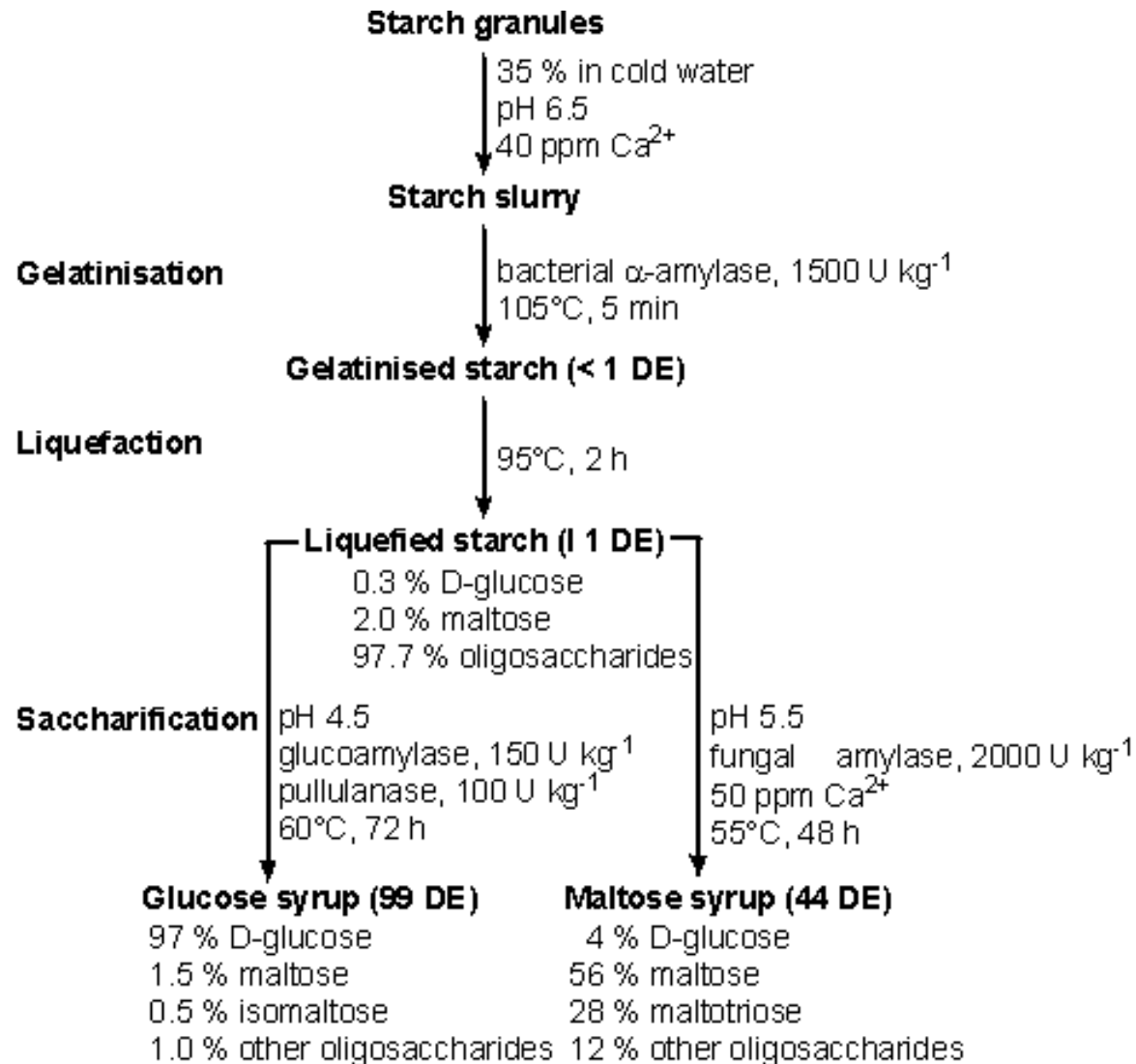
- kukorica keményítő kinyerése
  - a kukoricaszemből eltávolítják a fehérjetartalmú csírat  
→ állati takarmány/csíraolaj kinyerése
  - a csíratlanított szemeket megőrlik
  - a keményítőt elkülönítik, tisztítják
- előhidrolízis, **elfolyósítás**
  - 105-110°C, 5 perc (gélesítés) → <1 DE
  - 30-40% sz.a. szuszpenzióhoz  **$\alpha$ -amiláz** (*B. licheniformis*) (+ 20 ppm Ca<sup>2+</sup>)
  - **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**
  - szűrés
- termék: 95-98% glükóz







# Amilázok felhasználása





# Amilázok felhasználása

## Izocukor előállítás

- kukorica keményítőből eá. glükózoldat tisztítása, ioncseréje ( $\text{Ca}^{++}$  eltávolítás), sterilizálása
- a glükóz-oldatot (+ $\text{MgSO}_4$  + Na-hidrogénszulfid) **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 búzakorpán)  
→ glükóz-izomeráz (xilóz izomeráz) indukciója
  - egyensúlyi reakció → a glükóz egy része fruktózzá izomerizálódik  
elméletileg max. 50% fruktóz  
rövidebb reakcióidő → kevesebb melléktermék, de így csak **42% fruktóz**
- oldatot tisztítása  
töményítése bepárlással **71,5%-ra, hogy az 1 l izocukor édessége 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

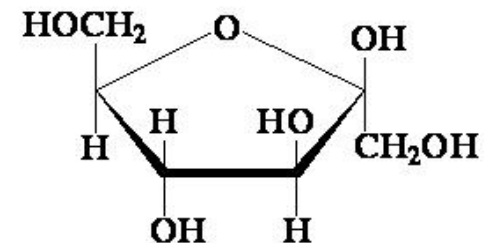
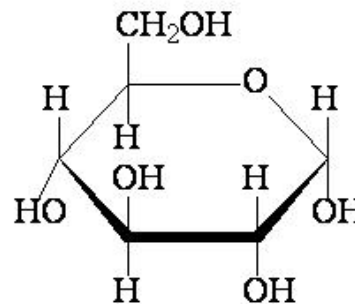
## Izocukor

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

**Európa legnagyobb kukoricafeldolgozója**

**>1 M t/év**

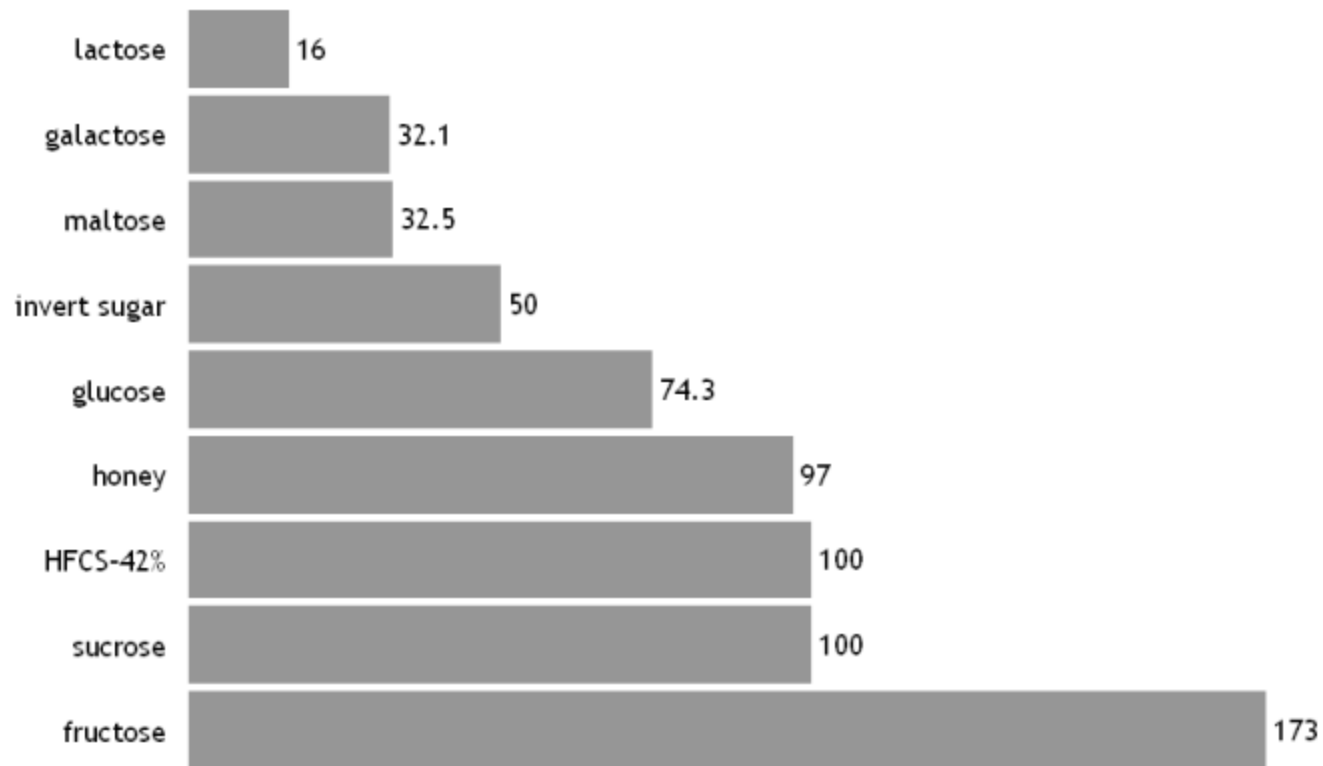
(3.500 t/nap feldolgozási kapacitás)





# Amilázok felhasználása

Relative sweetness of sugars and sweeteners

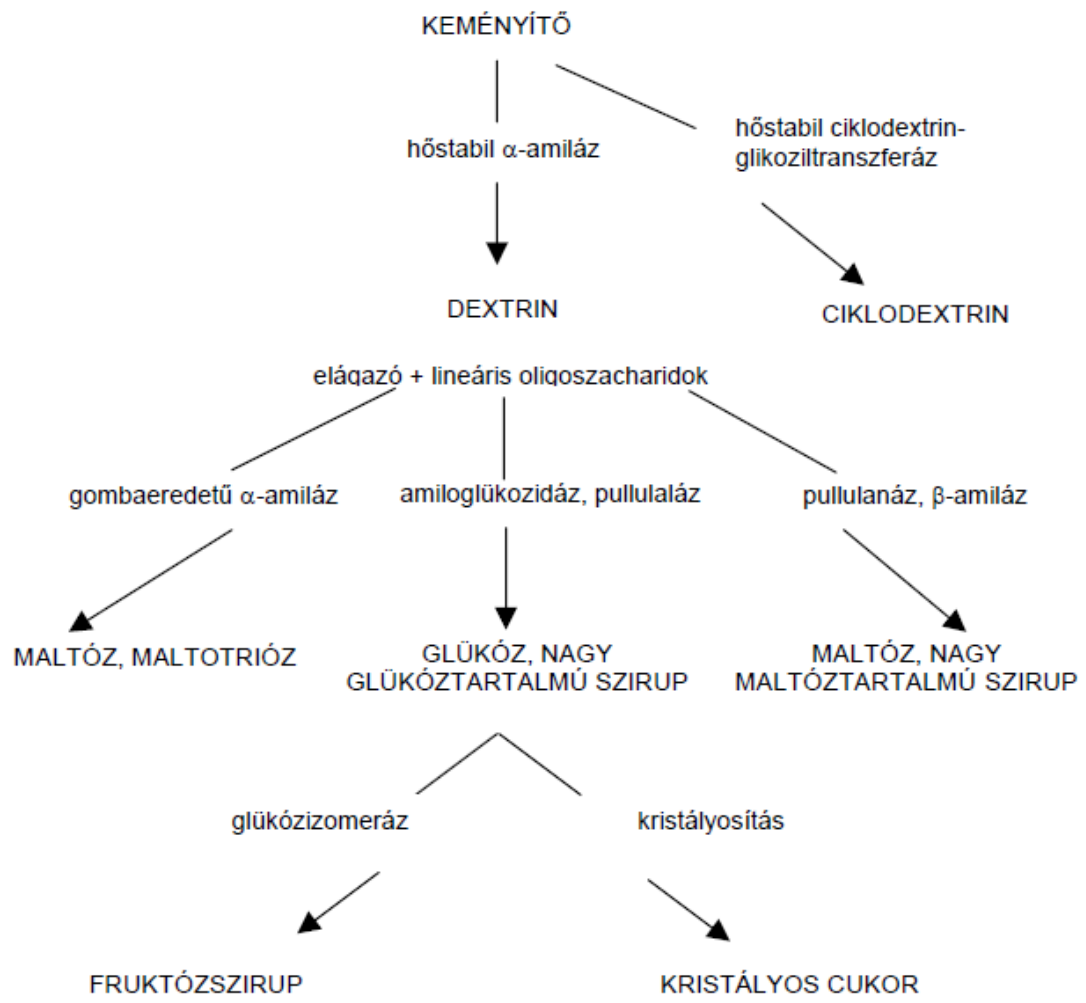




# Amilázok felhasználása

cseppfolyósítás

elcukrosítás





# Amilázok felhasználása

## Keményítőszörpök

- Keményítő savas / enzimes bontása
- savas katalízissel (régebben) → 28-55 DE
- elfolyósítás savval, elcukrosítás amiloglükózidázzal → további lebontás
- hőstabil amiláz felfedezése → még több lehetőség a termék összetételére
- enzimes, enzimes technológia (ma a fejlett világban kizárólag ezt alkalmazzák (folyósítás  $\alpha$ -amilázzal, cukrosítás amiloglükózidázzal):
  - porlasztva szárítható termékek (pl. kávékrémporba)
- lekvárokból magas cukor-tartalom → mikrobák növekedését gátolja
- glükóz szirup kedvezőbb mint a szacharóz, mert kevésbé édes
- hagyományos felhasználásuk: keménycukorkákban
- később: italokban (sör) magas maltóz-tartalmú szirupok felhasználása





## Ipari felhasználás

- **papíripar**
  - felületi enyvezés → szilárdság, felület simasága, fehérség, nyomtathatóság
  - hullámpapír ragasztó enyv
  - könyvkötés, tapéta, papírzsák, boríték, üveg-cimke ragasztás
- **textilipar**
  - pamutszálak bevonása szövés előtt (írezés)
  - ruha keményítés
  - sima, ropogó élek, szennyeződések könnyebb eltávolítása
- **Kozmetikai ipar**
  - hintőpor (talkum helyett)
- **Bioműanyagok**
- **Bioetanol**



# Amilázok felhasználása

---

## Ipari felhasználás

- **sütőipar**

cukrok → élesztő C-forrása →  $\text{CO}_2$

amiláz → a pékáruk térfogata ↑, állaga javul

- **sörgyártás:** cukor- és alkohol-tartalom beállítása

- **gyümölcslevek:** keményítő-tartalmú gyümölcsök (pl. éretlenül szedett alma)

- **takarmányok** emészthetőségének javítására





# Amilázok felhasználása

## Sütőipar

- az élesztő erjeszti a cukrokat  
→ alkohol és CO<sub>2</sub> keletkezik  
→ a tészta megkel
- az **élesztő termel amilázokat**, de hosszadalmas (hosszú idejű kelt tészták, savanyú kenyerek)
- amiláz hozzáadás → a keményítőszemcséinek lebontása kismolekulájú dextrinekre  
→ az élesztő tovább tudja bontani ⇒ gyors
- **csíráztatott árpa (maláta) vagy gombaeredetű α-amiláz**  
→ megnő a tészta térfogata, és javul a bélzet textúrája, rugalmassága  
+ öregedés késleltetése
- már **csékély túladagolásuk ragadós, gumiszerű tésztát eredményez**
  - α-amiláz hatására keletkező elágazó DP 20-100 maltodextrin miatt
  - elágazásbontó enzim, pl. pullulanáz adagolása



# Amilázok felhasználása

## Textilipar

- a **fonalat szövés előtt** dextrinnel vagy **keményítővel vonják be: írezés**
  - a felületet simává teszik
  - növelik a szilárdságot
- a kész textíliákból amilázzal eltávolítják: **írtelenítés**
  - szelektív eltávolítás, a rostok nem sérülnek
    - előmosás
      - ♦ nedvesítés és a nem keményítő anyagok eltávolítása
    - impregnálás az enzimoldattal
      - ♦ 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
    - utómosás: az enzim és a hidrolízis termékek eltávolítása
      - ♦ szintetikus detergens + NaOH, 95-100°C, sav hozzáadás a lúg semlegesítésére
- hőtűrő bakteriális amiláz



# Amilázok felhasználása

## Papíripar

- **primer rostok feldolgozásokor** (fából kinyert cellulóz)
  - **felületi kezelésére** vagy **ragasztóanyagként** alacsony viszkozitású, nagy molekula tömegű keményítő-származékokok, dextrin
  - ennek előállítása:  $\alpha$ -amilázzal
- **szekunder rostok felhasználásokor** (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**