(11) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** 142443

DANMARK

(51) Int. Cl.[3] A 23 L 1/212

(21) Ansøgning nr. 4091/69 (22) Indleveret den 29. jul. 1969

(24) Løbedag 29. jul. 1969

(44) Ansøgningen fremlagt og fremlæggelsesskriftet offentliggjort den 3. nov. 1980

DIREKTORATET FOR PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

(30) Prioritet begæret fra den 29. okt. 1968, 1805808, DE

(71) ROEHM GMBH, Kirschenallee, 6100 Darmstadt, DE.

(72) Opfinder: Ekkehard Grampp, Am Pfarrweiher 22, Ober-Ramstadt/Darmstadt, DE: Josef Krebs, Waldstrasse 44, Traisa ueb. Darmstadt, DE: Helmut Uhlig, Ringstrasse 26 a, Rossdorf ueb. Darmstadt, DE.

(74) Fuldmægtig under sagens behandling:
Firmaet Chas. Hude.

(54) Anvendelse af et kulturfiltrat af skimmelsvampe indeholdende pektinglykosidaser og protopektinaser til oplukning af frugt- og grønsagskød.

Det er kendt at lade pektolytiske enzymer indvirke på findelte frugter eller grønsager. Ved denne behandling bliver det af pektinstoffer, især protopektiner, opbyggede intercellulære bindemateriale opløst og frugt- eller grønsagskødet sønderdelt til enkeltceller. Samtidigt bliver det højt forestrede opløselige pektin nedbrudt til polymetylgalakturonase i en sådan grad, at viskositeten af den vandige fase ikke længere er tilstrækkelig til at frembringe et frugt- eller grønsagskød, som ved længere lagring ikke udskiller bundfald. Pektinesterasemængden i de sædvanlige pektinasepræparater bevirker endvidere, at der opstår en uønsket høj mængde metanol.

Disse ulemper undgås ifølge et arbejde af D. Šulc og D. Cirik (i "Flüssiges Obst" hæfte 6/1968) ved, at man lader et enzympræparat, der overvejende består af pektinglykosidaser (polygalakturonaser) og protopektinaser indvirke på de findelte frugter eller grønsager efter kort opvarmning. Derved bliver det intercellulære bindematerials uopløselige pektin opløst, uden at det højt forestrede opløselige pektin depolymeriserer eller afestres.

Det til dette formål egnede enzympræparat måtte hidtil på en i litteraturen endnu ikke beskrevet omstændelig måde beriges ud fra sædvanlige pektinasepræparater og skilles fra enzymerne, som spalter og afestrer det opløselige højt forestrede pektin.

Fra tysk patent nr. 754.713 og amerikansk patent nr. 1.932.833 er det kendt med henblik på saftklaring af en på sædvanlig måde fremstillet frugtsaft at tilsætte et enzym-råkompleks, der som følge af et indhold af polymetylgalakturonase og pektinesterase kan nedbryde de i saften opløste pektinstoffer. Efter ødelæggelse af pektinstofferne er saften let filtrerbar. I modsætning hertil består den foreliggende opfindelses opgave i at oplukke sønderdelt frugt- og grønsagskød med det formål at fremstille en ikke udfældende frugt- eller grønsagsmarv. Til dette formål er tilstedeværelse af enzymer af typen polymetylgalakturonase og/eller pektinesterase absolut skadelig, for i de produkter, der fremstilles ifølge opfindelsen, må det opløste pektin bevares.

Det har nu vist sig, at et mindre antal skimmelsvampe under sædvanlige kulturbetingelser frembringer de søgte pektinglykosidaser (polygalakturonaser) og protopektinaser i en sådan renhed og i det væsentlige fri for polymetylgalakturonaser og pektinesteraser, at de af kulturfiltraterne fra disse skimmelsvampe udvundne enzymer umiddelbart kan anvendes til oplukning af findelt grønsags- eller frugtkød. Blandt de egnede skimmelsvampestammer skal særligt fremhæves Aspergillus alleaceus. Egnede er endvidere: Aspergillus parasiticus, Rhizopus javanicus, Ceratocystis paradoxa, Penicillium roqueforti og Penicillium stoloniferum.

Det er overraskende for fagmanden, at disse skimmelsvampe i modsætning til de kendte pektinasedannere hverken frembringer polymetylgalakturonase, som spalter opløseligt højt forestret pektin, eller pektinestera-

ser, som omdanner det højt forestrede pektin til lavt forestrede pektiner eller pektinsyre og derved gør dem tilgængelige for en spaltning med polygalakturonaser. Enzymerne fra disse skimmelsvampe kan ikke sammenlignes med sædvanlige pektinaser og er f.eks. ikke egnede til klaring af æblesaft.

De under anvendelse af de i nærværende ansøgning beskrevne enzympræparater fremstillede frugt- og grønsagskødkoncentrater adskiller sig ved fortynding med vand ikke i serum og pulp og udmærker sig ved et lavt metanolindhold.

Anvendelsen af de i nærværende ansøgning beskrevne enzympræparater til oplukning af sønderdelt grønsags- eller frugtkød efter fremgangsmåden ifølge DAS 1.276.989 fører til et endnu bedre resultat end anvendelsen af de i nævnte fremlæggelsesskrift beskrevne enzympræparater. Den foretrukne arbejdsmåde ved oplukningen fremgår af følgende eksempler. Den i eksemplerne anvendte pektinglykosidase har en aktivitet på 250 PGU pr. mg. Aktiviteten 1 PGU svarer til den enzymmængde, som sænker viskositeten af 1 mg pektin i en standard pektinopløsning (æblepektin POMOSIN) på 40 minutter ved 30°C og en pH-værdi på 4 Δ $1/\eta_{sp}$ = 0,05.

Eksempel 1.

Fremstilling af karottehydrolysat.

Karotterne sønderdeles groft (10 - 20 mm lange, 3 mm tykke), og til 2 vægtdele karotter sættes 1 rumfangsdel vand. Med citronsyre indstilles på en pH-værdi af 4,5 - 5,5, og der tilsættes 1 °/oo pektinglykosidase fra kulturer af Aspergillus alleaceus. Der forgæres enten 16-20 timer ved stuetemperatur eller 1 - 2 timer ved 45 - 50°C under stadig omrøring. Derpå bliver der enten ved hjælp af en vibrationssigte, en dekanteringscentrifuge eller en passermaskine forarbejdet, aftappet og pasteuriseret.

Udbyttet forhøjes fra 60 (uden enzym) til 71,6%. Produktet har et væsentligt lavere metanolindhold end et karottehydrolysat fremstillet med sædvanlige pektinasepræparater:

med pektinglykosidase	435 mg metanol pr. kg
med sædvanlig pektinase	795 mg metanol pr. kg.

Eksempel 2.

Fremstilling af sellerihydrolysat.

500 g selleri sønderdeles, opvarmes til 85°C med 100 ml postevand, afkøles derpå til 50°C, hvorefter der tilsættes 1 °/oo pektinglykosidase fra kulturer af Aspergillus alleaceus (opløst i 10 ml vand). Der forgæres i 2 timer ved den naturlige pH-værdi på 5,6 og ved 45 - 50°C under stadig langsom omrøring. I løbet af 30 minutter indtræder der henfald af cellestrukturen. Efter endt forgæring opvarmes til 80 - 85°C, sønderdeles 1 minut med en homogenisator og aftappes på en vibrationssigte. Udbyttet er 533 g af en fin, endnu flydende aromatisk selleripuré.

Eksempel 3.

Fremstilling af hybenhydrolysat.

Hyben afpudses, vaskes og sønderdeles i en kødmaskine. Til 1 vægtdel hyben sættes 1 rumfangsdel vand, og der opvarmes til 80°C. Ved opvarmning til kun 50°C indtræder der ingen smagsbeskadigelse. Efter tilsætning af 1 °/oo pektinglykosidase fra kulturer af Rhizopus javanicus forgæres under omrøring i 2 timer ved 50°C, derpå opvarmes til 80°C og sigtes fra kerner og skalrester. Resterne kan afpresses for at forhøje udbyttet.

Analytiske data:

	Blindværdi (uden enzym)	Pektinglykosidase 1°/oo
pH	4,2	4,2
g syre/l	6,6	6,6
Vægtfylde	1,044	1,050
Tørstof (%)	9,4	10,4
Udbytte	285 ml	380 ml
Efterpresning	170 ml	103 ml
Ialt ml	455	483

Før forgæringen kan der også opvarmes til 80°C. Dette fører til hyben-hydrolyse med følgende analytiske data:

	Blindværdi (uden enzym)	Pektinglykosidase 1°/oo
pH	4,3	4,3
g syre/l	4,7	5,1
Vægtfylde	1,032	1,068
Tørstof (%)	7,8	10,4
Udbytte	265 ml	380 ml
Efterpresning	215 ml	103 ml
Ialt ml	480	483

Eksempel 4.

Fremstilling af tomathydrolysat.

500 g hollandske tomater vaskes, sønderdeles i en kødmaskine og bringes straks under omrøring op på 90°C. Efter afkøling til 50°C blev der tilsat

a) 1 °/oo pektinglykosidase
b) 1 °/oo handelspektinase
c) intet enzym.

Efter 2 timers forgæring ved 50°C under omrøring opvarmes til 90°C og sønderdeles 1 minut i homogenisator. Til fraskillelse af rester passeredes gennem en sigte DIN 12 V2A. Disse rester blev afpresset og pressesaften forenet med hydrolysatet.

Analytiske data:

	a	b	c
Udbytte % (beregnet på tomater)	92	89	85
Glukose (beregnet som reducerende stoffer) %	2,26	2,31	1,88
Syre (g vinsyre/l)	4,23	4,62	3,94
Tørstof (%)	4,89	4,95	4,39
Bundfaldsdannelse efter 30 dage (100% : ingen afsætning)	100	92	61,5

P a t e n t k r a v

Anvendelse af et enzymprodukt fra kulturfiltrater af Aspergillus aleaceus, Aspergillus parasiticus, Rhizopus javanicus, Ceratocystis paradoxa, Penicillium roqueforti eller Penicillium stoloniferum, der indeholder pektinglykosidaser (polygalakturonaser) og protopektinaser og er i det væsentlige fri for polymetylgalakturonaser og pektinesteraser, til oplukning af sønderdelt grønsags- eller frugtkød.

Fremdragne publikationer:

Tysk patent nr. 754713
USA patenter nr. 1932833, 3031307.