

PRACE GŁÓWNEGO INSTYTUTU PRZEMYSŁU ROLNEGO I SPOŻYWCZEGO

Rok III (1953)

Zeszyt 2



Spis treści

	Str.
1. <i>H. Niewiadomski, E. Kajdański</i> — Przemysłowe zastosowanie soi	3
2. <i>W. Rzędowski</i> — Opracowanie metod otrzymywania enzymatycznych preparatów do klarowania moszczów i win	9
3. <i>Z. Rybakow, St. Malinowski</i> — Badanie polskiego olejku miętowego oraz opracowanie metody oczyszczania i zastosowania	18



W A R S Z A W A 1953

P A Ń S T W O W E W Y D A W N I C T W A T E C H N I C Z N E

Prace Głównego Instytutu Przemysłu Rolnego i Spożywczego redagowane są
przez Komitet Redakcyjny Instytutu w składzie:
Redaktor naczelny *Aleksander Żelazny*
Redaktorzy działowi: *Marian Kalkhoff, Tadeusz Pietrzykowski, Paweł Wojcieszak*
Adres Redakcji: GIPRiS, Warszawa 12, ul. Rakowiecka Nr 8, Tel. 423-43

СОДЕРЖАНИЕ

1. X. Невядомски, Е. Кайдаński — Промышленное использование сои.
2. В. Жендовски — Метод получения энзимных препаратов для осветления сусел и вин.
3. З. Рыбаков, С. Малиновски — Исследование польского мятного масла, метод очистки и использование.

CONTENTS

1. H. Niewiadomski, E. Kajdański — Industrial uses of soybeans.
2. W. Rzędowski — Methods to obtain enzyme preparations for the clarification of musts and wines.
3. Z. Rybakow, S. Malinowski — Research on the polish peppermint oil, method of purification and applications.

SOMMAIRE

1. H. Niewiadomski, E. Kajdański — L'utilisation industrielle du soja.
2. W. Rzędowski — Méthodes d'obtenir les préparations enzymatiques pour la clarification des moûts et des vins.
3. Z. Rybakow, S. Malinowski — Les recherches sur l'essence de menthe polonaise et méthodes de sa purification et application.

WSZELKIE PRAWA ZASTRZEŻONE

Alc. 81/54

Rysunki dostarczył Komitet Redakcyjny GIPRiS

Redaktor techniczny mgr. J. Zajdowski

Korektor techniczny J. Karniewska

PWT Warszawa 1953,

Wydanie I.

Nakład 760 egz.

Ark. wyd. 5,5

Ark. druk. 3

Pap. druk. sat. kl. VII. 70 g. 610x860/8

Ręk. oddano do skład. 25. V. 1953.

Podpis. do druku 23. VII. 1953.

Druk ukończono 28. VII. 1953.

Symbol 80094/INB

Cena zł. 7,50

Krakowskie Zakłady Graficzne Nr 4, ul. J. Sarego 7 — Zam. 408/53 — M-4-33198

Prace głównego Instytutu Przemysłu Rolnego i Spożywczego, zeszyt 2

Ważniejsze błędy dostrzeżone w druku

Str.	Wiersz	Jest	Powinno być	Z czpjej winy
8	27 od góry łam lewy	Dodatek do mąki	Dodatek mąki	druk.
10	1 od góry, 1 rubr. w tabl. łam prawy	Zawartość w g	Zawartość w g	druk.
10	Tabl. 1 łam prawy 3 kol. 8 od dołu	8,0	58,0	druk.
17	2 od góry łam prawy	препарамов	препаратов	korektor
23	6 od dołu łam lewy	20,5 %	29,5 %	korektor
24	20 od dołu łam lewy	маела	масла	druk.
24	17 od dołu łam prawy	Мемол	Ментол	autor

H. NIEWIADOMSKI, E. KAJDAŃSKI

Przemysłowe zastosowanie soi

STRESZCZENIE

Artykuł traktuje o możliwości wprowadzenia soi do przemysłu żywnościowego jako surowca białkowego. Opracowano na skalę przemysłową metodę dezodoryzacji soi pełnotłustej i półotłuszczonej oraz wskazano zasadnicze kierunki zastosowania maki sojowej w niektórych gałęziach przemysłu spożywczego.

WSTĘP

Soja należy do cennych i rozpowszechnionych obecnie w szeregu krajów upraw, ze względu na jej wielostronne zastosowanie zarówno w przemyśle żywnościowym, jak i w technice. Wykorzystanie soi w zagranicznym przemyśle spożywczym obejmuje dwa zasadnicze kierunki, a mianowicie tłuszczowy i białkowy. Zawartość tłuszczu w najlepszych odmianach importowanej soi nie przekracza $18,5 \div 19\%$ i dlatego traktowanie jej wyłącznie jako surowca dla przemysłu tłuszczowego jest z gruntu błędne. Olej sojowy kalkuluje się znacznie drożej od rzepakowego, mimo że importowana soja jest nawet tańsza od krajowego rzepaku. Jednakże soja może mieć poważne znaczenie gospodarcze pod warunkiem racjonalnego wykorzystania białka, którego zawartość w nasionach dochodzi często do 40% . Białko to jest jedynym w naszych warunkach pełnowartościowym białkiem pochodzenia roślinnego, zawierającym wszystkie aminokwasy niezbędne dla normalnego wzrostu i rozwoju organizmu ludzkiego. Pod względem wartości odżywczej soja znacznie przewyższa nawet mięso. Jednakże w stanie surowym zawiera ona szereg niepożądanych składników wpływających zarówno na smak przetworów, jak i na ich wartość odżywczą. Dlatego nasiona jej przed przeróbką poddawane są zwykle zabiegowi dezodoryzacji, mającemu na celu pozabawienie ich tych składników. Odwoniona soja stosowana jest ostatnio do produkcji maki. Rozpowszechnione gatunki maki sojowej są zwykle nazywane w zależności od zawartości tłuszczu. Mąka otrzymywana z całych nasion określa się jako pełnotłusta, z makuchu sojowego jako półotłuszczone, a ze śrutu poekstrakcyjnego — jako odłuszczone. Produkcja maki z całych nasion jest z wielu względów nieracjonalna i ogranicza się wyłącznie niemal dla celów przemysłu cukierniczego. Poważne natomiast znaczenie gospodarcze może mieć przeróbka soi jednocześnie na olej i mąkę. Przy takiej bowiem przeróbce, nawet metodą tłoczenia, przemysł żywnościowy otrzymuje z przerobianego surowca około 13% oleju i 75% wysokowartościowej maki białkowej, a więc w sumie wydajność produktów żywnościowych wynosi ponad 85% . Odwanianie soi w olejarni tłocznej może być prowadzone w prażarkach parowych i nie wymaga zasadniczych zmian aparatury i procesu technologicznego. Analogiczna przeróbka soi w olejarni ekstrakcyjnej zwiększa wprawdzie wydajność oleju, jednakże obniża wartość odżywczą maki, wymaga dodatkowej dezodoryzacji śrutu oraz zmian istotnych parametrów samej ekstrakcji.

MOŻLIWOŚCI WPROWADZENIA SOI DO PRZEMYSŁU

Mąka sojowa jest niezbyt przydatna do stosowania jej bez domieszek, natomiast może być cennym dodatkiem do szeregu artykułów żywnościowych. Dodatek taki może mieć szczególne zastosowanie w piekarnictwie, w przemyśle środków odżywczych, w przetwórstwie mięsnym, a także w żywieniu zbiorowym.

Mąka sojowa może być wprowadzona do artykułów spożywczych w dwojaki sposób:

a. przez rozpoczęcie produkcji nowych asortymentów zawierających większe ilości soi, w których występowanie

tego dodatku powinno być zadeklarowane i ewentualnie odpowiednio zapropagowane;

b. przez wprowadzenie dodatku soi do istniejących już asortymentów w ilościach minimalnych, nie pociągających za sobą konieczności zmiany nazwy handlowej produktów.

Ilości maki sojowej, które mogą być zużytkowane w kraju, są bardzo duże. Jak wykazały przeprowadzone próby, zawartość jej w chlebie żytnim w ilości $2 \div 5\%$ jest niewyczuwalna. Stosując więc przy wypieku chleba mąkę sojową w ilości tylko $2 \div 3\%$ możemy zużytkować w skali ogólnokrajowej kilkadziesiąt tysięcy ton maki sojowej rocznie, tj. ilość przewyższającą realne możliwości importu ziarna soi.

Mąka sojowa przy prawidłowym przygotowaniu zawsze będzie miała nabywcę, gdyż konsumpcja jej może być regulowana w bardzo szerokich granicach.

MOŻLIWOŚCI WPROWADZENIA UPRAWY SOI

Próby nad wykorzystaniem soi obejmowały także nasiona pochodzenia krajowego i wykazały, że produkty z nich otrzymane nie ustępują przetworom z soi importowanej. Niewątpliwie zastosowanie soi na szerszą skalę będzie pociągało za sobą wprowadzenie jej do krajowej bazy surowcowej.

Na konferencji w sprawie zużytkowania soi, która odbyła się w dniu 30. VII. 51 r. w PKPG z udziałem przedstawicieli rolnictwa i przemysłu, stwierdzono, że główne trudności leżą w nieznajomości produkcji przetworów sojowych, natomiast zagadnienie krajowej uprawy zostało rozwiązane pozytywnie. Potwierdza to zresztą szereg prac przeprowadzonych w tym kierunku.

Tak np. Czerwiński (1) podaje, że w naszych warunkach klimatycznych przy średnim poziomie agrotechniki możemy liczyć na plony nasion soi w granicach $10 \div 12$ q/ha. Moldenhawer (2) sądzi, że granice wahań w plonach mogą być znacznie szersze, mianowicie $7 \div 17$ q/ha. Muszyński i Strażewicz (3) zaznaczają, że plony odmian wysokoplennych, których uprawa była prowadzona przed wojną w południowych i południowo-wschodnich dzielnicach, wynosiły zazwyczaj $15 \div 25$ q/ha. Według tychże autorów uprawa bratannej soi wileńskiej prowadzona była na szerszą skalę w woj. poznańskim w latach 1931—1932 i w obu latach osiągnięto powyżej 15 q/ha. Mackiewicz (4) podaje, że stosując odpowiednie metody możemy śmiało uprawiać soję otrzymując co roku normalne plony. Jego zdaniem w latach urodzaju można liczyć na $16 \div 18$ q/ha, w niesprzyjających na $6 \div 8$ q/ha.

Większość podawanych cyfr wydaje się nieco przesadna. Mając jednak na uwadze realne możliwości zużytkowania maki sojowej w przemyśle spożywczym, śmiało możemy przyjąć, że już przy plonach $8 \div 10$ q/ha uprawa soi w kraju stanie się rentowna. Jeżeli wziąć pod uwagę, że na obszarze całej Mandżurii zbiory wynoszą przeciętnie 10 q/ha, a w Stanach Zjednoczonych w ciągu 25 lat zmieniły się z $7,5$ na $14,5$ q/ha, to można twierdzić, że plony te zależą znacznie więcej od sposobu uprawy niż od warunków klimatycznych.

SKŁAD CHEMICZNY I WARTOŚĆ ODŻYWCZA SOI

Skład chemiczny soi może się wahać w dość znacznych granicach w zależności od odmiany, pochodzenia i warunków agroklimatycznych. Minimalna ilość surowego białka wynosi 24%, maksymalna zaś dochodzi do 60%, podczas gdy zawartość tłuszczu waha się w granicach 12÷25%.

Cechą charakterystyczną soi pochodzącej z Mandżurii jest stałość składu chemicznego, który u rozmaitych odmian różni się w nieznacznym stopniu. Morozow (5) podaje następujące dane dotyczące mandżurskiej soi eksportowej:

zawartość tłuszczu — 19,32%
zawartość białka — 39,16%

Odmiany krajowe zawierają zazwyczaj nieco mniej tłuszczu, natomiast zawartość białka jest na ogół wysoka.

Skład chemiczny poszczególnych części nasion został zbadany przez Bailey'a, Capena i Leclere'a (6), którzy podali wyniki zestawione w tablicy 1.

Tablica 1

Części nasion	Procentowy stosunek części nasienia	Wilgotność %	Białko %	Węglowodany %	Tłuszcz %	Popiół %
Liście	90	10,57	41,60	14,60	20,75	4,38
Kiełki	2	12,01	36,93	17,32	10,75	4,08
Naskórki	8	12,53	7,00	21,02	0,60	3,83

Najbardziej interesującymi składnikami z punktu widzenia tej pracy są: białko jako składnik określający wartość odżywczą oraz szereg mało badanych substancji, które nadają otrzymanym przetworom niepożądane własności.

a. Białko

Białko soi uważane jest za jedyne pełnowartościowe białko pochodzenia roślinnego zawierające wszystkie aminokwasy niezbędne dla normalnego wzrostu i rozwoju organizmu ludzkiego.

Osborne i Campbell (7) w wyniku szczegółowych badań nad białkiem soi podali następujące jego składniki:

1. Główny składnik — globulina „glicynina” różniącą się od leguminy dwukrotnie prawie wyższą zawartością siarki, większą ilością węgla i mniejszą azotu (tabl. 2).

Tablica 2

	C	H	N	O	S
Glicynina	52,12	6,93	17,53	22,63	0,75
Legumina	51,48	7,02	18,22	22,88	0,40

Produkty hydrolizy glicyny różnią się od produktów z leguminy mniejszą ilością zasad. Glicynina jest rozpuszczalna w 2-procentowym roztworze NaCl, a w 10-procentowym roztworze tej soli nie ścina się podczas gotowania.

2. Nieznaczna ilość bardziej rozpuszczalnej globuliny, podobnej do fazeoliny. Rozpuszcza się ona w rozcieńczonych roztworach soli jeszcze lepiej niż glicynina, nie tracąc się kwasami z 10-procentowego roztworu NaCl, czym różni się od glicyny. Zawiera o 1% mniej azotu niż glicynina.

3. Białko podobne do albuminy — legumelina (0,5%).

4. Nieznaczna ilość proteozy.

Ze względu na znaczenie, które ma w praktyce rozpuszczalność białka sojowego, warto podać wyniki nowszych badań odnośnie do zawartości poszczególnych białek w nasionach soi wymienione w pracy K. S. Markleya (8). Wyniki te są następujące: 75,6% rozpuszczalnych w wodzie (albuminy), 5,7% rozpuszczalnych w 5-procentowym KCl (globuliny), 35% rozpuszczalnych w 70-procentowym alkoholu (prolaminy), 6% rozpuszczalnych w 0,2-procentowym KOH (gluteliny), 9,2% substancji azotowych, pozostających w osadzie po ekstrakcjach wymienionymi czterema rozpuszczalnikami.

Zawartość białka w nasionach soi i przetworach sojowych nie jest jednakowa. W czasie przeróbki w większości wypadków soja jest poddawana tłuszczeniu, częściowo traci wodę, zostaje mniej lub więcej odtłuszczone, a w wypadku ekstrakcji alkoholem pozbawia się ją także cukrów. Z tego względu zawartość białka w makucho lub śrucie jest zawsze wyższa niż w odpowiednim surowcu. Prowadząc badania nad wartością odżywczą różnych białek Block i Mitchell (9) porównują aminokwasy niektórych ma-

kuchów z zawartością tych związków w odtłuszczonej mące mącznej (tabl. 3).

Tablica 3

Aminokwasy	Odtłuszczone mleko w proszku %	Makuch			
		liniany %	sojowy %	bawełniany %	arachidowy %
Arginina	1,46	2,79	3,19	3,11	4,36
Histydyna	0,88	0,40	1,03	1,09	0,95
Lizyna	2,55	0,82	2,61	1,13	1,35
Tyrozyna	1,80	1,68	1,85	1,34	1,98
Tryptofan	0,54	0,49	0,54	0,55	0,45
Fenylalanina	1,94	1,85	2,57	2,80	2,43
Cystyna	0,34	0,63	0,85	0,84	0,72
Metionina	1,16	0,76	0,90	0,88	0,54
Treonina	1,53	1,68	1,80	1,26	0,68
Leucyna	3,84	2,31	2,97	2,10	3,15
Izoleucyna	2,89	1,32	2,11	1,43	1,35
Walina	2,80	2,31	1,80	1,55	3,60

Szczególnie obszerne badania nad składem aminokwasowym mąki sojowej były przeprowadzone w wielu krajach w związku z problemem podwyższenia wartości odżywczej chleba. Białko pszenicy i żyta posiada znaczny deficyt lizyny, jednego z „niezbędnych” aminokwasów, natomiast mąka sojowa zawiera ją w nadmiarze. Poza tym dodatek mąki sojowej do chleba wzbogaca go w sole mineralne, szczególnie w fosfor, wapń i żelazo.

Auerman (10) wysuwa propozycję podwyższenia wartości odżywczej chleba przez dodatek białek zawierających nadmiar lizyny, a wśród nich białka sojowego. Zapotrzebowanie dzienne lizyny przez człowieka wynosi 5,2 g, zawartość zaś tego związku w 1 kg chleba pszenicznego w zależności od jego gatunku, wynosi 2,1—2,4 g, w żytnim zaś zaledwie 1,2 g. Ilość lizyny natomiast w jednym kilogramie mąki sojowej dochodzi do 40 g.

Dla określenia wartości odżywczej białka Mitchell (11) wprowadził pojęcie „rzeczywistej wartości białkowej”, która ma zależeć od ogólnej zawartości, przyswajalności i wartości biologicznej. Jak wykazał szereg ostatnich prac, wartość białkowa soi może wahać się w szerokich granicach w zależności od stosowanej obróbki cieplnej.

Rzeczywistą przyswajalność białka sojowego nie poddanego obróbce cieplnej Mitchell określa w granicach 83÷85%. W zależności natomiast od parametrów obróbki przyswajalność wzrastała przy ogrzewaniu, dochodząc w optymalnych warunkach do 95,6%.

Wartość biologiczna surowego białka sojowego wynosiła 56÷59, a poddanego optymalnej obróbce wzrastała do 75.

Na podstawie tych danych Mitchell zestawiał tablicę porównując „rzeczywistą wartość białkową” soi i mąki sojowej z szeregiem produktów białkowych.

Tablica 4

Produkt białkowy	Zawartość białka w przeliczeniu na suchą substancję %	Rzeczywista przyswajalność %	Białko przyswajalne %	Wartość biologiczna %	Rzeczywista wartość białkowa %
Jaja	49,2	100	49	94	46
Mięso wołowe (prze-ciętnie)	58,5	100	58	76	44
Mąka sojowa	46,7	96	45	75	34
Mąka słonecznikowa	55,3	94	52	65	34
Drożdże	50,0	93	47	63	29
Ser „cheddar”	50,2	98	38	72	28
Soja (optym. praż.)	37,7	96	36	75	27
Mleko pełne	26,7	95	25	90	23
Kiełki pszenne	28,3	95	27	75	20
Orzech ziemny	27,6	96	26	56	15

b. Substancje niepożądane

Jak wspominaliśmy, w nasionach soi znajduje się szereg substancji, które nadają otrzymanym przetworom spożywczym niepożądane własności.

Naskórek zawiera znaczną ilość błonnika, a u odmian o ciemnym zabarwieniu bogaty jest w barwniki i garbniki,

nadające przetworom charakterystyczny gorzkawy posmak. Dlatego w niektórych wypadkach łuszczenie nasion nie tylko pozabawia je błonnika, lecz pozwala także otrzymać przetwory o łagodniejszym smaku.

Odnosnie do pochodzenia, posmaku i zapachu surowych nasion zdania rozmaitych autorów są różne. Horvath (12) uważa, że gorzkie substancje są pochodnymi metylo-n-nonyloketonu, podczas gdy szereg innych autorów przychylił się do zdania, że są one pochodnymi flawonu. Markley (8) rozróżnia w soi trzy typy glikozydów, a mianowicie: fitosteroliny, saponiny i glikozydy izoflawonu. Podaje on, że saponiny soi posiadają gorzki smak i wykazują hemolityczne działanie, przez co są trujące. Są one rozpuszczalne w rozcieńczonych kwasach i alkaliach oraz w rozcieńczonym alkoholu. Z soi zostały wyizolowane saponiny, które po hydrolizie dały glikozę, galaktozę i ramnozę oraz dwa żółte barwniki zidentyfikowane jako glikozydy izoflawonu — genistin i daidzin.

Mitchell, Hamilton i Beadles (13) zwrócili uwagę na interesujący fakt, że prażenie lub parowanie nasion soi przed skarmianiem zwiększa przyswajalność i wartość biologiczną białka sojowego. Stwierdzili oni, że surowe nasiona zawierają substancję, która wpływa ujemnie na przyswajalność niektórych aminokwasów, a przede wszystkim metioniny i cystyny. Substancja ta została nazwana „antytrypsyną”. Kunitz (14) otrzymał antytrypsynę w formie krystalicznej ze śrutu sojowego wyprodukowanego w warunkach ostrożnej obróbki cieplnej. Substancja ta była białkiem typu globulin o ciężarze cząsteczkowym 24,000 i punkcie izoelektrycznym przy $pH = 4,5$. Wyosobniona antytrypsyna zawierała 16% azotu, mniej niż 0,01% fosforu, była rozpuszczalna w rozcieńczonych kwasach, alkaliach i roztworach soli, miała najmniejszą rozpuszczalność w wodzie przy $pH = 4,2$ do $4,8$. Związek ten wykazywał ujemny wpływ na koagulację krwi.

OBRÓBKA CIEPLNA

W procesie odtłuszczania i dezodoryzacji nasiona są kilkakrotnie poddawane działaniu podwyższonej temperatury. Działanie to ma poważny wpływ na własności organoleptyczne przetworów sojowych, a w niektórych wypadkach także na ich przyswajalność i wartość biologiczną. W wyniku parowania i prażenia zmieniają się bowiem własności białek, następuje dekstrynizacja i karmelizacja węglowodanów, a także ułatwiają się lub rozkładają substancje smakowe i zapachowe.

Najważniejszym procesem zachodzącym w ogrzanych nasionach jest denaturacja białka. Charakterystyczną cechą białka sojowego jest znaczna rozpuszczalność w wodzie. W procesie obróbki cieplnej rozpuszczalność białka obniża się, a w szczególnie ostrych warunkach zbliża się do zera. Zmiana rozpuszczalności białka w toku przeróbki soi służy jako kryterium denaturacji. Beckel, Bull i Hopper (15) podają następujący wzór dla określenia stopnia denaturacji białka sojowego w procesie odtłuszczania i dezodoryzacji:

$$\% \text{ denaturacji} = 100 - \frac{\% N \text{ dysperg. w wodzie w próbce badanej} - \% N \text{ niebiałkowego}}{\% N \text{ dysperg. w wodzie w próbce oryginal.} - \% N \text{ niebiałkowego}}$$

Jako kryterium denaturacji proponowane jest także określenie zdolności mąki sojowej do pęcznienia i chłonięcia wody. Rozpowszechniona szybka metoda jakościowego określenia denaturacji polega na tym, że 20 g mąki i 20 g wody miesza się razem w naczyniu; jeżeli masa ma tendencję do stworzenia kulki — to jest wskaźnikiem denaturacji, niezdenaturowana bowiem mąka tworzy gęstą pastę, która mocno trzyma się ścianek naczynia.

Denaturacja białka zależy w dużym stopniu od wilgotności nasion poddawanych obróbce cieplnej, dlatego w celu uniknięcia denaturacji obróbkę tę prowadzi się zazwyczaj w temperaturze $90 \div 100^\circ C$, bez uprzedniego nawilgocenia.

Jeżeli soja jest przerabiana w olejarni ekstrakcyjnej, wówczas efekt ogrzewania może być wzmocniony przez zastosowanie do ekstrakcji rozpuszczalników o wysokiej stałej dielektrycznej. Dlatego ekstrakcja nasion alkoholem lub mieszaniną benzenu i alkoholu powoduje znaczną denaturację białka, podczas gdy benzyna ekstrakcyjna nie zwiększa efektu obróbki cieplnej.

Uprzednio nadmieniliśmy, że Mitchell (13) wraz ze współpracownikami stwierdził, iż — w odróżnieniu od większości białek — przyswajalność i wartość biologiczna białka sojowego wzrasta przez ogrzanie.

Późniejsze doświadczenia Kunitza (14) wykazały, że antytrypsyna soi traci swą aktywność podczas ogrzewania, ulegając denaturacji i rozkładowi. Polepszenie wartości odżywczej soi podczas ogrzewania należy przypisać przede wszystkim lepszej przyswajalności metioniny. Należy zaznaczyć, że metionina jest jedynym niezastąpionym aminokwasem, który znajduje się w soi w niedostatecznej ilości. Nadmierna obróbka cieplna obniża wartość odżywczą soi, ponieważ niektóre aminokwasy, przede wszystkim zaś lizyna bardzo szybko ulegają rozkładowi.

W toku ogrzewania ulegają także rozkładowi lub ułatwiają się substancje zapachowe. Na tym zjawisku polega zasadniczy proces dezodoryzacji.

Jak podaje Markley (8), metoda wydzielania metylo-n-nonyloketonu opiera się na destylacji z parą wodną i ekstrakcji kondensatu eterem. Autor zwraca także uwagę na możliwość przeprowadzenia hydrolizy glikozydów soi przez obróbkę cieplną w obecności wody, bez konieczności stosowania kwasów.

Polepszenie smaku i wartości odżywczej przetworów sojowych przy prażeniu następuje nie tylko kosztem zmian występujących w białkach i na skutek rozkładu substancji zapachowych, lecz także wskutek zmian zachodzących w węglowodanach. Węglowodany występujące w soi należą w zasadzie do polisacharydów. Pod działaniem wyższych temperatur ulegają one hydrolizie i innym rodzajom rozkładu cząsteczki, łącznie z dekstrynizacją i karmelizacją. Wreszcie ostatni efekt, który wywiera obróbka cieplna, polega na zahamowaniu aktywności enzymów. Learmonth (16) podaje, że ogrzewanie powinno być przeprowadzane w ten sposób, aby następował całkowity rozkład peroksydazy, lipoksydazy i lipazy.

METODY DEZODORYZACJI

Istniejące metody dezodoryzacji soi można podzielić na fizyczne i fizyczno-chemiczne. W fizycznych metodach odwaniania stosuje się tylko wodę, parę i podniesioną temperaturę, podczas gdy w fizyczno-chemicznych — poza wymienionymi czynnikami — używane są kwasy, alkalia, sole i cały szereg organicznych substancji.

Podany poniżej wykaz metod dezodoryzacji został opracowany na podstawie pracy zbiorowej pod redakcją K. S. Markleya (17), pracy Leszczenki, Kasatkina, Chotulewa (18) oraz na podstawie oryginalnych opisów patentowych.

Fizyczne metody dezodoryzacji

Metoda Berczellera (1924). Polega ona na działaniu pary nasyconej na nasiona przez okres $10 \div 20$ minut, wysuszeniu, oddzieleniu naskórki i przemiale.

Metoda Friedmana (1946). Nasiona o wilgotności około 12% ogrzewa się w autoklawie do temperatury $120 \div 300^\circ C$ (przeciętnie do $155^\circ C$).

Metoda Gilla (1936). Całe lub rozdrobnione nasiona moczy się w ciągu 15 minut w wodzie o temperaturze $38^\circ C$, po czym ogrzewa się do $160^\circ C$ przez krótki okres czasu.

Metoda Shellabargera (1932). Soję załadunkuje się do bębna obrotowego, wytwarza się w nim częściową próżnię, a następnie wprowadza się CO_2 lub inny obojętny gaz i ogrzewa w temperaturze $60^\circ C$ przez 40 minut.

Metoda Bishopa (1935). Podnosi się normalną wilgotność nasion i poddaje się je działaniu stosunkowo wysokiej temperatury przez krótki okres czasu, a następnie suszy się w niskiej temperaturze.

Metoda Selegińskiego (1937). Nasiona sortowane według rozmiarów ogrzewa się parą do $70 \div 80^\circ C$, następnie poddaje się działaniu ostrej pary przez dłuższy okres czasu, po czym suszy się pod próżnią, chłodzi i miele.

Fizyczno-chemiczne metody dezodoryzacji

Metoda Yamamoto (1922). Polega ona na poddaniu nasion przed przeróbką moczeniu w rozcieńczonym kwasie octowym.

Metoda Cohna (1936). Stosuje ona rozcieńczone kwasy: solny, siarkowy lub fosforowy.

Metoda Bonotta (1934). Polega ona na użyciu kwasu siarkowego, a następnie na usunięciu dwutlenku siarki z nasion przy pomocy strumienia pary.

Metoda Denglera (1932). Jako środek chemiczny metoda ta stosuje rozcieńczony amoniak.

Metoda Raymonda (1934). Nasiona poddawane są ciśnieniu od 1 do 60 atm CO₂ przy temperaturze 0–40°C, a następnie są parowane.

Metoda Waita (1939). Nasiona poddawane są w bębnie obrotowym działaniu mieszaniny etylenu i pary rozcieńczonej dwutlenkiem węgla lub azotem.

Metoda Gössela (1938). Polega na pokryciu nasion warstwą oleju i ogrzewaniu w gazowej atmosferze dla pozabawienia posmaku.

Opisane metody dotyczą tylko dezodoryzacji soi pełnotłustej. Markley (17) nadmienia, że istnieje możliwość przeprowadzenia dezodoryzacji podczas odtłuszczania nasion metodą tłoczeniową. Zdaniem autora najważniejszym czynnikiem odwaniania jest charakter obróbki cieplnej, od której zależy jakość mąki. Tenże autor zaznacza, że dezodoryzacja śrutu sojowego, pochodzącego z olejarni ekstrakcyjnej powinna być przeprowadzona tuż po jego wyjściu ze ślimaka suszącego.

Beckel, Belter i Smith (19) opisują metodę dezodoryzacji soi połączonej z ekstrakcją tłuszczu etanolem. Leszczenko (18) podaje, że w laboratorium chemicznym Instytutu Sojowego w ZSRR została opracowana metoda kompleksowej przeróbki soi. Ekstrakcja prowadzona jest rozpuszczalnikami mieszanym (alkohol etylowy + benzyna). Po odpędzeniu rozpuszczalnika pozostają: olej, lecytyna i cukry. Zdezodoryzowany śrut jest całkowicie uwolniony od garbników i częściowo od barwników.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

W toku opracowywania tematu otrzymano szereg próbek mąki sojowej, które zostały następnie wypróbowane w pieczywie, wyrobach cukierniczych, koncentratkach i przetworach mięsnych. Jednakże, jak się okazało, stopień dezodoryzacji nie jest dostatecznym kryterium jakości otrzymywanej mąki.

Podczas prób technicznych stwierdzono, że podczas gdy jedne próbki mąki użyte do produkcji herbatników dawały bardzo dobre wyniki, inne nie nadawały się zupełnie: otrzymane herbatniki były twarde i deformowały się podczas wypieku. Tak samo nie otrzymano jednolitych wyników przy stosowaniu mąki sojowej do produkcji wędlin. Podczas, gdy stosując jedne próbki otrzymywano wędliny o należytej konsystencji i wydajności — inne dawały wyniki ujemne, otrzymany produkt był kruchy i ziarnisty, a pomimo to robił wrażenie wilgotnego.

Otrzymane w obydwu wypadkach wyniki w ścisły sposób wiązały się ze sobą i jak stwierdzono zależały od właściwości białka.

Do produkcji herbatników powinny być stosowane gatunki mąki sojowej o zdenaturowanym białku — poddane w procesie dezodoryzacji znacznej obróbce cieplnej. Gdybyśmy stosowali do produkcji pieczywa cukierniczego mąkę sojową dezodoryzowaną w temperaturze nie powodującej denaturacji białka, otrzymalibyśmy wyniki ujemne.

Ścinające się podczas wypieku białko nadaje pieczywu twardość. Chociaż z biegiem czasu wyroby miękną, chłonąc z powietrza wilgoć, jednakże ich właściwości smakowe są niższe od własności wyrobów z mąki ogrzewanej. Poza tym dla otrzymania ciasta o normalnej konsystencji, konieczne w tym wypadku jest znaczne zwiększenie ilości wody. Wilgoć wyparowująca podczas wypieku powoduje gwałtowne zmniejszenie się objętości i deformuje herbatniki.

Przy zastosowaniu natomiast mąki sojowej w wyrobach wędliniarskich, gdzie służy ona przede wszystkim jako spoiwo oraz jako składnik obniżający koszt — pożądane są takie właściwości mąki, jak np. maksymalna rozpuszczalność w wodzie, plastyczność, zdolność do pęcznienia.

Warunkom tym odpowiada mąka poddana minimalnej obróbce cieplnej. Przy wprowadzeniu takiej mąki do przetworów mięsnych pęcznieje ona znacznie i zwiększa w ten sposób wydajność kutowanej masy.

Spoistość farszu w wypadku obecności w nim mąki sojowej znacznie się zwiększa. Poza tym dodatek mąki sojowej przesuwają pH farszu w kierunku alkalicznym. Posiada to poważne znaczenie przy produkcji wędlin z mięsa

mrożonego, gdyż wtedy mąka sojowa zwiększa rozpuszczalność białek mięsa i ich zdolność do pęcznienia. W wyniku tego zabiegu polepsza się wewnętrzna struktura produktu i zwiększa się ilość wody utrzymywanej przez farsz przy koagulacji białek.

Analogiczne przykłady można podać z każdej gałęzi przemysłu spożywczego.

W zależności od stosowanej metody dezodoryzacji można dowolnie regulować stopień denaturacji białka w mące sojowej, a tym samym produkować jej kilka gatunków w zależności od przeznaczenia.

W celu umożliwienia ruchowej kontroli stopnia denaturacji została opracowana szybka metoda, polegająca na zagniataniu w określonych warunkach twardego ciasta, formowaniu z niego sześcianików, wysuszeniu ich, obróbce mechanicznej, ścisaniu do wystąpienia deformacji i określeniu wytrzymałości na ściskanie. Powyższa metoda fizyczna pozwala określać denaturację nie tylko jakościowo, lecz także ilościowo.

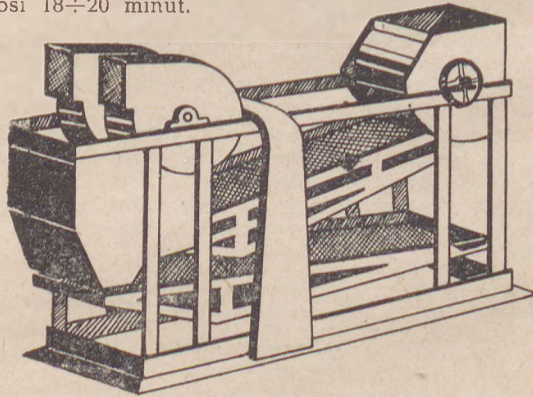
PRÓBY TECHNICZNE

Wykonane próby techniczne obejmowały opracowanie metody dezodoryzacji soi pełnotłustej i mąki sojowej tak z makuchu, jak i ze śrutu, po wstępnej obróbce.

Wstępna obróbka nasion

Do zakresu obróbki wstępnej należą trzy operacje: suszenie, czyszczenie i łuszczenie.

1. **Suszenie nasion** może być przeprowadzone w warunkach fabrycznych zarówno w suszarkach wieżowych, jak też i bębnowych. Stwierdzono, że wysuszenie soi w suszarce wieżowej do wilgotności 7% nie sprawia trudności. Powyższa wilgotność nie utrudnia już łuszczenia soi w łuszcarkach. Urządzeniem, które najlepiej odpowiada wymaganiom warunkom, jest suszarka bębnowa, stosowana w olejarniach ekstrakcyjnych do suszenia śrutu. Suszarka taka posiada zdolność przerobową 20–30 ton na dobę. Składa się ona z nieruchomego bębna posiadającego izolację cieplną, wewnątrz którego obraca się wiązka kilkunastu rur grzejnych. Ciśnienie pary w rurach wynosi 2–3 atm, co odpowiada temperaturze powierzchni grzejnej 115–125°C. Pod bębniem znajdują się grzejniki, przez które do suszarki może być wtłaczane gorące powietrze; po zawilżeniu jest ono wysysane wentylatorem. Działanie suszarki jest ciągłe, a czas przebywania ziarna w suszarce wynosi 18–20 minut.



Rys. 1. Łuszcarka palcowa

2. **Czyszczenie soi** przed łuszczeniem jest niezbędne z tego względu, że łuszcarka nie oddziela większości zanieczyszczeń. Importowana soja zawiera znaczną ilość piasku i zanieczyszczeń organicznych. W wyniku przeprowadzonych prób stwierdzono, że ilość piasku może dochodzić do 4–5 kg na tonę soi.

3. **Łuszczenie.** Do łuszczenia soi zostały zastosowane łuszcarki do słonecznika typu cepowego. Łuszcarka posiadała dwa ruchome sita z blachy o grubości 1,5 mm, z których górne miało otwory o przekroju 5 mm, a dolne o przekroju 3 mm. Łuszcarka zaopatrzona była w dwa wentylatory do wyciągania łuski. Całe urządzenie napędzane było silnikiem elektrycznym o mocy 4,5 kW (rys. 1).

W wyniku przeprowadzonych prób stwierdzono, że łuszcarka w tym stanie nie nadawała się do łuszczenia soi. Ponieważ jej ciężar hektolitrowy w porównaniu ze słonecznikiem jest znacznie wyższy, moc zainstalowanego

silnika okazała się niedostateczna i z tego powodu zainstalowany został silnik o mocy 11 kW. Zbyt duże otwory w górnym sicie powodowały zanieczyszczenie jądra przez drobne cząstki łuski, które wraz z drobniejszymi częściami nasion bezpośrednio po rozbiciu przelatywały przez otwory w górnym sicie, zanim jeszcze łuska została wywiana. Objaw ten mógł być usunięty tylko przez zastąpienie górnej połowy sita przez sito o mniejszej wielkości oczek.

Próby łuszczenia soi o wilgotności powyżej 9% były mało udane. Zastosowano uprzednio rozdrabnianie nasion w zestawach olejarskich czterowalcowych, jednakże usunięta została zaledwie połowa naskórka. Znaczna część łuski pozostawała nadal przyklepiona do części jądra. Po wprowadzeniu suszenia soi odpadła konieczność rozdrabniania nasion na walcach. Otrzymywano około 75% śrutu wyrównanego pod względem wymiarów o ϕ ziarna 3+4 mm i o bardzo wysokim stopniu odłuszczenia. Poza tym było około 20% śrutu o średnicy 1,5+3 mm bardziej zanieczyszczonego łupinką, a resztę stanowiły wywiana łuska i miał.

Dezodoryzacja soi pełnotłustej

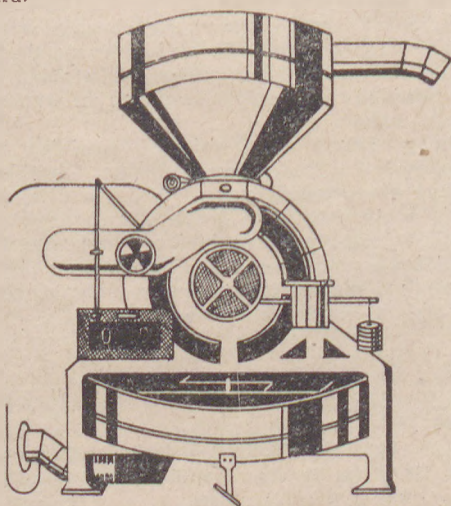
Przeprowadzane próby techniczne dezodoryzacji soi pełnotłustej miały na celu otrzymanie:

a. pełnotłustej mąki sojowej do produkcji pieczywa cukierniczego,

b. pełnotłustej soi dezodoryzowanej do grylaży, nadzień i namiastek czekolady.

Do produkcji pieczywa cukierniczego okazała się lepsza mąka półodtłuszczona, zresztą produkcja mąki pełnotłustej w zakładach przemysłu cukierniczego w skali fabrycznej jest niemożliwa, gdyż dezodoryzacja soi w piecach kulowych „Sirocco” ograniczona jest małą ich przepustowością. Poza tym mielenie soi pełnotłustej napotyka na trudności.

Otrzymano natomiast pomyślne wyniki w próbach dezodoryzacji soi w celu zastosowania do produkcji grylażów, nadzień i jako dodatku do czekolady. Próba została wykonana w Zakładach Przemysłu Cukierniczego „Bałtyk” w Gdańsku.



Rys. 2. Piec kulowy „Sirocco”

Dezodoryzacja odbywała się w sposób następujący: Rozdrobnione i odłuszczone nasiona zostały nawilżone w melangerze. Melanżer po ogrzaniu puszczono w ruch przy podniesionych kamieniach i wsypano odważoną ilość soi. Przy stałym mieszaniu wlewo 30% (w stosunku do soi) podgrzanej do 90°C wody. Stosowanie gorącej wody przy nawilżaniu usuwało niebezpieczeństwo sklejanie się soi, gdyż białko na powierzchni zostało ścięte.

Dezodoryzację przeprowadzano w piecu kulowym „Sirocco” (rys. 2) o działaniu periodycznym. Piec ogrzewany jest gazem i przeznaczony do palenia ziarna kakaowego i orzechów. Składa się on z zasobnika ziarna surowego, pieca obrotowego i zbiornika ziarna palonego z mieszadłem. Drobne cząstki nasion, pyłu i łuski porywane są strumieniem ciepłego powietrza i niesione do zbiornika zanieczyszczeń. W odbieralniku ziarna palonego nasiona są chłodzone za pomocą przedmuchiwania zimnym powietrzem. Piec „Sirocco” jest ogrzewany gazem od wewnątrz, wobec czego nasiona przyklejone do wewnętrznej po-

wierzchni kulistej mniej się ogrzewały i spadając gromadziły się w przedziale pomiędzy wewnętrzną ścianą kuli a zasuwą. W wyniku otrzymywano początkowo produkt niejednorodny tak pod względem dezodoryzacji, jak i pod względem wilgotności.

W celu uniknięcia zanieczyszczenia produktu przez surowe ziarno zasuwę otwarto, a wysypujący się śrut wysypywano z powrotem do zbiornika ziarna surowego. Dla otrzymania produktu o jednolitej wilgotności każdorazowo brano śrut o możliwie równej wielkości. Ponieważ termopara była wymontowana, koniec procesu określano organoleptycznie. Zdezodoryzowany produkt posiadał barwę żółtopomarańczową z brązowym odcieniem, przyjemny orzeszkowy zapach i wyraźne orzechowy posmak. Czas dezodoryzacji około 20 minut.

Metoda produkcji dezodoryzowanego makuchu sojowego

Proces dezodoryzacji został połączony z procesem ogrzewania wytloku przed tłoczeniem końcowym. Półodtłuszczona mąka sojowa jest mniej wrażliwa na jęlczenie, poza tym zaś może być produkowana w znacznych ilościach na istniejących urządzeniach.

Bezpośrednio z łuszczonek nasiona były podawane do prażarek nad prasami wstępnymi. Parametry tłoczenia wstępnego zostały zmienione w tym kierunku, że podniesiono temperaturę w prażarkach do 75°C. Temperatura wytloków dochodziła do 75°C. Wytloki z łamacza szły na pięciowalcówkę, a otrzymane płatki do prażarki nad prasami hydraulicznymi. Stosowana prażarka parowa była dwupanwiowa. Każda retorta posiadała płaszcz parowy ogrzewający dno i część cylindryczną. Poprzez obydwie panwie przechodził pionowy wał główny, napędzany przy pomocy przekładni stożkowej od transmisji. Każda panew była zaopatrzona w mieszadło obracające się z szybkością 30÷40 obrotów na minutę i skrobaki. Robocze ciśnienie pary w płaszczach ogrzewczych wynosiło 5 Atm. Górna panew posiadała natrysk dla nawilżania miazgi gorącą wodą. Ogrzewanie miazgi następuje także przez bezpośrednie działanie ostrej pary wprowadzonej oddzielnym przewodem.

Płatki z pięciowalcówki szły do górnej panwi prażarki, gdzie przy stałym mieszaniu ogrzewano je do 60°C i nawilżano jednocześnie wodą i parą. W drugiej panwi temperatura miazgi była doprowadzona do 90÷100°C. Dodatek wody regulowano w ten sposób, aby ogrzewanie i poduszanie miazgi trwało co najmniej 15 minut. Koniec ogrzewania określało się zdolnością do tworzenia plačka w formie pras hydraulicznej. Zmielenie otrzymanego tym sposobem makuchu następowało najpierw w młyne makuchowym, następnie zaś na zwykłych zestawach młynskich. Półodtłuszczona mąka sojowa w znacznie mniejszym stopniu powoduje zaklejanie jedwabnych sit odsiewaczy.

Zawartość tłuszczu w makuchu sojowym z pras otwartych w przeprowadzonej próbie technicznej wynosiła 5,13%.

Metoda produkcji dezodoryzowanego śrutu sojowego

Proces dezodoryzacji połączono z parowaniem i suszeniem śrutu. Do badania wzięto oczyszczone, odłuszczone i spłatkowane ziarno. Parowanie śrutu odbywało się bezpośrednio w ekstraktorze przy użyciu pary nasyconej. Do ekstrakcji zastosowano benzynę ekstrakcyjną. Końcowa dezodoryzacja odbywała się w suszarce bębnowej w ciągu 20 minut, przy temperaturze powierzchni grzejnej około 118°C. Otrzymany śrut posiada barwę od ciemnokremowej do brunatnej. Mąka ze śrutu ma barwę kremową.

Próby nad zastosowaniem soi w przemyśle spożywczym

W czasie wykonywania pracy ustalono, że denaturacja białka w procesie odłuszczenia i dezodoryzacji jest najbardziej miarodajnym kryterium przydatności mąki sojowej jako dodatku do niektórych przetworów żywnościowych. Ustalono konieczność kontroli stopnia obróbki cieplnej dla prawidłowego wykorzystania produktu. W celu wyznaczenia zasadniczych kierunków wykorzystania soi w niektórych gałęziach przemysłu spożywczego przeprowadzono kilkanaście prób wstępnych. Próby obejmowały zastosowanie soi:

- a. w piekarnictwie,
- b. w przemyśle cukierniczym,
- c. w przemyśle środków odżywczych.

Dodatek soi w przetworach stanowił 5÷30%. Reżim technologiczny produkcji we wszystkich wypadkach pozostał niezmienny. Ponieważ wykonywane próby stanowiły pracę wstępną z tej dziedziny, więc pomijamy szczegóły.

Jak podaliśmy, zadaniem naszym było wskazanie kierunku dalszych prób zainteresowanym przemysłom.

a. Zastosowanie soi w piekarnictwie

Próby półtechniczne nad zastosowaniem mąki sojowej przeprowadzono w szkoleniowym warsztacie piekarskim Gdańskiego Zakładu Doskonalenia Rzemiosła. Mąka sojowa była bezpośrednio dodawana przy zagniataniu ciasta, a także uprzednio zaparzana. Najlepsze wyniki otrzymano z mąką półodtłuszczoną w ilości do 5% w pieczywie ciemnym.

b. Zastosowanie soi w przemyśle cukierniczym

Większość prób dotyczących zastosowania soi w cukiernictwie przeprowadzono na skalę techniczną w dwóch zakładach.

Najlepsze wyniki uzyskano w próbach zastosowania mąki sojowej półodtłuszczonej w piekarnictwie cukierniczym. Obejmowały one głównie artykuły masowej produkcji, jak herbatniki (alberty, petit beurre, markizy) i pierniki (mieszanka ludowa, mieszanka popularna, katarzynki, serca). Dodatek do mąki sojowej, zdeodoryzowanej w temperaturze 100°C, stanowił 5÷10%.

Soja pełnotłusta podprażona dała dobre wyniki w masach gryłazowych do cukierków „raczków”, „muszelek” i „gryłazowych” oraz w masach nadziewanych do czekolady nadziewanej, pralin i wafli nadziewanych. Próby miały na celu zastąpienie całej ilości lub 50% orzeszków ziemnych w tym nadzieniu.

Zastosowanie śrutu poekstrakcyjnego zdeodoryzowanego nie wpływało na własności smakowe gryłazy, okazało się jednak nieekonomiczne ze względu na konieczność większego dodatku oleju.

Wyprodukowana chałwa sojowa wymagała większego dodatku oleju, w smaku zaś ustępowała znacznie chałwie sezamowej i arachidowej.

Przeprowadzone przez racjonalizatorów obydwu zakładów próby zastosowania soi zdeodoryzowanej do produkcji czekolady wykazały możliwość zastąpienia do 30% ziarna kakaowego soją pełnotłustą.

c. Zastosowanie w przemyśle środków odżywczych

Na skalę techniczną została tylko wykonana próba zastosowania mąki sojowej do produkcji makaronu. Przy jej 5-procentowym dodatku barwa makaronu była znacznie ciemniejsza, zbliżając się do barwy makaronu „wigor”.

Przeprowadzone próby półtechniczne stwierdziły możliwość zastosowania półodtłuszczonej mąki sojowej o niskim

stopniu denaturacji białka — do zupy grochowej, fasolowej, sojowej oraz śrutu sojowego zdeodoryzowanego do produkcji hydrolizatów białkowych. Przeprowadzono również próby dodatku mąki sojowej do wędlin.

WNIOSKI Z PRZEPROWADZONYCH DOŚWIADCZEŃ

Mąka sojowa może być szeroko stosowana jako wartościowy dodatek do szeregu artykułów spożywczych. W zależności od metody produkcji otrzymujemy mąkę sojową w trzech gatunkach:

1. Mąka sojowa pełnotłusta

Produkt ten nie osiągnie szerszego rozpowszechnienia ze względu na niską trwałość. Maksymalny okres przechowywania w normalnych warunkach wynosi 3÷4 miesiące. Zdeodoryzacja w piecach kulowych „Sirocco” ograniczona jest małą ich przepustowością. Zmieszanie otrzymanego produktu i odsiewanie mąki jest utrudnione ze względu na wysoką zawartość tłuszczu.

Pełnotłusta mąka sojowa może mieć zastosowanie jedynie w przemyśle cukierniczym do produkcji gryłazy i nadzień, a także jako dodatek do arachidów i sezamu przy produkcji chałwy. Zdeodoryzacja powinna być w tym wypadku prowadzona w znacznie wyższej temperaturze dla otrzymania produktu o optymalnych własnościach smakowych i odżywczych.

2. Mąka sojowa półodtłuszczona

Mąka sojowa półodtłuszczona może być produkowana w znacznych ilościach w olejarniach tłocznych. Proces technologiczny przeróbki soi na olej i mąkę jest bardziej skomplikowany ze względu na dodatkowe operacje suszenia i tłuszczenia nasion oraz dłuższą obróbkę cieplną przed tłoczeniem. Cały proces przeróbki i zdeodoryzacji można przeprowadzić na istniejących urządzeniach. Opracowana metoda pozwala na maksymalne wydobycie tłuszczu, przez co znacznie zwiększa się trwałość mąki. Produkcja mąki sojowej półodtłuszczonej nie wymaga żadnej przeróbki aparatury fabrycznej.

3. Mąka sojowa odtłuszczona

Ekstrakcja soi metodą stosowaną obecnie w przemyśle tłuszczowym daje produkt nie nadający się do spożycia. Jak to już było szczegółowo omówione, stopień denaturacji białka pożądaną w każdym konkretnym wypadku może się znacznie wahać.

Śrut do produkcji mąki sojowej powinien pochodzić z oczyszczonych i odtłuszczonych nasion. Obróbka cieplna powinna być przeprowadzona ostrożnie w celu uniknięcia ściemnienia śrutu. Mąka ze śrutu otrzymanego przez ekstrakcję soi benzyną zawiera białko silnie zdenaturowane. Dla zapobieżenia denaturacji konieczne jest przejście na rozpuszczalnik o niższej temperaturze wrzenia, co w obecnych warunkach jest trudne do zrealizowania.

WYKAZ PISMIENNICTWA

1. Czerwiński T.: Soja. Warszawa 1951.
2. Moldenhawer K.: Agrotechnika roślin oleistych. Warszawa 1951.
3. Muszyński J., Strażewicz W.: Soja. Wilno 1933.
4. Mackiewicz Z.: Rośliny oleiste. 4 1951.
5. Morozow N. I.: Chimija sojowych bobów. Chabrin 1928.
6. Bailey, Capen, Leclerc: „Biochimia kulturowych roślin”. W. I. R. T. II 1938.
7. Osborne, Campbell: Morozow „Chimija sojowych bobów”. 1928.
8. Markley K. S.: Soybean and soybean products. Vol. I New-York 1950.
9. Block L., Mitchell: Nutrition Abstracts and Revs. 16 1946—1947.
10. Auerman E. J.: Powyszenie pizschewoj cennosti chleba. Moskwa 1946.
11. Mitchell H.: Markley „Soybean and Soybean Products” Vol. I New-York 1950.
12. Horvath A. H.: „The Soybean Industry”. New-York 1939.
13. Mitchell, Hamilton, Beadles: Markley „Soybean and Soybean Products”. Vol. I New-York 1950.
14. Kuntz M.: Markley „Soybean and Soybean Products” Vol. I New-York 1950.
15. Beckel, Bull, Hopper: J. Ind. Eng. Chem. 34. 1942.
16. Learmonth E. M.: Food Manufacture. 27. 1952.
17. Markley K. S.: Soybean and Soybean Products. Vol. II New-York 1951.
18. Leszczenko, Kasatkin Chotulew: Soja. Moskwa 1948.
19. Beckel, Belter, Smith: J. Am. Oil Chem. Soc. 25. 1948.

СОДЕРЖАНИЕ

В статье обсуждаются возможности водворения soi в пищевую промышленность в качестве источника полноценного белка. В техническом масштабе разработан ме-

тод производства дезодорированной соевой муки из целых семян, жмыха и шрота и указаны основные направления ее использования в пищевой промышленности.

SUMMARY

The authors are analysing some methods of production of deodorised soybean flour from full-fat soybeans and defatted soybean meal. Its applications in food products are also given.

This article is dealing with the possibilities of proper utilisation of soybeans in the national food industry.

W. RZĘDOWSKI

Opracowanie metod otrzymywania enzymatycznych preparatów do klarowania moszczów i win

STRESZCZENIE

Opracowano własną metodę produkcji enzymatycznych preparatów do klarowania moszczów. Otrzymane w wyniku prób laboratoryjnych i półtechnicznych preparaty wykazały dużą siłę klarującą, przewyższając pod tym względem preparaty zagraniczne.

WSTĘP

Spośród wielu metod klarowania moszczów na czołowe miejsce wysuwa się klarowanie enzymatyczne. Metoda ta osiągnęła z wielu względów technicznych (krótszy czas i lepszy efekt klarowania, większa wydajność filtrów itd.) znaczną przewagę nad innymi, np. klarowaniem żelatyną lub żelatyną i taniną. Klarowanie enzymatyczne polega głównie na enzymatycznej hydrolizie substancji pektynowych będących zasadniczą przyczyną mętności moszczów. Substancje te będące koloidem ochronnym zostają rozłożone, a przez to przy równoczesnym spadku lepkości moszczu cząstki koloidalne uprzednio zawieszone w płynie koaguluja i opadają.

Z enzymów biorących udział w klarowaniu moszczów najważniejsze są: pektaza i pektynaza. Pektaza odszczepia grupy metoksyłowe pektyny, pektynaza zaś hydrolizuje wiązania alfa 1,4-glikozydowe, wiążące reszty kwasu galakturonowego w cząsteczce pektyny. Na szybkość rozkładu pektyny przez pektynazę duży wpływ wywiera stopień estyfikacji pektyny. E. Jensen (18) stwierdził, że dodatek pektazy do pektynazy może podnieść szybkość hydrolizy pektyny 60-krotnie. Należy więc przypuszczać, że do rozszczepienia glikozydowego pektyny potrzebne są wolne grupy karboksylowe, a wobec tego klarowanie enzymatyczne wymaga obecności obu wspomnianych enzymów. Według najnowszych badań E. Schuberta (18, 19, 20) pektynaza nie jest enzymem jednolitym, lecz składa się z kilku enzymów, przy czym nie wszystkie biorą udział w klarowaniu moszczów.

Początkowo używano preparatów enzymatycznych wyłącznie do klarowania moszczów. Obecnie zakres ich stosowania rozszerzył się. Stwierdzono, że dodatek preparatu enzymatycznego do miazgi owocowej na parę godzin przed tłoczeniem znacznie podwyższa wydajność moszczu (15, 18). Oprócz tego otrzymane w ten sposób moszcze zawierają więcej substancji aromatycznych, smakowych i barwnikowych, a wina uzyskane z tych moszczów szybciej klarują się i dojrzewają, uzyskując znacznie lepsze zbukietowanie. Poza tym preparatów enzymatycznych używa się do klarowania mętnych win (4), a F. Ehrlich (5, 6) już w 1932 r. wykazał możliwość otrzymywania z preparatów pektynowych na drodze enzymatycznej kwasu d-galakturonowego, który, jak wykazano obecnie, może być substancją wyjściową do produkcji kwasu askorbinowego.

Enzymatyczne klarowanie moszczów zapoczątkował J. Takamine (4, 18), ale dopiero prace Z. Kertesza i A. Mehltza (4, 10), którzy udowodnili, że enzymy pektynowe odgrywają przy klarowaniu decydującą rolę, doprowadziły do produkcji preparatów enzymatycznych na skalę prze-

mysłową. Wykorzystano tutaj specyficzny aspekt wytwarzania enzymów pektynowych przez niektóre pleśnie. Wprawdzie liczne bakterie (np. *Bacillus pectinovorum*, *Bacterium carotovorum*) wytwarzają również znaczne ilości enzymów pektynowych, jednakże enzymy te działając najlepiej przy pH = 6÷8 nie mogą być brane pod uwagę, ponieważ kwasowość moszczów waha się w granicach pH = 3÷4. Według danych z literatury najwięcej enzymów pektolitycznych wytwarzają następujące pleśnie: *Penicillium glaucum*, *Penicillium Ehrlichii*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus aureus*, *Aspergillus wentii*, *Rhizopus tritici*. Oprócz tych specyficznych własności fizjologicznych pleśni, z których wypływa, że różne pleśnie wytwarzają różne ilości enzymów pektynowych, na ilość tworzących się enzymów wpływa pożywka. H. Phaff (4) wykazał, że tylko substancje pektynowe lub ich produkty rozkładu (kwas pektynowy, kwas d-galakturonowy), znajdujące się w pożywce, sprzyjają tworzeniu się enzymów pektolitycznych.

Spośród wielu preparatów enzymatycznych najbardziej znane i najczęściej stosowane są Pectinol i Filtragol. Metody produkcji tych preparatów strzeżone są przez patenty i nie zostały opublikowane, literatura na ten temat jest zaś skąpa i niewystarczająca dla ułożenia schematu postępowania technologicznego (2, 4). Tymczasem przemysł nasz, mając niejednokrotnie na odcinku klarowania moszczów duże trudności, stale zgłasza zapotrzebowanie na te preparaty, które służyć mu mają nie tylko do klarowania moszczów, lecz również do podniesienia ich wydajności. Z tych względów Główny Instytut Przemysłu Rolnego i Spożywczego podjął się opracowania własnej metody produkcji preparatów enzymatycznych. Badania na ten temat i wyniki poparte próbami półtechnicznymi podajemy poniżej, opisując tylko najbardziej charakterystyczne doświadczenia. Próby te szły oczywiście tylko w kierunku wykorzystania pleśni, które na odpowiednim podłożu wytwarzają enzymy pektolityczne.

BADANIA WŁASNE

Metodyka pracy

Preparaty enzymatyczne uzyskiwano przez hodowlę pleśni na odpowiednich pożywkach. Prowadzono hodowlę na pożywkach płynnych i stałych. Hodowlę na pożywkach płynnych prowadzono w kolbkach stożkowych poj. 750 ml, hodowlę zaś na pożywkach stałych — w szalkach Petriego o średnicy 20 cm. Pożywki sterylizowano przez tyndalizację. Temperatura hodowli wynosiła 32÷34°C. Czas hodowli, który wahał się od 2 do 24 dni, podawano przy każdym do-

świadczeniu. Po zakończeniu hodowli grzybnie wraz z podłożem suszono w suszarce próżniowej w temp. 40°C. Wyszuszone preparaty rozcierano w moździerzu, a następnie badano je na aktywność enzymów pektolitycznych.

Do oznaczania aktywności preparatów enzymatycznych zastosowano metodę wiskozymetryczną. Metoda ta nie jest może właściwa dla studiów kinetyki enzymów pektolitycznych, ale do określania jakości preparatów enzymatycznych jest wystarczająca i stosowana przez wielu autorów. Do pożywek i oznaczania aktywności enzymów pektolitycznych używano pektyny: „Genu — Pectin” o następujących danych:

1. wilgoć 6,4%
2. zawartość pektyny jako pektynianu wapnia — metodą Griebel-Weissa 56,5%
3. stopień zestryfikowania 74,0%

Jako substrat do pomiarów służył 0,5-procentowy roztwór wodny tej pektyny. pH tego roztworu = 3,6. Ponieważ pH niezbyt odbiegało od pH moszczów, pominięto stosowanie buforów. Do pomiarów używano wiskozymetru Ostwalda o pojemności wodnej 8 ml. Wartość wodną w sekundach podawano w odpowiednich tablicach. Temperatura pomiaru wynosiła 18°C. Do 100 ml 0,5-procentowego roztworu pektyny dodawano 3 ml 5-procentowego wodnego wyciągu enzymatycznego badanego preparatu. Pomiary lepkości wykonywano bezpośrednio po zmieszaniu roztworu pektyny z wyciągiem enzymatycznym, a później po upływie 2, 5, 24 godzin — 2 i 4 dni. Celem porównywania wyników zmian lepkości (szczególnie z wiskozymetrów o różnych wartościach wodnych) obliczano tzw. „liczbę hydrolizy” pektyny ze wzoru

$$\text{liczba hydrolizy} = \frac{V_a - V}{V_a - V_0} \times 100$$

gdzie:

V_a — czas wypływu w sek. roztw. pektyny bez dodatku enzymów

V — czas wypływu w sek. roztw. pektyny + wyciąg enzymatyczny po 5 godzinach działania

V_0 — czas wypływu w sek. roztw. pektyny + wyciąg enzymatyczny po całkowitej hydrolizie pektyny

Oprócz metody wiskozymetrycznej badano moc klarującą preparatów enzymatycznych na moszczach różnego pochodzenia. Schubert (18, 19) podaje, że zmiany lepkości roztworu pektyny nie zawsze pokrywają się z efektem klarowania moszczów. Metoda ta dawała więc praktyczną aktywność enzymatyczną uzyskiwanych preparatów. Do prób klarowania używano moszczów z jabłek określonej odmiany jak również jabłek mieszanych — przemysłowych. Prócz tego w kilku wypadkach używano także moszczów porzeczkowych, truskawkowych i agrestowych. Próby klarowania moszczów wykonywano następująco: do cylindra nalewano 100 ml świeżo wyciśniętego moszczu, dodawano preparatu enzymatycznego w ilości 0,1 g (w niektórych wypadkach stosowano zmienne dawki), dobrze mieszano i pozostawiono w temperaturze 18÷20°C. Czas, po którym zaobserwowano wyraźne skłaczenie się (koagulację) zawieszonych cząstek w moszczu, był miarą aktywności badanego preparatu.

DOŚWIADCZENIA

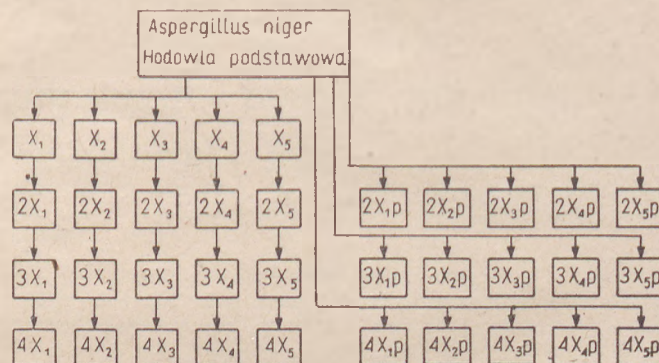
Najpierw starano się uchwycić wpływ rodzaju pożywki, a w tym głównie składników węglowodanowych i azotowych na ilość wytworzonych enzymów pektolitycznych przez pleśń *Aspergillus niger*. Wybrano do doświadczeń od razu ten gatunek pleśni, bowiem tą pleśnią przeważnie posługiwali się inni autorzy. Poza tym starano się stwierdzić, czy istnieje możliwość przystosowania się pleśni do podłoża zawierającego pektynę w kierunku wytwarzania przez nią enzymów pektolitycznych (patrz schemat doświadczenia). Najpierw prowadzono hodowle na pożywkach płynnych. Przy układaniu pożywek za podstawę wzię-

to pożywkę Wehmera (2). Skład stosowanych pożywek na 1 litr był następujący:

Zawartość wg	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅
Glikoza	100	—	100	—	30
Pektyna	—	30	—	30	20
NaNO ₃	2,8	2,8	—	—	—
Pepton	—	—	10	10	10
KH ₂ PO ₄	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7

Czas hodowli wynosił 21 dni. Ilość pożywki w każdej hodowli wynosiła 250 ml.

Schemat doświadczenia przedstawia się następująco:



Otrzymane preparaty badano następnie na aktywność enzymów pektolitycznych (tablica 1 i 2).

Tablica 1

Zmiany lepkości roztworu pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych

Wiskozymetr o wartości wodnej 14,6 sek. Czas wypływu 0,5-procentowego roztworu pektyny 61,9 sek

lp.	Nr preparatu enzymatycz.	Czas wypływu w sekundach						Liczba hydrolizy po 5 godz
		bezp. po zmiesz.	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach	
1	X ₁	60,0	58,2	55,0	52,1	48,0	45,2	14,7
2	2X ₁	59,6	57,5	55,5	53,3	52,0	48,5	13,6
3	3X ₁	59,8	57,2	54,7	50,6	47,8	45,0	15,3
4	4X ₁	59,7	57,8	54,5	50,7	46,7	43,2	15,7
5	2X _{1p}	60,0	57,4	55,1	51,2	49,1	44,0	14,5
6	3X _{1p}	59,8	57,0	54,2	49,6	46,2	42,8	16,4
7	4X _{1p}	60,9	57,6	54,7	49,3	46,0	42,5	15,3
8	X ₂	59,0	43,6	33,4	18,5	16,8	15,7	60,6
9	2X ₂	57,0	30,5	21,4	16,8	15,9	15,5	56,2
10	3X ₂	56,0	25,5	18,5	15,7	15,4	15,3	92,3
11	4X ₂	53,4	19,6	17,6	15,6	15,0	14,9	94,3
12	2X _{2p}	56,8	42,6	33,0	18,2	16,1	15,4	61,5
13	3X _{2p}	58,0	45,0	34,2	18,5	16,9	15,8	58,9
14	4X _{2p}	58,4	41,6	31,2	17,8	15,9	15,5	65,3
15	X ₃	59,2	48,1	39,9	30,0	26,8	21,7	46,8
16	2X ₃	58,0	48,5	40,2	29,0	26,3	23,9	46,2
17	3X ₃	58,6	50,2	41,7	32,5	28,1	23,6	43,0
18	4X ₃	58,5	47,9	39,6	31,0	27,7	23,1	47,4
19	2X _{3p}	59,0	48,2	40,5	31,6	27,5	22,8	45,5
20	3X _{3p}	59,1	50,0	41,5	32,3	28,2	23,0	43,4
21	4X _{3p}	58,6	48,2	40,0	30,3	27,1	22,3	44,7
22	X ₄	57,2	45,5	32,8	18,9	16,6	15,8	61,9
23	2X ₄	57,5	29,0	20,2	15,9	15,7	15,5	88,7
24	3X ₄	56,0	21,0	17,2	15,6	15,0	14,9	95,1
25	4X ₄	54,0	19,2	16,3	15,1	14,9	14,9	97,0
26	2X _{4p}	56,0	50,9	40,5	31,7	23,3	19,2	32,8
27	3X _{4p}	57,6	46,5	35,7	21,8	18,3	16,3	55,5
28	4X _{4p}	8,0	48,5	37,2	24,2	19,1	16,0	52,5
29	X ₅	58,8	49,1	41,1	29,0	19,1	16,9	44,3
30	2X ₅	58,4	32,5	23,0	17,3	16,5	15,5	82,8
31	3X ₅	58,0	24,5	17,5	15,8	15,3	15,0	94,5
32	4X ₅	56,8	22,0	17,0	15,6	15,1	14,9	95,5
33	2X _{5p}	59,5	51,9	47,2	32,6	23,9	20,6	31,3
34	3X _{5p}	59,3	50,2	45,2	30,8	22,1	19,0	35,5
35	4X _{5p}	59,6	48,9	42,1	28,8	20,8	17,6	42,1

Próby klarowania moczku jabłkowego

Odmiana jabłek: Pięknę z Bcskoop. Wartość wodna wiskozymetru 14,6 sek.
Czas wypływu moczku jabłkowego 132,0 sek

Lp.	Nr preparatu enzymatycz.	Ilość dodanego prep. g/ml	Efekt działania prep. enzymatycznego	Czas wypływu po 24 godz
1	2X ₁	0,1/100	moczek nie sklarował do 24 godz	119,0
2	2X ₃	0,1/100	moczek nie sklarował do 24 godz	83,2
3	3X _{3,p}	0,1/100	moczek nie sklarował do 24 godz	80,6
4	4X ₂	0,1/100	moczek zaczyna klarować po 2 godz 30 min	22,3
5	4X ₄	0,1/100	moczek zaczyna klarować po 2 godz	22,4
6	3X ₃	0,1/100	moczek zaczyna klarować po 3 godz	22,5
7	2X ₄	0,1/100	moczek zaczyna klarować po 12 godz	22,6
8	X ₃	0,1/100	moczek nie sklarował do 24 godz	74,6
9	4X ₂	0,05/100	moczek zaczyna klarować po 6 godz	22,4
10	4X ₄	0,05/100	moczek zaczyna klarować po 6 godz	22,6
11	4X ₄	0,025/100	moczek zaczyna klarować po 20 godz	22,2

Z tablic 1 i 2 wynika, że wytwarzanie enzymów pektolitycznych przez *Asp. niger* uzależnione jest w olbrzymiej mierze od obecności w pożywce substancji pektynowych. Dalej widać, że parokrotne przeszczipianie pleśni na pożywkę zawierającą pektynę daje dobre rezultaty. Pleśń przyzwyczajona do środowiska wytwarza coraz więcej enzymów pektolitycznych. Prócz tego trzeba zauważyć, że poza źródłem węgla również źródło azotu w pożywce ma duże znaczenie dla tworzenia się enzymów pektolitycznych. Ogólnie można powiedzieć, że pleśń przy hodowli na odpowiednio dobranej pożywce może dać preparaty o znacznej aktywności enzymów pektolitycznych.

Następnie przeprowadzono podobne doświadczenie na pożywkach stałych. Do prób użyto: otrąb pszennych, otrąb żytnich, wyłóków jabłkowych i marchwi. Chodziło tutaj o wprowadzenie do produkcji preparatów enzymatycznych materiału najtańszego, a więc takiego, jaki reprezentują wyżej podane produkty odpadowe przemysłu rolno-spożywczego. Jako pożywek używano bądź tych substancji bez dodatków, bądź też z dodatkami peptonu, pektyny względnie pektyny i peptonu łącznie. Czas hodowli wynosił 8 dni. Skład przygotowanych pożywek z powyższych substancji obrazuje poniższe zestawienie

a ₁	40 g otr. psz. + 40 ml wody
a ₂	40 g otr. psz. + 6 g pekt. + 45 ml wody
b ₁	40 g młóta + 40 ml wody
b ₂	40 g młóta + 6 g pekt. + 45 ml wody
b ₃	40 g młóta + 6 g pekt. + 6 g pept. + 50 ml wody
c ₁	40 g wysł. + 40 ml wody
c ₂	40 g wysł. + 4 g pept. + 45 ml wody
d ₁	40 g otr. jęczm. + 40 ml wody
d ₂	40 g otr. jęczm. + 6 g pekt + 40 ml wody
e ₁	40 g otr. żytn. + 40 ml wody
e ₂	40 g otr. żytn. + 6 g pekt. + 45 ml wody
f ₁	40 g wyłł. jabłk. + 40 ml wody
f ₂	40 g wyłł. jabłk. + 6 g pept. + 45 ml wody
g ₁	40 g utartej marchwi
g ₂	40 g utartej marchwi + 4 g pept.
g ₃	40 g utartej marchwi + 4 g pept. + 4 g pektyny

Wyniki doświadczenia przedstawiają tablice 3 i 4.

Zmiany lepkości roztworu pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych

Wiskozymetr o wartości wodnej 13,8 sek. Czas wypływu 0,5-procentowego roztworu pektyny 59,0 sek

Lp.	Nr preparatu enzymatycz.	Czas wypływu w sekundach						Liczba hydrolizy po 5 godz
		bezp. po zmiesz.	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach	
1	a ₁	58,9	45,5	34,3	18,4	16,5	15,0	55,1
2	a ₂	58,2	32,7	20,7	15,9	14,6	14,2	85,6
3	b ₁	58,6	50,5	39,9	19,7	16,2	14,5	42,6
4	b ₂	58,3	43,2	29,4	16,5	15,4	14,6	66,1
5	b ₃	52,6	22,6	14,8	14,3	14,2	14,2	98,7
6	c ₁	56,0	58,1	26,0	16,3	15,8	15,0	73,7
7	c ₂	45,8	14,9	14,3	14,2	14,2	14,2	99,8
8	d ₁	60,0	54,0	43,5	22,5	17,2	15,9	34,6
9	d ₂	58,6	47,0	36,5	18,5	15,6	14,7	50,2
10	e ₁	58,8	50,0	41,1	20,3	16,5	15,4	40,0
11	e ₂	58,5	39,2	28,6	17,6	15,6	14,7	67,8
12	f ₁	58,8	55,7	54,5	52,2	48,6	46,9	10,0
13	f ₂	53,1	24,1	15,9	14,3	14,2	14,2	96,9

Tablica 4

Zmiany lepkości roztworu pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych

Wiskozymetr o wartości wodnej 19,3 sek. Czas wypływu 0,5-procentowego roztworu pektyny 81,9 sek

Lp.	Nr preparatu enzymatycz.	Czas wypływu w sekundach						Liczba hydrolizy po 5 godz
		bezp. po zmiesz.	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach	
1	g ₁	79,9	71,0	68,2	57,0	46,6	35,5	22,0
2	g ₂	78,2	64,3	40,0	22,4	20,2	19,8	67,4
3	g ₃	71,6	36,2	24,0	20,6	19,7	19,7	93,1

Tablica 5

Próby klarowania moczku jabłkowego

Odmiana jabłek: Malinowa Oberlandzka. Wartość wodna wiskozymetru 14,6 sek. Czas wypływu moczku jabłkowego 57,0 sek. Ilość dodanego preparatu 0,1 g/100 ml

Lp.	Nr preparatu enzymatycz.	Efekt działania prep. enzymatycznego	Czas wypływu	
			po 24 godz	po 48 godz
1	a ₁	moczek zaczyna klarować po 24 godz	20,5	20,1
2	a ₂	moczek zaczyna klarować po 14 godz	20,0	
3	b ₁	moczek zaczyna klarować po 48 godz		
4	b ₂	moczek zaczyna klarować po 24 godz	20,6	
5	b ₃	moczek zaczyna klarować po 4 godz 30 min	19,6	
6	c ₁	moczek zaczyna klarować po 10 godz	20,1	30,5
7	c ₂	moczek zaczyna klarować po 1 godz 15 min	19,2	
8	d ₁	moczek nie sklarował		
9	d ₂	moczek zaczyna klarować po 48 godz		20,2
10	e ₁	moczek zaczyna klarować po 48 godz		20,5
11	e ₂	moczek zaczyna klarować po 24 godz	20,6	
12	f ₁	moczek nie sklarował		
13	f ₂	moczek zaczyna klarować po 7 godz 30 min	20,0	
14	g ₁	moczek nie sklarował		
15	g ₂	moczek zaczyna klarować po 24 godz		

Wyniki klarowania potwierdzone zostały także na moczczach porzeczkowym i agrestowym.

Jak widać z powyższych tablic, istnieje bardzo duża zależność pomiędzy ilością wytwarzanych enzymów pektolitycznych a rodzajem pożywki. Badając pożywki bez żadnych dodatków najlepsze rezultaty osiągnięto przy hodowli *Aspergillus niger* na wysłódkach. Jeśli chodzi o wpływ dodawanych substancji do podłoża tj. pektyny i peptonu, to trzeba zauważyć, że dodatek pektyny do podłoża nie zawierającego, względnie zawierającego ten składnik w małych ilościach, jak np. młóta, otręby, marchew jak również dodatek peptonu do wysłódków buraczanych lub wyłóków jabłkowych zawierających znów mało substancji białkowych, a dużo pektynowych, wpływa ogromnie na ilość tworzących się w czasie hodowli pleśni — enzymów pektolitycznych.

litycznych. Wyniki te pokrywają się całkowicie z wynikami doświadczenia przeprowadzonego na pożywkach płynnych. Sumując powyższe wyniki trzeba stwierdzić, że najlepszą pożywką okazały się wysłodki buraczane z dodatkiem peptonu. Wybrano więc te wysłodki jako pożywkę do dalszych doświadczeń.

Pleśń *Aspergillus niger*, jak widać z dotychczasowych doświadczeń, wytwarza w odpowiednich warunkach znaczną ilość enzymów pektolitycznych. Chcąc się jednak przekonać, jak pod tym względem zachowują się inne gatunki pleśni, postanowiono przebadać: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus oryzae*. Hodowle prowadzono na wysłódkach z dodatkiem peptonu. Wyniki ilustrują tablice 6 i 7.

Tablica 6
Zmiany lepkości roztworu pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych
Viskozymetr o wartości wodnej 22,4 sek. Czas wypływu 0,5-procentowego roztworu pektyny 94,4 sek

Lp.	Preparat enzymatyczny z hodowli	Czas wypływu w sekundach						Liczba hydrolizy po 5 godz
		bezp. po zmiesz.	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach	
1	<i>Aspergillus flavus</i>	86,2	45,4	38,5	27,3	25,2	23,3	77,8
2	<i>Aspergillus fumigatus</i>	80,0	29,5	27,0	23,7	23,0	22,7	83,8
3	<i>Aspergillus wentii</i>	82,1	39,5	30,5	24,0	22,8	22,7	89,0
4	<i>Aspergillus niger</i>	65,2	23,1	22,8	22,6	22,6	22,6	99,7
5	<i>Aspergillus oryzae</i>	82,4	42,2	33,6	25,2	23,3	22,9	84,4

Tablica 7
Próby klarowania moszczu jabłkowego
Odmiana jabłek: Reneta Lansberska. Ilość dodanego preparatu: 0,1 g 100 ml

Lp.	Preparat enzymatyczny z hodowli	Efekt działania preparatu enzymatycznego
1	<i>Aspergillus flavus</i>	moszcz zaczyna klarować po 10 godz
2	<i>Aspergillus fumigatus</i>	„ „ „ „ 2 g. 50 min
3	<i>Aspergillus wentii</i>	„ „ „ „ 4 godz
4	<i>Aspergillus niger</i>	„ „ „ „ 55 min
5	<i>Aspergillus oryzae</i>	„ „ „ „ 6 g. 50 min

Z tablic tych wynika, że *Aspergillus niger* w warunkach wyrównanych dla wszystkich pleśni wytwarza największe ilości enzymów pektolitycznych. Inne pleśnie układają się pod tym względem w następującej kolejności: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus oryzae* i *Aspergillus flavus*.

W następnych doświadczeniach zajęto się sprawą ustalenia najodpowiedniejszych warunków hodowli. Przede wszystkim przebadano wpływ czasu hodowli na ilość wytwarzanych enzymów pektolitycznych. Z doświadczeń tych wynika, że przy hodowli *Aspergillus niger* tak na pożywkach płynnych jak i stałych już po 2—3 dniach osiąga się maksimum wytworzonych enzymów pektolitycznych (liczba hydrolizy 99,8). W miarę przedłużania czasu hodowli ilość enzymów pektolitycznych zaczyna maleć, przy czym przy pożywkach płynnych spadek ilości enzymów jest silniejszy niż przy pożywkach stałych (po 19 dniach liczba hydrolizy przy pożywkach płynnych wynosi 58,8, przy pożywkach stałych 99,4).

Następnie zajęto się sprawą nawilgocenia pożywki. Dotychczas do pożywek stałych dodawano wody w stosunku 1:1. Tutaj przebadano zmienne ilości wody i wykazano, że stosunek wody do pożywki 1:1 jest wystarczający i najbardziej odpowiedni.

Również rozpracowano zagadnienie ustalenia optymalnej temperatury hodowli pleśni *Aspergillus niger* na wysłódkach. Stwierdzono, że w zakresach temp. 30—40°C wzrost pleśni następuje szybko i ilość wytwarzanych enzymów pektolitycznych w tych warunkach hodowli w ciągu 3 dnia jest maksymalna.

Następnie zastosowano do hodowli wysłodki różnego pochodzenia z 3 cukrowni. Chodziło o przekonanie się, czy

nie zachodzi różnica w ilości tworzących się enzymów pektolitycznych na wysłódkach różnego pochodzenia. Doświadczenia wykazały, że zasadniczo w warunkach wyrównanych aktywność preparatów enzymatycznych nie zależy od pochodzenia użytych do hodowli wysłódków buraczanych.

Dotychczas jako pożywki azotowej do wysłódków dodawano peptonu. Jednakże dodatek peptonu z różnych względów, zwłaszcza na skalę techniczną, jest niekorzystny. Dlatego też przeprowadzono doświadczenie, którego celem było wyszukanie innej substancji jako pożywki azotowej. Do badań wzięto następujące związki nieorganiczne azotu: NaNO_3 , NH_4NO_3 , NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Składy stosowanych pożywek ilustruje poniższe zestawienie:

1	40 g wysł. + 2 g NaNO_3 + 50 ml wody
2	40 g wysł. + 2 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 50 ml wody
3	40 g wysł. + 2 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 50 ml wody
4	40 g wysł. + 2 g NH_4NO_3 + 50 ml wody
5	40 g wysł. + 2 g NH_4Cl + 50 ml wody
6	40 g wysł. + 0,1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 50 ml wody
7	40 g wysł. + 0,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 50 ml wody
8	40 g wysł. + 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 50 ml wody
9	40 g wysł. + 1,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 50 ml wody
10	40 g wysł. + 3 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 50 ml wody
11	40 g wysł. + 5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 50 ml wody
12	40 g wysł. + 0,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 50 ml wody
13	40 g wysł. + 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 50 ml wody
14	40 g wysł. + 1,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 50 ml wody
15	40 g wysł. + 3 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 50 ml wody
16	40 g wysł. + 1,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 50 ml wody
17	40 g wysł. + 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 50 ml wody
18	40 g wysł. + 1,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 0,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 50 ml wody

Wyniki przedstawiają tablice 8, 9 i 10.

Tablica 8
Zmiany lepkości roztworu pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych
Viskozymetr o wartości wodnej 19,3 sek. Czas wypływu 0,5-procentowego roztworu pektyny 82,1 sek

Lp.	Nr preparatu enzymatycz.	Czas wypływu w sekundach						Liczba hydrolizy po 5 godz
		bezp. po zmiesz.	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach	
1	1	63,6	34,2	23,2	20,3	19,9	19,7	94,4
2	2	58,0	22,0	21,0	19,9	19,8	19,7	97,9
3	3	56,3	22,6	21,4	19,9	19,8	19,7	97,1
4	4	68,0	22,7	21,6	20,0	19,6	19,7	96,9
5	5	69,6	36,4	24,0	20,6	19,9	19,7	89,9
6	6	72,4	39,8	29,8	21,4	20,0	19,8	83,8
7	7	69,7	30,2	24,1	20,2	20,0	19,8	92,9
8	8	64,0	24,1	22,5	20,0	19,8	19,7	95,5
9	9	63,2	22,6	21,1	19,8	19,7	19,7	97,7
10	10	59,6	23,0	21,2	19,8	19,7	19,7	97,6
11	11	56,2	23,2	21,6	19,9	19,8	19,7	96,9

Tablica 9
Zmiany lepkości roztworu pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych
Viskozymetr o wartości wodnej 22,2 sek. Czas wypływu 0,5-procentowego roztworu pektyny 94,4 sek

Lp.	Nr preparatu enzymatycz.	Czas wypływu w sekundach						Liczba hydrolizy po 5 godz
		bezp. po zmiesz.	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach	
1	12	83,1	40,0	28,4	23,1	22,8	22,6	91,9
2	13	79,6	32,5	24,8	23,0	22,8	22,6	95,7
3	14	76,4	25,6	23,6	22,7	22,6	22,6	98,6
4	15	78,0	26,8	23,7	22,8	22,6	22,6	98,4
5	16	81,0	62,1	49,3	30,0	26,6	25,0	62,8
6	17	74,0	25,2	23,7	22,6	22,7	22,6	98,4
7	18	74,0	25,4	23,4	22,7	22,6	22,7	98,6

Tabela 10

Próby klarowania moszczu jabłkowego

Odmiana jabłek: Reneta Landsberska. Ilość dodanego preparatu: 0,1 g/100 ml

Lp.	Nr preparatu enzymatycznego	Efekt działania prep. enzym.
1	1	moszcz zaczyna klarować po 3 godz 30 min
2	2	" " " " 1 " 30 "
3	3	" " " " 2 " 20 "
4	4	" " " " 2 " 40 "
5	5	" " " " 12 " "
6	7	" " " " 4 " "
7	8	" " " " 3 godz 20 min
8	9	" " " " 2 " "

Jak wynika z tablic, doświadczenie to wykazało, że nieorganiczne związki azotowe, wymienione powyżej, nie są równocennymi pożywkami azotowymi. Najlepszymi okazały się związki: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ i $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Najgorszą pożywką był NH_4Cl . Okazało się dalej, że optymalną dawką jest około 4% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ względnie $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Poza tym, jak widać z tablic, stosując związki nieorganiczne azotu zamiast peptonu osiąga się gorsze rezultaty.

Idąc dalej w poszukiwaniu odpowiedniego źródła azotu zastosowano pożywki mieszane — to jest wysłodki + otręby pszenne. Wprawdzie wysłodki zawierają stosunkowo duży procent substancji białkowych (około 11%), jednak białka te są białkami nierozpuszczalnymi, a przez to trudno przyswajalnymi przez pleśń. Otręby pszenne zaś posiadają nie tylko więcej białka (około 15%), ale białko to jest w dużej mierze białkiem rozpuszczalnym, a więc łatwiej przyswajalnym. Z doświadczenia tego wynika, że pożywki mieszane: wysłodki + otręby pszenne dają znacznie lepsze wyniki niż wysłodki, względnie otręby pszenne użyte oddzielnie. Stwierdzono, że w kombinacjach: 66% wysłódoków + 33% otrąb (liczba hydrolizy 93,6), 50% wysłódoków + 50% otrąb (liczba hydrolizy 93,8) lub 33% wysłódoków + 66% otrąb (liczba hydrolizy 93,3) otrzymuje się wyniki prawie jednakowe.

Dotychczas wysuszone preparaty (grzybnia z podłożem) rozcierano w moździerzu porcelanowym. Celem przekonania się, jaki wpływ wywiera stopień rozdrobnienia preparatów enzymatycznych na ich siłę klarującą, przeprowadzono doświadczenie zmieniając stopień rozcierania w moździerzu. Okazało się, że stopień rozdrobnienia nie ma znaczącego wpływu na aktywność enzymów pektolitycznych. Wzięty dla porównania preparat nierozdrabniany miał tylko nieznacznie mniejszą aktywność enzymów pektolitycznych (liczba hydrolizy 99,5) od preparatów rozdrobnionych (liczba hydrolizy 99,8). Poza tym przekonano się, że preparaty enzymatyczne (z prób półtechnicznych), mielone na młynku tartarowym (żelaznym), nie różniły się w swej aktywności enzymatycznej od preparatów rozcieranych w moździerzu porcelanowym.

Następnie zajęto się sprawą suszenia preparatów. Chodziło o zastąpienie suszarki próżniowej suszarką zwykłą i wypośredkowanie najodpowiedniejszej temperatury suszenia. Stwierdzono, że preparaty można suszyć tak w suszarce próżniowej, jak i zwykłej, przy czym jednak czas suszenia w suszarce zwykłej jest znacznie dłuższy (żeby uzyskać jednakowo suche preparaty). Jako optymalną temperaturę suszenia w suszarce zwykłej ustalono 40°C (liczba hydrolizy 99,8); w temperaturach wyższych zaczyna się częściowa inaktywacja enzymów (temp. 50°C — liczba hydrolizy 95,0).

Z kolei zajęto się sprawą wpływu pH na wytwarzanie przez *Aspergillus niger* enzymów pektolitycznych. Prowadzono w tym celu hodowlę na wysłódkach z dodatkiem peptonu. Zmiany pH substratu osiągnęto przez dodatek HCl względnie NaOH. Przy pH = 1,3 w ogóle nie zachodził wzrost grzybnia, natomiast w granicach od 3+7,8 grzybnia rosta normalnie. Nie zaobserwowano w tych warunkach znaczącego wpływu pH na ilość wytwarzanych enzymów pektolitycznych przez *Asp. niger*.

Uzyskane preparaty posiadały w mniejszym lub większym stopniu zapach i smak grzybnia, które przechodziły do klarowanego moszczu. Wobec tego opracowano metodę mającą na celu usunięcie tych wad organoleptycznych z preparatów. Przede wszystkim wykorzystano tutaj fakt, że enzymy względnie preparaty enzymatyczne w stanie

suchym (o zawartości wodnej do 10%) są bardziej odporne na temperaturę niż enzymy znajdujące się w ośrodku wodnym oraz fakt, że zapachowe substancje w preparatach enzymatycznych pod działaniem wyższych temperatur łatwo się ulatniają. Aby zastosować działanie wyższych temperatur dla usuwania substancji zapachowych i smakowych z preparatów, sprawdzono najpierw jak dalece enzymy pektolityczne w preparatach suchych odporne są na temperaturę. W tym celu ogrzewano preparaty (z hodowli na wysłódkach z peptonem) w różnych temperaturach (60÷+110°C) i przez różny okres czasu (10 min do 1 godz.), a następnie określano ich aktywność enzymatyczną. Kontrolowano także ubytek wody w preparatach podczas suszenia i straty te uwzględniano przy sporządzaniu wyciągu enzymatycznego.

Wyniki przedstawiają tablice 11 i 12.

Tabela 11

Zmiany lepkości roztworu pektyn pod działaniem preparatów enzymatycznych

Wiskozymetr o wartości wodnej 19,3 sek. Czas wypływu 0,5-procentowego roztworu pektyny 82,1 sek

Lp.	Temperatura i czas ogrzewania preparatu °C min	Czas wypływu w sekundach					Liczba hydrolizy po 5 godz
		bezp. po zmiesz.	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach
1	80/10	58,4	21,8	20,1	19,7	19,7	99,4
2	90/10	58,2	22,2	20,2	19,7	19,7	99,2
3	100/10	58,0	22,3	20,4	19,7	19,7	98,9
4	110/10	58,3	21,9	20,5	19,8	19,7	98,7
5	60/15	50,4	20,5	20,0	19,7	19,7	99,5
6	70/15	56,7	20,5	20,0	19,7	19,7	99,5
7	80/15	54,5	22,5	20,3	19,8	19,7	99,0
8	90/15	58,4	22,6	20,0	19,7	19,7	99,2
9	100/15	57,2	22,6	20,4	19,8	19,7	98,9
10	110/15	54,5	23,0	20,6	19,9	19,7	98,5
11	60/20	55,0	21,1	20,0	19,7	19,7	99,5
12	70/20	54,0	20,7	19,8	19,7	19,7	99,8
13	80/20	51,6	20,6	19,9	19,7	19,7	99,7
14	90/20	54,5	21,3	20,1	19,7	19,7	99,4
15	100/20	56,2	22,0	20,3	19,8	19,7	99,0
16	110/20	56,8	22,3	20,5	19,9	19,7	98,7
17	60/30	49,8	22,0	20,0	19,7	19,7	99,5
18	70/30	53,4	21,2	20,2	19,7	19,8	99,2
19	80/30	55,0	21,6	20,4	19,8	19,7	98,9
20	90/30	54,3	22,4	20,5	19,9	19,7	98,7
21	100/30	57,2	23,0	20,6	20,0	19,8	98,5
22	110/30	59,8	23,4	20,8	19,8	19,7	98,2

Tabela 1

Próby klarowania moszczu jabłkowego

Odmiana jabłek: Reneta Landsberska. Ilość dodanego preparatu: 0,1 g/100 ml

Lp.	Temp. i czas ogrzewania prep. °C min	Efekt działania preparatu enzymatycznego
1	100/10	moszcz zaczyna klarować po 1 godz 10 min
2	100/15	" " " " 1 " 10 "
3	110/15	" " " " 1 " 20 "
4	60/30	" " " " 1 " "
5	80/30	" " " " 1 " "
6	110/30	" " " " 1 " 25 "
7	70/60	" " " " 1 " 5 "
8	100/60	" " " " 1 " 20 "

Jak widać z powyższych tablic, temperatura 100÷110°C nawet przez okres 1 godz. nieznacznie tylko wpływa na zmniejszenie się aktywności enzymów pektolitycznych w preparatach. Moszcze klarowane preparatami, które stosowano w temperaturze 100 i 110°C przez 30 min., posiadały już tylko w nieznacznym stopniu zapach i posmak grzybnia. Należy tutaj zauważyć, że preparaty z hodowli na wysłódkach z peptonem nadawały klarowanemu moszczowi w nasilniejszym stopniu zapach i posmak grzybnia. Inaczej przedstawia się sprawa z preparatami wyprodukowanymi z wysłódków mieszanych z otrębami pszennymi, lub z wysłódków z dodatkiem $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. W tym przypadku zapach i posmak preparatu był dużo mniejszy, a wpływ temper-

tury całkowicie skuteczny. Klarowane moszcze nie nabierały już żadnego ubocznego smaku czy zapachu grzybni. Prócz tego okazało się, że można także usuwać z preparatów obcy zapach i smak przez dodatek węgla aktywnego. Najpierw wykonano doświadczenie, którego celem było wyjaśnienie w jakim stopniu węgiel aktywny absorbuje enzymy pektolityczne. Wyniki przedstawia tablica 13.

Tablica 13

Zmiany lepkości roztworu pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych

Wiskozymetr o wartości wodnej 19,3 sek. Czas wypływu 0,5-procentowego roztworu pektyny 82,1 sek

Lp.	Preparat enzymatyczny	Czas wypływu w sekundach						Liczba hydro- lizej po 5 godz
		bezp. po zmiesz	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach	
1	bez węgla aktywnego	55,2	20,6	19,8	19,7	19,7	19,7	99,7
2	1 % węgla aktywnego	54,1	20,4	19,9	19,7	19,7	19,7	99,7
3	3 % węgla aktywnego	52,6	22,5	20,0	19,8	19,7	19,7	99,5
4	3 % węgla 1 godz	52,4	22,6	19,8	19,7	19,7	19,7	99,8

Jak widać węgiel aktywny nie wpływa na zmianę aktywności enzymów pektolitycznych. Analiza organoleptyczna moszczów pozostających w zetknięciu z preparatami enzymatycznymi przez 24 godz. wykazała, że preparaty, do których był dodawany węgiel aktywny, nie wpływały na zmianę aromatu i smaku klarowanego moszczu. Z przeprowadzonych na ten temat dalszych doświadczeń wynikało, że węgiel aktywny w ilości 0,5% (w przeliczeniu na preparat enzymatyczny) usuwa całkowicie zapach i smak grzybni z preparatu.

Poprzednio wykazano, że optimum tworzenia się enzymów pektolitycznych przez pleśń *Aspergillus niger* przypada w drugim lub trzecim dniu hodowli. Zauważono przy tym, że w tym czasie grzybnia jeszcze nie zarodnikuje. Mimo tego, jak to stwierdzono w próbach półtechnicznych, hodowle starano się prowadzić w takich warunkach, aby konieczny dla produkcji enzymów wzrost grzybni zakończyć przed zarodnikowaniem stosując odpowiednią temperaturę i odpowiedni dopływ powietrza. W tych warunkach uzyskiwane preparaty na ogół nie posiadały zarodników pleśni. Jednakże, żeby sprawdzić, czy w warunkach przyjętego klarowania nie zachodzi zakażenie moszczów, przeprowadzono następujące doświadczenie: po sklarowaniu moszczu i jego przesączeniu przeprowadzano wysiew na 10 szalek Petriego z brzożką agarową. Szalki umieszczano w temperaturze w temp. 25° i po 3 dniach stwierdzano, że ilość wyrosłych kolonii pleśni nie przekracza ilości kolonii otrzymanych z wysiewu surowego moszczu. Prócz tego sklarowany moszcz rozlewano do flaszek i przeprowadzano ich pasteryzację w temp. 80° przez 15 min., w temp. 75° przez 30 min. i w temp. 75°C przez 15 min. W wyniku tego doświadczenia nie stwierdzono po upływie kilku miesięcy przechowywania flaszek w temp. 20°C żadnych zmian wskazujących na jakiegokolwiek zakażenia.

Następnie zajęto się sprawą przenoszenia enzymów pektolitycznych na obojętny substrat. Pierwotnym zamiarem tej próby było pozbycie się w ten sposób smaku i zapachu grzybni oraz usunięcie ewentualnie utworzonych w czasie hodowli zarodników. Po uzyskaniu jednak konkretnych wyników opisanych poprzednio doświadczenie to postanowiono wykonać nie tyle w celu wyżej podanym, ile w celu przekonania się, jak w ogóle sprawa przenoszenia enzymów wygląda w praktyce laboratoryjnej, bowiem tym sposobem — jak to przebadano — można dojść do preparatów o bardzo wysokiej sile klarującej. Doświadczenie przeprowadzano następująco: sporządzono najpierw z preparatu wyciąg wodny stosując podwójną ekstrakcję (1 część prep. + 4 części wody). Takim wyciągiem, zadanym poprzednio węglem aktywnym (w ilości 3% licząc na prep. enz.) i przesączonym, napajano trociny sosnowe

(uprzednio dobrze wymyte i wysuszone w 100°C) i suszono w temp. 40°C.

Pomijając już sprawę, że takie preparaty były wolne od smaku i zapachu grzybni, jak też wykluczały ewentualność zakażeń klarowanych moszczów — preparaty okazały się nieco słabsze pod względem aktywności enzymatycznej od preparatu wyjściowego mimo tego, że stosunek ilości trocin do ilości preparatu enzymatycznego w postaci wyciągu wodnego wynosił 1 : 1. Dopiero preparaty na trocinach otrzymane z 1,5 razy większej ilości preparatu wyjściowego, osiągały ich aktywność. Jednakże to doświadczenie, jak podano powyżej, prowadzi do otrzymania preparatów wzmocnionych o dużo większej sile enzymatycznej niż preparaty wyjściowe.

Nasuwać się tutaj dwie drogi postępowania:

1) podgęszczanie wodnych wyciągów enzymatycznych w próżni i przenoszenie ich na obojętny substrat (trociny, ziemia okrzemkowa itd.),

2) wytrącanie alkoholem (96-procentowym) enzymów pektolitycznych z wyciągu wodnego niepodgęszczonego lub lepiej podgęszczonego jak powyżej, odsączenie powstałego osadu, wysuszenie go, zmielenie na delikatny proszek i w końcu stosowanie go bezpośrednio jako bardzo intensywnego preparatu enzymatycznego lub rozpuszczenie go w małej ilości wody i przeniesienie na odpowiedni substrat.

Jak tej pierwszej drogi nie można było wypróbować z powodu braku pompy próżniowej, tak drugi sposób wykonano i otrzymano bardzo dobre rezultaty.

Celem lepszego i szybszego sklarowania moszczu wielu autorów zaleca dodatek żelatyny do preparatów enzymatycznych. Postanowiono więc sprawę tę przebadać dla preparatu otrzymanego z hodowli *Aspergillus niger* na wyśłodkach z dodatkiem $(NH_4)_2SO_4$. Do tego preparatu dodawano żelatynę w ilości 5 i 10% w przeliczeniu na preparat (przygotowywano 10-procentowy roztwór żelatyny i napajano nim preparat enzymatyczny — a następnie suszono i rozcierano). Do klarowania użyto preparatów:

- 1) wysłodki + $(NH_4)_2SO_4$
- 2) " " "
- 3) " " 5% żelatyny
- 4) " " 10% żelatyny
- 5) " " 5% żelatyny
- 6) " " 10% żelatyny

Preparaty nr 2, 5 i 6 przed dodaniem do moszczu ogrzewano z niewielką ilością moszczu przez pół godziny w temperaturze 40°C. Wyniki klarowania moszczów przedstawia tablica 14.

Tablica 14

Próby klarowania moszczu jabłkowego

Odmiana jabłek: jabłka mieszane. Ilość dodanego preparatu: 0,1 g/100 ml

Lp.	Nr preparatu enzymatycznego	Efekt działania preparatu enzymatycznego
1	1	moszcz zaczyna klarować po 2 godz 20 min
2	2	" " " " 2 " 10 "
3	3	" " " " 2 " 20 "
4	4	" " " " 2 " 10 "
5	5	" " " " 2 "
6	6	" " " " 1 " 40 "

Jak widać z powyższej tablicy preparat z dodatkiem 10% żelatyny uprzednio ogrzany z małą ilością moszczu do 40° powodował dość znaczne skrócenie czasu klarowania.

Celem dalszego doświadczenia było stwierdzenie wpływu dłuższego czasu przechowywania preparatu enzymatycznego na aktywność enzymów pektolitycznych. 150 g preparatu enzymatycznego o zawartości 10,4% wody pozostawiono w słoiku szklanym (z ciemnego szkła) na przeciąg jednego roku, określając co pewien czas jego aktywność enzymatyczną. Wyniki zebrane są w tablicy 15.

Zmiany lepkości roztworu pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych

Wiskozymetr o wartości wodnej 22,2 sek. Czas wypływu 0,5-procentowego roztworu pektyny 94,4 sek

Lp.	Preparat enzymatyczny	Czas wypływu w sekundach						Liczba hydrolizy po 5 godz
		bezp. po zmiesz.	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach	
1	Bezp. po wyprod	69,6	23,2	22,8	22,6	22,7	22,6	99,7
2	1 m-c	68,2	23,4	22,9	22,7	22,5	22,6	99,5
3	3 m-ce	65,2	23,8	22,8	22,6	22,6	22,7	99,7
4	9 m-cy	70,8	23,5	22,9	22,6	22,7	22,6	99,5
5	1 rok	70,6	23,9	23,1	22,7	22,7	22,6	99,3

Z powyższych liczb wynika, że preparat po upływie roku wykazał tylko bardzo nieznaczny spadek aktywności enzymatycznej.

Preparaty enzymatyczne stosuje się także do zwiększenia wydajności moszczu z owoców. Wykonano więc następujące doświadczenie z preparatem uzyskanym z hodowli na wysłódkach z siarczanem amonu: 4 kg jabłek podzielono na dwie partie. Jedną partię (2 kg) po zmieleniu tłoczono natychmiast na ręcznej laboratoryjnej prasie koszoowej i uzyskano przy tym 1050 ml moszczu. Do miazgi z drugiej partii (2 kg) dodano 5 g preparatu enzymatycznego, dobrze wymieszano i pozostawiono na 2 godz. w temperaturze pokojowej, a następnie tłoczono. Otrzymało 1350 ml moszczu. Tłoczenie w tym wypadku było znacznie łatwiejsze i szybsze, a poza tym uzyskany moszcz ulegał po pewnym czasie już samoczynnemu sklarowaniu. Moment ten jest ważny dla praktyki fabrycznej, bowiem przez jednorazowe użycie preparatu enzymatycznego można uzyskać jednocześnie zwiększenie wydajności moszczu i jego sklarowanie. Sprawę tę należy jednak przebadac na warsztacie fabrycznym.

Dalsze badania poświęcono klarowaniu mętnych win. Aby odpowiedzieć na pytanie, czy preparaty enzymatyczne mogą klarować mętne wina — konieczne było przede wszystkim przekonanie się, jak alkohol etylowy wpływa na aktywność enzymów pektolitycznych. W tym celu wykonano pomiary aktywności enzymów pektolitycznych na roztworach pektyny (0,5%) z różną zawartością alkoholu (0,5÷20%). Do takich alkoholowych roztworów pektyny dodawano wyciągu enzymatycznego z preparatu (wysiódki + + pepton) i wykonywano pomiary lepkości. Wyniki przedstawiają tablice 16 i 17.

Tablica 16

Zmiany lepkości alkoholowych roztworów pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych

Lp.	% alkoholu w roztworze pektyny	Czas wypływu w sekundach					
		bezp. po zmiesz.	po 2 godz	po 5 godz	po 24 godz	po 2 dniach	po 4 dniach
1	0	71,2	24,8	22,9	22,6	22,6	22,6
2	0,5	66,0	25,1	23,1	23,0	22,9	22,9
3	1	65,8	25,2	23,6	23,4	23,2	23,2
4	2	70,0	25,5	24,3	23,9	23,9	23,9
5	3	76,2	28,3	25,2	24,8	24,7	24,7
6	4	77,4	28,5	26,3	25,6	25,5	25,5
7	5	75,6	29,5	27,1	26,4	26,3	26,3
8	6	81,2	30,5	27,9	27,3	27,0	27,0
9	7	84,3	30,9	28,8	28,0	27,9	27,9
10	8	89,0	37,1	30,0	28,9	28,7	28,7
11	10	92,6	39,5	32,5	30,8	30,6	30,5
12	12	97,4	43,5	35,4	32,7	32,3	32,3
13	14	102,3	47,1	39,0	34,5	34,2	34,2
14	16	112,6	52,6	42,2	36,5	36,2	36,0
15	18	127,0	60,8	47,2	38,6	38,0	37,0
16	20	140,5	64,7	53,8	41,8	40,6	39,6

Poza tym wykonano próby klarowania moszczów jabłkowych, do których dodawano alkoholu etylowego 0,5÷20%. Czas klarowania moszczów nieznacznie przedłużył się przy wyższych stężeniach alkoholu i wynosił np. dla moszczu z 7% alkoholu — 1 godz. 10 min., z 12% alko-

Dane wiskozymetryczne

Lp.	% alkoholu	Czas wypływu wody z alkoholem	Czas wypływu 0,5-procentowego alkohol. roztw. pektyny	Lp.	% alkoholu	Czas wypływu wody z alkoholem	Czas wypływu 0,5-procentowego alkohol. roztw. pektyny
1	0	22,2	94,4	9	7	27,4	114,2
2	0,5	22,5	95,5	10	8	28,2	118,6
3	1	22,8	96,8	11	10	30,0	126,2
4	2	23,5	99,0	12	12	31,8	134,8
5	3	24,3	103,2	13	14	33,6	142,0
6	4	25,1	106,0	14	16	35,4	152,6
7	5	25,9	109,8	15	18	37,2	161,2
8	6	26,6	111,5	16	20	39,0	180,8

Tablica 17

Liczby hydrolizy po 5 godzinach (do tablicy 16)

Lp.	% alkoholu	Liczba hydr.	Lp.	% alkoholu	Liczba hydr.
1	0	99,6	9	7	98,9
2	0,5	99,7	10	8	98,5
3	1	99,4	11	10	97,9
4	2	99,5	12	12	97,0
5	3	99,4	13	14	95,5
6	4	99,0	14	16	94,7
7	5	99,0	15	18	92,4
8	6	98,9	16	20	89,9

holu — 1 godz. 30 min., gdy dla moszczu bez alkoholu — 1 godz. Jak widać z tych doświadczeń jak również z wyników zebranych w tablicach, alkohol etylowy wywiera tylko nieznaczny wpływ na aktywność enzymów pektolitycznych i nie powinien być wobec tego przeszkodą przy hydrolizie związków pektynowych, powodujących ewentualnie mętność win.

Wobec takich rezultatów przystąpiono do klarowania win mętnych. Ogółem przebadano 29 win wyprodukowanych z różnych surowców. Do win tych dodawano preparatu enzymatycznego w ilości 0,1 i 0,2% i pozostawiano w temperaturze 18°C przez przeciąg 6 dni, obserwując efekt klarowania.

Poza tym wykonywano pomiar lepkości przed klarowaniem i po klarowaniu. Na ogólną ilość 29 win 7 uległo sklarowaniu, przy czym czas klarowania wahał się od 18 godzin do 3 dni. Fakt, że nie wszystkie wina uległy sklarowaniu, należy tłumaczyć tym, że koloidem powodującym ich zmętnienie nie jest wyłącznie pektyna, lecz w przeważającej części substancje innego charakteru. W winach, które ulegały sklarowaniu, stwierdzono spadek lepkości pod wpływem enzymów pektolitycznych, natomiast w winach pozostałych nie zauważono ani spadku lepkości, ani też sklarowania.

Wyprodukowane preparaty enzymatyczne poddano na koniec analizie chemicznej. Celem tej analizy było stwierdzenie, jaka część składników preparatu enzymatycznego przechodzi do klarowanego moszczu.

a. analiza preparatu enzymatycznego wyprodukowanego na podłożu wysiódki + siarczan amonu.

1. wilgoć	8,5 %
2. części nierozpuszczalne	50,7 %
3. części rozpuszczalne	40,8 %
4. popiół ogólny w suchej masie	5,97%
5. popiół rozp. w suchej masie	3,44%
6. białko ogólne w suchej masie met. Kjeldahla	20,35%
7. białko rozp. w suchej masie met. Kjeldahla	11,15%
8. cukry redukujące metodą Bertranda	nie stwierdzono

b. analiza preparatu enzymatycznego wyprodukowanego na podłożu: wysiódki + otręby pszenne.

1. wilgoć	8,6 %
2. części nierozpuszczalne	59,6 %
3. części rozpuszczalne	31,8 %
4. popiół ogólny w suchej masie	5,22%
5. popiół rozpuszczalny w suchej masie	2,75%

6. białko ogólne w suchej masie met. Kjeldahla	16,54%
7. białko rozpuszczalne w suchej masie met. Kjeldahla	5,82%
8. cukry redukujące met. Bertranda	ślady

Ponieważ preparatu enzymatycznego dodaje się do moszczu bardzo małe ilości, a mianowicie 0,1%, zatem części rozpuszczalne preparatu będą stanowiły znikomy procent w klarowanym moszczu (około 0,03%) i nie mogą mieć zupełnie wpływu na skład moszczu.

Także ilość alkoholu metylowego w moszczu sklarowanym, który powstaje przez deestryfikację pektyny pod działaniem preparatów enzymatycznych, jest, jak wyliczono, znikoma (około 0,03%).

Próbkę preparatu enzymatycznego (200 g) wysłano do Centralnego Zarządu Przemysłu Owocowo-Warzywnego, który pozytywnie ocenił jego jakość.

Po zakończeniu prób laboratoryjnych przeprowadzono próbę produkcji preparatów enzymatycznych na skalę półtechniczną. Jako substratu użyto wysłodków z dodatkiem:

- otrąb pszennych,
- siarczanu amonu,
- siarczanu amonu + fosforan amonowy.

Hodowlę prowadzono w szafie fermentacyjnej, używanej do fermentacji cytrynowej, w warunkach ustalonych w próbach laboratoryjnych. Ogółem wyprodukowano 30 kg preparatu enzymatycznego. Próba półtechniczna całkowicie potwierdziła wyniki laboratoryjne.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przed przystąpieniem do omówienia wyników poszczególnych doświadczeń — na wstępie konieczne jest poruszyć kwestię pomiarów aktywności enzymów pektolitycznych. Otóż należy przede wszystkim zaznaczyć, że przy porównywaniu poszczególnych liczb hydrolizy roztworu pektyny otrzymuje się obraz jakościowy, a nie ilościowy, to znaczy na podstawie tego można tylko stwierdzić, że jeden preparat jest lepszy, a drugi gorszy, a nie ile razy dany preparat posiada więcej enzymów pektolitycznych niż drugi. Wiąże się to bowiem z faktem, że hydroliza pektyny nie przebiega równomiernie od początku do końca, lecz na początku szybkość jej jest znacznie większa niż przy końcu. Tak więc podwyższenie np. liczby hydrolizy z 80 na 90 będzie wymagało obecności o wiele większej ilości enzymów w danym preparacie niż podwyższenie z 20 na 30. Do klarowania moszczów używano jabłek różnego pochodzenia (długi okres wykonywania prac). Poszczególne odmiany jabłek, jak również te same jabłka, zależnie od roku zbioru, mogą posiadać różną zawartość pektyny i co za tym idzie, moszcz z nich otrzymany pod wpływem jednakowej dawki preparatu enzymatycznego może ulegać wcześniejszemu lub późniejszemu sklarowaniu. Dlatego też czasami ten sam preparat może sklarować jeden moszcz wcześniej, a drugi później.

Badania wykazały, że jednym z najważniejszych momentów przy produkcji preparatów enzymatycznych jest wy-

bór odpowiedniej pożywki. Okazało się, że pleśń wytwarza enzymy pektolityczne w większej ilości, o ile w podłożu znajduje się substancja pektynowa. Wpływ pektyny na ilość wytworzonych enzymów został stwierdzony na pożywkach płynnych i stałych. W związku z tym spośród szeregu przebadanych pożywek stałych jako podłoża dla rozwoju pleśni okazały się najlepsze:

- wysłodki z dodatkiem peptonu,
- wysłodki z dodatkiem 5% siarczanu amonu,
- wysłodki z dodatkiem 33% otrąb pszennych.

W technice mogą mieć zastosowanie wysłodki z siarczanem amonu lub wysłodki z otrębami pszennymi.

Okazało się, że spośród przebadanych pleśni najlepszą pleśnią wytwarzającą największą ilość enzymów jest *Aspergillus niger*, znajdujący się w Głównym Instytucie Przemysłu Rolnego i Spożywczego.

Czas hodowli powinien wynosić około 3 dni — w każdym razie należy hodowlę przerwać przed zarodnikowaniem rozwijającej się grzybni, co najlepiej można regulować odpowiednim dopływem powietrza do komory hodowlanej. Parametry, jak stopień nawilgocenia pożywki, temperatura hodowli, pH pożywki w dość szerokich granicach nie mają większego wpływu na ilość wytworzonych enzymów pektynowych i dadzą się łatwo wyregulować.

Suszenie preparatów można przeprowadzać w suszarni o ciągłym przepływie powietrza w temp. do 40°C. Zapach i smak grzybni z preparatów można stosunkowo łatwo usunąć przez ogrzewanie ich w temp. 100°C przez okres 15÷30 min., albo przez dodatek węgla aktywnego w ilości 0,5÷1%, albo wreszcie przez współdziałanie obu tych czynników razem.

Poza tym badania wykazały możliwość przenoszenia enzymów pektolitycznych (w postaci wyciągu wodnego) na obojętny substrat (np. trociny drzewne). Sprawa ta ma szerokie znaczenie ze względu na możliwość produkowania preparatów o dużej sile klarującej.

Otrzymane preparaty tak z prób laboratoryjnych, jak i półtechnicznych wykazały znaczną siłę klarującą. Preparat dodany w ilości 1 g/l klaruje moszcz jabłkowy w czasie 1,5÷3 godz. w temp. 18÷20°C. Jakość preparatu jest wysoka i przewyższa pod tym względem preparaty zagraniczne, jak Filtragol czy Pectinol, które klarują moszcze w tych samych warunkach po upływie 10÷14 godz.

Doświadczenie nad wpływem alkoholu na aktywność enzymów pektolitycznych wykazało, że alkohol etylowy w stężeniach 0,5÷20% nie wpływa wyraźnie na aktywność enzymów pektolitycznych, jednakże przy klarowaniu mętnych win preparaty nasze mogą mieć tylko ograniczone zastosowanie.

Profesorowi Drowi Franciszkowi Nowotnemu wyrażam wdzięczność i podziękowanie za cenne rady i wskazówki udzielane mi w czasie przeprowadzania badań, Magister Inż. Krystynie Piller — za pomoc laboratoryjną w wykonywaniu analiz.

WYKAZ PIŚMIENICTWA

- Ballman H., Matus J., Deuel H., Weber F.: Activity of pectinases Chem. Abstr. 41 i 2455, 1947.
- Bamann E., Myrbäck K.: Die Methoden der Fermentforschung. Teil II, III Lipsk — 1941 r.
- Besone J., Cruess W. V.: Observations on the use of pectic enzymes in wine making. Chem. Abstr. 41 — 7645, 1947.
- Charley V. L. S.: Recent advances in fruit juice production Londyn 1950.
- Ehrlich F.: Über die Pektolase, ein neu aufgefundenes Pektiniferment I. Biochem. Z. 250 — 525. 1932.
- Ehrlich F.: Über die Pektolase, ein neu aufgefundenes Pektiniferment II. Biochem. Z. 251 — 204. 1932.
- Gaßmann E., Böhni E.: Adaptive enzymes in parasitic fungi Chem. Abstr., 41, 2770. 1947.
- Gaßmann E., Böhni E.: Adaptive enzymes in parasitic fungi II. Chem. Abstr. 48, 1329. 1948.
- Hauptmann K. H.: Warum ferment — Gelatine Behandlung in Süßmost? Flüssiges Obst. 8, 354. 1952.
- Mehlitz A.: Ein neues Verfahren zur Herstellung von Fruchtsäften, Süßmoste, u. dgl. Allgm. Deutsche Konserven. Zeitung „Die Konserven - Industrie“ 17. — 306. 321. 1930.
- Mehlitz A., Scheuer M.: Die Veränderung d. Fruchtsäfte bei der spontanen Klärung und enzymatischen Behandlung mit Filtrationsenzymen. Biochem. Z. 268 — 345. 1934 r.
- Mehlitz A., Scheuer M.: Zur Kenntnis u. Bestimmung der Pektolasewirkung von Filtrationsenzymen. Biochem. Z. 268 — 355. 1934.
- Mehlitz A., Maass H.: Neue Untersuchungen über die Spontanklärung und die Klärung mit Filtrationsenzymen Biochem. Z. 276 — 66. 1935.
- Mehlitz A., Maass H.: Der Einfluss von Gerbstoff auf die Pektolasewirkung von Filtrationsenzymen. Biochem. Z. 276 — 86. 1935.
- Mehlitz A.: Süßmost. Braunschweig 1940.
- Nord F., Weidenhagen R.: Handbuch der Enzymologie 1940.
- Saburov N. W., Antonow M. W.: Chranlenie i pierierabotka plodow i owoszczew. Moskwa 1951.
- Schubert E.: Über die Beurteilung von Filtrationsenzymen Schweiz. Brauerei Rundschau 3, 39. 1951.
- Schubert E.: Über die Beurteilung von Filtrationsenzymen II Schweiz. Brauerei Rundschau 4, 66. 1951.
- Schubert E.: Welche Rolle spielen die einzelnen Pektinasekomponenten bei der enzymatischen Saftklärung Schweiz. Brauerei Rundschau 2. 22. 1952.
- Weber F., Deuel H.: Über die Kinetik des enzymatischen Pektinabbaus. Bemerkungen zur Arbeit von. G. Weitnauer Helv. Chim. Acta 29. 1872. 1946.

СОДЕРЖАНИЕ

Настоящая работа имела целью разработать метод производства энзимных препаратов для осветления сусла. Было использовано свойство некоторых плесней производить пектолитические энзимы. Исследовав целый ряд плесней, обнаружено, что самое большое количество пектиновых энзимов производимо плесенью *Aspergillus niger*. Кроме того установлено, что количество производимых плесенью пектолитических энзимов зависит от наличия пектиновых веществ в среде. Из большого количества исследованных посторонних продуктов сельскохозяйственной промышленности лучшей средой оказался жом сахарной свеклы с добавлением азотных веществ в виде пептона или $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. В дальнейших опытах были установлены оптимальные условия выращивания, т. е.: время, количество содержащей воды в среде и способ высушивания

среды с выращенным на ней мицелиум. Был разработан метод удаления из препаратов запаха и вкуса мицелиум, путём нагревания их в температуре $100-110^\circ\text{C}$ в течение 15—30 минут. Был разработан тоже метод пересадки энзимов на нейтральный субстрат. Энзимные препараты полученные путём лабораторных и полутехнических опытов проявляли значительную энзимную активность; при дозе 1 грамм/1 литр при температуре 18°C они осветляли яблочные сусла в течение от 1 часа 30 минут до 3 часов. Добавка 2 грамм препарата на 1 кило мезги значительно повышала производительность сусла из яблок (до 14%). Кроме того исследования доказали, что полученные энзимные препараты осветляют также некоторые мутные вина.

SUMMARY

It has been the aim of this work to elaborate a method of producing enzyme preparations for the clarification of fruit juices. Use has been made of the capacity shown by certain kinds of mould to produce pectin degrading enzymes. It was proved that of the several investigated kinds of mould, the one which produces most pectin degrading enzymes is the mould *Aspergillus niger*. It was also ascertained that the quantity of the pectin degrading enzymes produced by the mould depends on the presence of pectin substances in the substratum. Of the many investigated by — products of the agricultural industry to be the best ones have proved the residuum of sugar beets with an addition of nitrous substrates, namely of pepton or of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Later experiments helped to establish the best conditions for growth, as: the time, the quantity of the contained water in the substratum and how to dry the substratum together with the

grown mycelium. A method to remove the smell and taste of the mycelium from the preparations has been worked out: it consists in heating the latter, at a temperature of $100-110^\circ\text{C}$, during 15 to 30 minutes. There has been also elaborated a method of transplanting enzymes into a neutral substratum. Enzyme preparations obtained in laboratory and semitechnical experiments have shown a considerable enzyme activity: when the doses was 1 gramm per 1 litre and the temperature amounted to 18°C they clarified apple juices within one hour and a half to three hours. An addition of 2 gramms of the preparation to 1 kilogram of the pulp increased in a considerable degree the productivity of the apple juice (up to 14%). Besides, our investigations have shown that the obtained enzyme preparations are also fit to clarify some of the turbid wines,

Z. RYBAKOW, ST. MALINOWSKI

Badanie polskiego olejku miętowego oraz opracowanie metody oczyszczania i zastosowania

STRESZCZENIE

W niniejszej pracy oznaczono stałe fizyczne i chemiczne polskiego olejku miętowego, który oczyszczono przez destylację z parą wodną ze środowisk o różnym pH i otrzymano produkt dobry jakościowo, odpowiedni do zastosowania w przemyśle spożywczym i kosmetycznym.

WSTĘP

W ostatnich latach uprawa roślin *Mentha* została podjęta na szeroką skalę we wszystkich częściach świata. Najpoważniejszym producentem olejku miętowego do niedawna była Japonia, eksportująca olejek naturalny i tzw. olejek płynny otrzymany po wymrożeniu mentolu. Obecnie na czoło producentów wysuwa się Związek Radziecki i Ameryka.

Równoległe z rozwojem hodowli prowadzone są prace nad otrzymywaniem gatunków mięty o jak największej zawartości mentolu, a więc zbliżonej do gatunku mięty japońskiej — *Mentha arvensis*, w której zawartość mentolu sięga 90%.

Olejek miętowy otrzymuje się drogą destylacji z parą wodną nadziemnej części rośliny, tzn. liści, łodyg i kwiatów; zbioru dokonuje się w miesiącach lipcu—sierpniu. Co do okresu wegetacji rośliny, który jest najodpowiedniejszy do zbioru, zdania są podzielone.

W celu wyjaśnienia przeprowadzono szereg badań nad tworzeniem się mentolu w roślinie; wykazały one, że ilość mentolu wzrasta równoległe ze wzrostem rośliny. Bacon, Jenisson, Kremers (1) zakładali, że mentol powstaje z obecnego w roślinie mentenonu, a stadium pośrednim jest menton.

Pogląd ten został potwierdzony doświadczeniami. Przeprowadzone badania nad zawartością mentonu i mentolu w czasie wzrostu rośliny wykazały wzrost mentolu przy jednoczesnym ubytku mentonu.

Na podstawie doświadczeń stwierdzono, że największą wydajność olejku otrzymuje się poddając destylacji rośliny w początkowym okresie kwitnienia (2), co ilustruje tablica 1.

Tablica 1

	Mięta przed kwitnięciem	Mięta w początk. okresie kwitnienia	Mięta w okresie pełnego kwitnienia	Mięta bez kwiatu
Wydajność olejku w % na suchą subst.	0,6	0,79	0,44	0,88
Ogółem zawartość mentolu	41,34	46,02	39,44	41,16

Na ogół wydajność olejku waha się w granicach 0,1–1% wagi ziela; zależy ona w dużym stopniu od warunków klimatycznych i glebowych. Większą wydajność osiąga się przy destylacji surowca przesuszonego. Wtedy otrzymuje się olejek gatunkowo lepszy. Tłumaczy się to tym, że pewne związki żywiczne, które zawarte są w roślinie, w czasie suszenia ulegają utlenieniu tlenem powietrza, przechodząc w związki nielotne i nie ulegają destylacji z parą wodną.

Otrzymany olejek, w przeciwieństwie do olejku z ziela surowego, nie ulega tak szybko ściemnieniu w czasie przechowywania.

Ponieważ roślina mięty w poszczególnych krajach nie jest tym samym rodzajem botanicznym i własności olejków są różne, badanie danych fizyko-chemicznych nie pozwala ustalić pochodzenia olejku. Jedynym kryterium do oceny olejku jest jego smak i zapach.

Olejek miętowy jest prawie bezbarwnym płynem lekko zabarwionym na żółto (lub zielonkawo), o przyjemnym zapachu i chłodzącym długo utrzymującym się smaku; przy starzeniu staje się ciemniejszy i gęstszy. Zawartość alkoholi uietych jako $C_{10}H_{20}O$, określona przez acetylowanie, waha się od 48 do 68%, a w olejku japońskim osiąga nawet 91%; zawartość ketonów obliczona na menton mieści się w granicach 9–30%. Oznaczenia te wystarczają częściowo do handlowej oceny olejku miętowego. Bardzo często olejek zawiera szereg składników, które psują jego jakość; ogólne chemiczne dane nie dają jednakże wskazówek co do obecności tych naturalnych zanieczyszczeń. Dalsze szczegółowe badania chemiczne pozwalają na zorientowanie się w rodzaju tych domieszek; poznanie ich natury chemicznej pozwala na znalezienie metody usunięcia ich. Zazwyczaj są to domieszki występujące w bardzo drobnych ilościach, tak że ściśle ich oznaczenie chemiczne jest wyjątkowo trudne i, o ile sądzić z danych literaturowych, nigdzie nie wykonywane. Badanie organoleptyczne w praktyce w zupełności wystarcza.

Skład chemiczny olejku miętowego jest bardzo skomplikowany; jest to mieszanina szeregu związków chemicznych, które w większości występują w bardzo małych ilościach.

Czy skład chemiczny olejku miętowego jest w równym stopniu zależny od warunków klimatycznych i glebowych jak i jego własności fizyko-chemiczne, trudno powiedzieć, gdyż prace badawcze nad olejkami rośliny *Mentha* w różnych krajach nie są jednakowo zaawansowane.

Materiałem, nad którym prowadzono badania, był olejek miętowy krajowej produkcji, dostarczony przez Centralę Zielarską. Zgodnie z danymi Centrali Zielarskiej badany olejek pochodził z destylacji pierwszego i drugiego gatunku mięty pieprzowej; zbioru surowca dokonano w r. 1950; przeciętna wydajność olejku w czasie destylacji wynosiła 1% w przeliczeniu na suche ziele (w tym olejek I gatunku ziół destylował z wydajnością 1,2–1,3%, II gatunku 0,8–0,9%). Natomiast pora zbioru ziela jak też jego odmiana pozostały nieznane.

Wobec powyższego z góry narzucały się wątpliwości, że wyniki badań posiadać będą charakter orientacyjny.

Olejek ten był cieczą koloru żółtozielonego o silnym, ale niezbyt przyjemnym zapachu. Jego własności chemiczne i fizyczne mieściły się w granicach podanych w literaturze

dla olejku polskiego i olejków pochodzenia zagranicznego (3) i wynosiły:

$$d^{15} = 0,9072; n_D^{20} = 1,4620; (\alpha)_D^{20} = -28,3^\circ \text{C}$$

Liczba kwasowa	= 0,76
Mentol w postaci estrów	8 %
Mentol wolny	48,90%
Mentol całkowity	57 %
Zawartość mentonu	25,60%

Oznaczenia te zostały dokonane na aparaturze i metodami powszechnie stosowanymi w dziedzinie olejków eterycznych.

Badanie chemiczne oparte zostało na wydzieleniu z olejku poszczególnych grup chemicznych, przy wyzyskaniu ich własności (jak kwasy, alkohole, aldehydy i ketony) i dalszej analizie tych grup.

Przez wytrząsanie 2-procentowym roztworem sody wydzielono wolne kwasy. Ze względu na małą ilość otrzymaną barwną masę poddano analizie metodą chromatograficzną na bibule (4). W tym celu zastosowano bibulę produkcyjną krajowej przemysłowej 1-procentowym roztworem kwasu szczawiowego. Jako fazę mobilną zastosowano alkohol etylowy, nasycony wodą z dodatkiem amoniaku. Mieszaninę kwasów, otrzymaną po odpędzeniu eteru, przeprowadzono w mieszaninę soli amonowych. Czas rozwijania chromatogramu — 7 godz. W tych warunkach otrzymano 3 plamy o wartościach $R_F = 0,3, 0,4$ i $0,55$. Wartość $R_F = 0,3$ jest zbliżona do wartości podanej w literaturze a odpowiadającej kwasowi octowemu ($0,33$). Pozostałe plamy nie zostały zidentyfikowane z powodu braku danych. Analizę chromatograficzną utrudniał brak odpowiedniej bibuły.

Wydzielenie alkoholi I- i II-rzędowych dokonano metodą podaną przez Stephana (5), a polegającą na estryfikacji alkoholi bezwodnikiem ftalowym. Otrzymaną frakcję alkoholową poddano wymrozeniu otrzymując stały mentol i część ciekłą, którą następnie rozdestylowano pod próżnią. Otrzymamy mentol po przesublimowaniu miał następujące stałe fizyczne: t. t. $38-39^\circ \text{C}$, $n_D^{20} = 1,4452$, $(\alpha)_D^{20} = -45,27^\circ \text{C}$ w alkoholu.

Tabela 2

Frakcjonowana destylacja alkoholi olejku miętowego

Nr frakcji	Temperatura wrzenia $^\circ \text{C}$	p mm Hg	n_D^{20}	d_{20}	Ciężar g
1	82—90	13	1,4568	—	2,4
2	90—93	„	1,4583	—	6,52
3	93—95	„	1,4591	0,9073	11,1
4	95—98	„	1,4602	0,9032	8,2
5	98—102	„	1,4441	(60)	4,8
Pozostałość			1,4443 (60)	—	6,28
Straty					3,9
					43,2

Z destylacji frakcjonowanej ciekłej części alkoholu otrzymano 5 frakcji (tabl. 2). Analiza stałych fizycznych poszczególnych frakcji nie pozwoliła określić bliżej ich składu chemicznego. Jedynie w wypadku frakcji 5, która wykrywała w odbieralniku i topiła się w temperaturze $38-39^\circ$, można było przypuszczać, że w skład frakcji alkoholowej wchodzi mieszanina dl- i l-mentolu. Poszczególne frakcje poddano estryfikacji przy pomocy kwasu 3,5-dwinitro-benzoesowego i otrzymano estry o temperaturze topnienia $152-153^\circ$ w wypadku frakcji 2 i $152,5-153^\circ$ w wypadku frakcji 3.

Temperatura topnienia estrów otrzymanych z frakcji 2 i 3 oraz stałe fizyczne tych frakcji pozwalają przypuszczać obecność l-mentolu i minimalne ilości d-neomentolu. W identycznych warunkach otrzymano ester z frakcji 5, który po przekrystalizowaniu topił się w temperaturze $137-141^\circ$. Na podstawie stałych fizycznych frakcji 5 oraz temperatury topnienia estru kwasu 3,5-dwinitro-benzoesowego przyjęto, że frakcja ta stanowi mieszaninę dl- i l-mentolu.

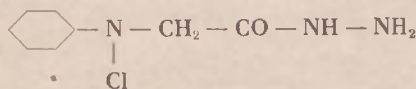
Olej po wydzieleniu kwasów i alkoholi I- i II-rzędowych zawierał prawdopodobnie następujące grupy związkowe: aldehydy, ketony i węglowodory. Dalszym więc etapem pracy było wydzielenie związków z grupą karbo-

nylową. W tym celu można było zastosować znane metody oparte na reaktywności tej grupy chemicznej, a mianowicie:

- 1) Wydzielenie jako oksymów przez reakcję z hydroksylaminą,
- 2) jako połączenia addycyjne z kwaśnym siarczynem sodu.

Ponieważ chodziło nam jednak o kompletne wydzielenie mieszaniny aldehydów i ketonów, metody te nie mogły znaleźć zastosowania. W pierwszym przypadku szereg oksymów ketonów terpenowych jest cieczami, inne ketony terpenowe tworzą się po długim gotowaniu z roztworem hydroksylaminy i to nie ilościowo. Druga metoda również nie mogła być zastosowana z uwagi na fakt, że nie wszystkie ketony terpenowe reagują z bisulfitem (np. menton).

Dlatego też przy wydzieleniu aldehydów i ketonów zastosowano metodę ogłoszoną przez Girarda i Sandulesco (6). Metoda ta ma tę kolosalną przewagę, że pozwala na kompletne przeprowadzenie związków karbonylowych do fazy wodnej, a więc na łatwe oddzielenie pozostałych składników olejku. Polega ona na tworzeniu się łatwo rozpuszczalnych pochodnych hydrazidu N-chloro-N-pirydylooctowego.



Frakcja aldehydowo-ketonowa, wydzielona z olejku przy pomocy tego odczynnika, została poddana frakcjonowanej destylacji. Otrzymane frakcje poddano badaniu własności fizycznych; oznaczono współczynniki refrakcji. Gęstość ze względu na małe ilościowo frakcje oznaczono tylko dla frakcji 4 i 6. Pomiaru skręcalności nie dokonywano z następującego powodu: do momentu wydzielenia ketonów analizowany olejek przechodził szereg operacji (alkalicznych i kwaśnych) wobec czego ketony mogły ulec kilkukrotnej i kilkustopniowej inwersji i wielkości uzyskane z pomiaru skręcalności nie charakteryzowałyby istotnego stanu. Uzyskane dane dla frakcji ketonowo-aldehydowej badanego olejku podane są w tabl. 3 i przedstawione na wykresie I.

Tabela 3

Frakcjonowana destylacja ketonów olejku miętowego

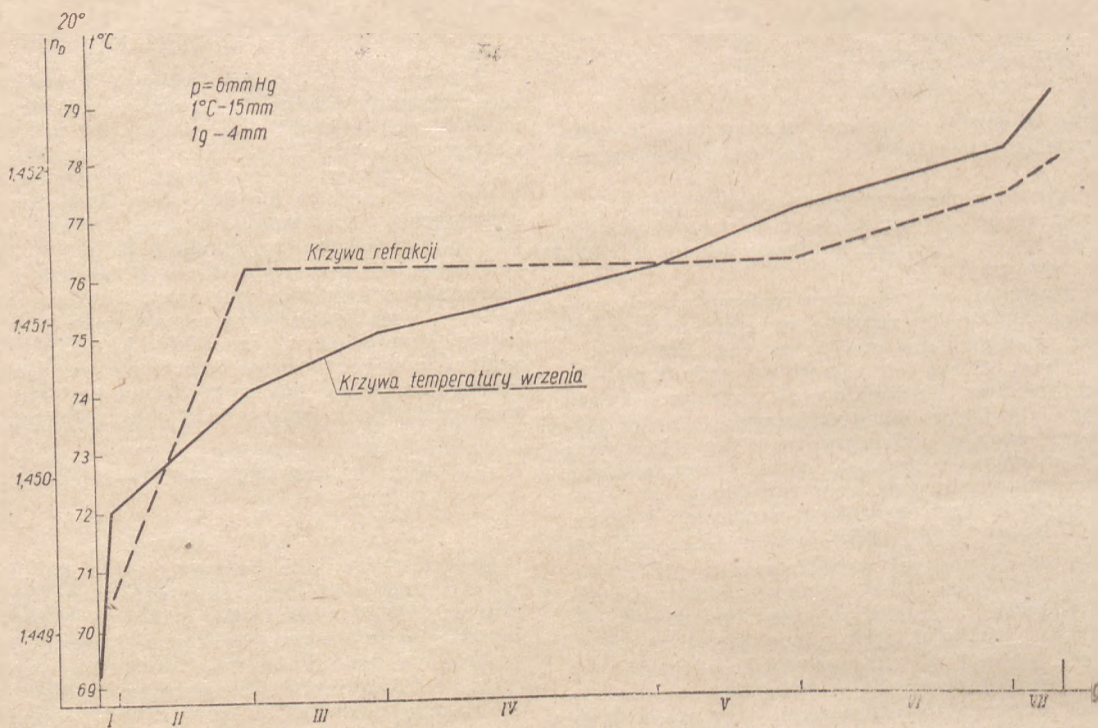
Nr frakcji	Temperatura wrzenia $^\circ \text{C}$	p mm Hg	n_D^{20}	d_{20}	Ciężar g
1	96—72	6	1,4492	—	1,06
2	72—74	„	1,4513	—	9,0
3	74—75	„	1,4513	—	8,8
4	75—76	„	1,4513	0,8999	17,6
5	76—77	„	1,4513	—	9,5
6	77—78	„	1,4517	0,8953	13,9
7	78—79	„	1,4519	—	3,35
Pozostałość			1,4519	—	3,2
Straty					6,9
					73,3

Wartości współczynnika refrakcji, gęstości oraz temp. wrzenia wykazały, że poszczególne frakcje są mieszaniną izomerów mentonu. Ponieważ frakcje 4 i 6 wykazywały pewne różnice w wartościach współczynnika refrakcji i gęstości, a przy tym były ilościowo największe w porównaniu z pozostałymi, te tylko frakcje poddano analizie chemicznej, otrzymując pochodne 2,4-dwinitrofenylohydrazidu i semikarbazynu. Pochodne te poddano krystalizacji frakcjonowanej i otrzymano: 2,4-dwinitrofenylohydrazon o t. t. $145-145,5^\circ \text{C}$ oraz $139,5^\circ \text{C}$ i semikarbazon o t. t. $184,5-185^\circ \text{C}$, $176-177,5^\circ \text{C}$ oraz $162-163^\circ \text{C}$. Wskazuje to na obecność dl- i l-mentonu w wypadku 2,4 dwinitrofenylohydrazonu i mieszanin tych izomerów w wypadku semikarbazonu oraz d-izomentonu (który w stanie czystym topi się w 164°C); obecność ostatniego potwierdza pomiar gęstości frakcji 4 (tabl. 3). Fakty te jednak nie świadczą, aby izomenton występował w olejku miętowym; powstał on prawdopodobnie w drodze procesów inwersji z l-mentonu. Rozdzielenie mieszaniny semikarbazonu dl- i l-mentonu napotkało na duże trudności ze względu na prawie iden-

tyczne temp. topnienia (pochodna dl-mentonu topi się 185÷186°, l-mentonu 187÷189°).

Ilościowe oznaczenie mentonu przeprowadzono dwiema metodami:

stępie 2 g wodorotlenku potasu i 1 ml 24-procentowego wodnego roztworu chlorku niklu i po dokładnym oziębieniu zobojętnić 20-procentowym kwasem octowym. Wytrąca się czerwony osad, ciężar którego po wysuszeniu pomno-



Wykres I. Rektyfikacja frakcji ketonowej olejku miętowego

1) podaną przez Baldingera (7), opartą na tworzeniu się oksymów,

2) polegającą na redukcji zawartego w olejku mentonu do mentolu, przy pomocy sodu metalicznego, a następnie oznaczeniu liczby acetylowej olejku otrzymanego z redukcji. Z różnicy liczb acetylowych przed i po redukcji obliczono zawartość mentonu.

Wyniki otrzymane tymi metodami wykazywały niezgodność; wg metody Baldingera procentowa zawartość mentonu wynosiła 25,6%, gdy metoda redukcji dała znacznie niższy wynik, a mianowicie 11,9%.

Niezgodność ta mogła wynikać na skutek tego, że metoda redukcji składa się z kilku etapów, między innymi reakcji acetylowania i hydrolizy. Reakcje te przebiegają rozmaicie w zależności od warunków i składu mieszaniny reakcyjnej (8, 9) i fakt ten mógł spowodować znaczne obniżenie wyników.

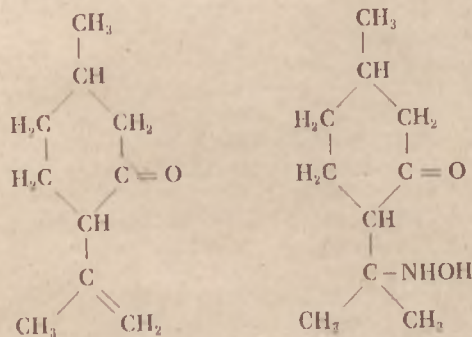
Natomiast metoda Baldingera z samego założenia przeprowadzenia oznaczeń ketonów jest bardzo prosta, opiera się na łatwości z jaką menton tworzy oksymy, a tym samym zapewnia otrzymanie dobrych wyników. W związku z tym przyjęto, że zawartość mentonu odpowiada wynikowi otrzymanemu przy stosowaniu metody Baldingera, a mianowicie 25,6%. W celu sprawdzenia otrzymanych wyników przeprowadzono wydzielenie ketonów w postaci związku z semikarbazidem i oznaczono wagowo w przeliczeniu na menton. Otrzymany wynik 27,4% zbliżony jest do wyniku w metodzie Baldingera.

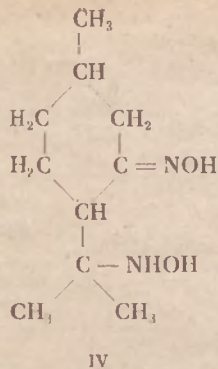
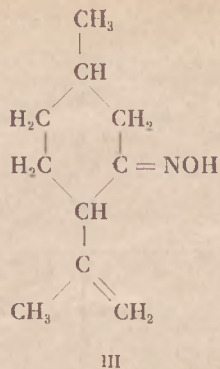
W niektórych olejkach miętowych (np. japońskim) obok mentonu występuje keton nienasycony pulegon. Na podstawie analizy stałych fizyko-chemicznych frakcji węglowodorowej można było przyjąć, że pulegon w olejku miętowym polskim nie występuje. W celu potwierdzenia tych przypuszczeń zastosowano metodę Pavoliniego (10), wg której pulegon można oznaczyć nawet ilościowo, działając na niego hydroksylaminą i małymi ilościami soli niklu. Pavolini podał następujący sposób oznaczania pulegonu w olejku miętowym: 0,15 g olejku miętowego w 5 ml alkoholu z 2 ml 7-procentowego chlorowodoru hydroksylaminy ogrzewać w ciągu 1 godziny na łaźni wodnej; dodać na-

żony przez współczynnik 0,6656 daje procentową zawartość pulegonu.

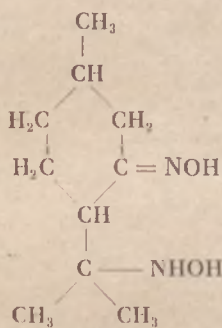
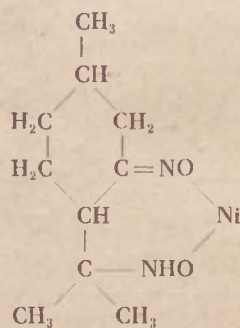
Wobec wyjątkowej prostoty tej metody wykonano ślepe próby oznaczania pulegonu oraz próbę oznaczania pulegonu w olejku. W obu wypadkach, tak przy ślepych próbach, jak i przy próbie z olejkiem, wytrącał się szarozielony osad wodorotlenku niklu, a więc sposób ten dawał negatywny wynik nawet w wypadku czystego pulegonu. Fakt ten nasyłał nam pewne wątpliwości co do samej metody. Ponieważ Pavolini podał jedynie sposób przeprowadzenia oznaczenia, zanalizowano przypuszczalne podstawy teoretyczne tej metody w oparciu o własności chemiczne pulegonu.

Pulegon (I) podobnie jak menton reaguje z chlorowodorkiem hydroksylaminy, dając jednak obok oksymów szereg innych pochodnych. Beckmann i Pleisner (11) otrzymali hydroksylamino-pulegon (II) przez ogrzewanie pulegonu z chlorowodorkiem hydroksylaminy wobec kwaśnego węgla sodu. Wallach (12) przez ogrzewanie pulegonu i chlorowodoru hydroksylaminy wobec alkali (wodorotlenek potasu) otrzymał czysty oksym izopulegonu (III). Powstanie pochodnej izomeru pulegonu wyjaśnia tym, że pulegon jak menton w środowisku alkalicznym ulega izomeryzacji. Semmler (13) prowadząc reakcję podobnie jak Beckmann przy użyciu nadmiaru chlorowodoru hydroksylaminy otrzymał oksym hydroksylamino-pulegonu (IV), który można uważać za dwuoksym.

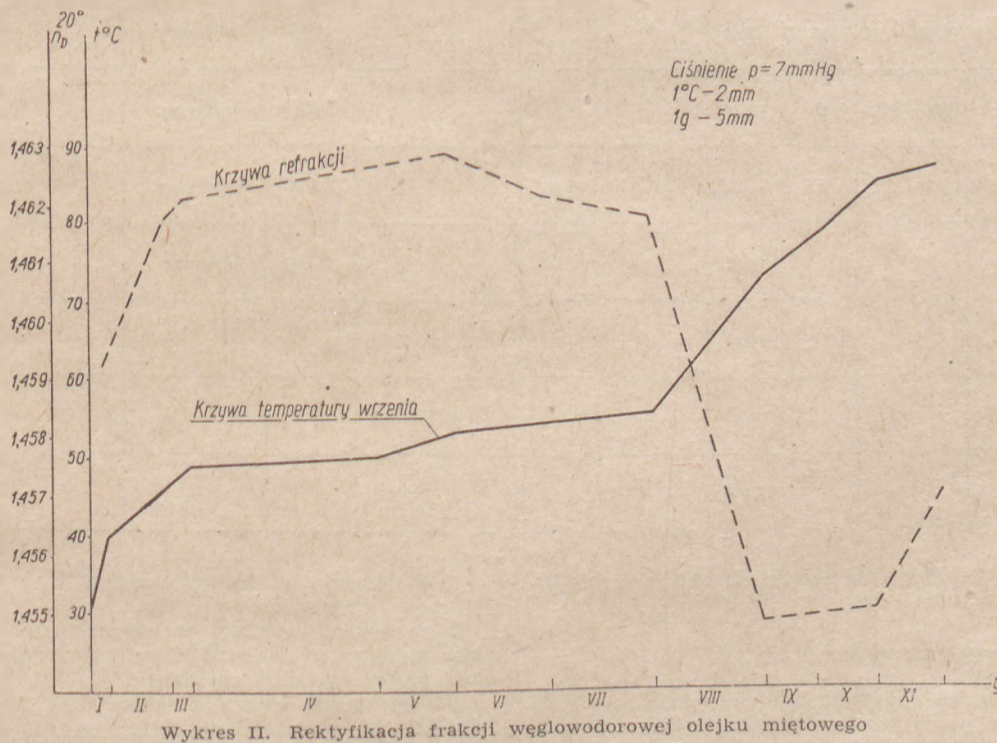




Z własności pulegonu wynika, że w pierwszym stadium w metodzie Pavoliniego chodzi o wytworzenie dwuoksymu pulegonu; wobec czego, zgodnie z tym co podaje Semmler, należało przeprowadzić reakcję w środowisku alkalicznym. Tak wytworzony dwuoksym powinien dawać, podobnie jak np. dwumetylogliksym, połączenie kompleksowe z solami niklu.



Wykonane obliczenia wykazały, że współczynnik zawartości pulegonu wyliczony na podstawie wzoru soli kompleksowej niklu wynosi 0,6656 i jest zgodny ze współczynnikiem podanym przez Pavoliniego. Następne próby wykonano



uwzględniając chemizm powstawania dwuoksymu, tzn. reakcje między pulegonem a chlorowodorkiem hydroksylaminy przeprowadzono w środowisku alkalicznym, a następnie po oziębieniu przeprowadzono w sól kompleksową z niklem.

Oznaczenie to wykonano w następujący sposób: 1 g olejku w 35 ml alkoholu, 20 ml 7-procentowego chlorowo-

dorku hydroksylaminy i 10 g wodorotlenku potasu w 8 ml wody ogrzewano na łaźni wodnej w ciągu 1 godziny. Po ostygnięciu dodano 6 ml 24-procentowego roztworu chlorowodorku niklu i zobojętniono kwasem octowym. Próba z czystym pulegonem dała wynik dodatni, powstał czerwony osad związku kompleksowego z dwuoksymem. Błąd oznaczenia wynosił 1,2%. Badanie natomiast pulegonu w olejku miętowym dało wynik ujemny — pulegonu nie wykryto.

Pozostałość po wydzieleniu frakcji kwasowej, alkoholowej oraz ketonowej składała się prawdopodobnie z węglowodorów; poddano ją rektyfikacji i otrzymano 13 frakcji. W celu lepszego rozdzielenia niżej wrzących węglowodorów połączone frakcje 1÷5 poddano ponownemu frakcjonowaniu i tylko te frakcje poddano analizie. Wyniki tej destylacji uwidocznione są w tabl. 4 i na wykresie II.

Tablica 4
Rektyfikacja frakcji węglowodorowej
1 — 5

Nr frakcji	Temperatura wrzenia °C	p mm Hg	n ₂₀	d ₂₀	Ciężar g
1	30,5—40	7	1,4594	0,9108	1,0
2	40 —47		1,4618		3,42
3	47 —49		1,4622		1,05
4	49 —50		1,4627		9,85
5	50 —53		1,4629		4,1
6	53 —54		1,4622		4,9
7	54 —56		1,4618		5,43
8	56 —73		1,4548		5,8
9	73 —79		1,4549		2,67
10	78 —85				3,23

Na podstawie temperatury wrzenia, współczynnika refrakcji oraz pomiaru gęstości frakcji 4 i 6 założono obecność we frakcji 4 cineolu, we frakcji 6 fellandrenu. Mniemanie to potwierdza wyraźny i charakterystyczny zapach tych frakcji. Obecność cineolu stwierdzono metodą Rupego (14), polegającą na utlenieniu frakcji cineolowej roztworem nadmanganianu potasu do kwasu cineolowego. Otrzymany

produkt topił się w temperaturze 127÷129°C, co potwierdziło obecność cineolu w danej frakcji.

Dalsza analiza frakcji węglowodorowych była utrudniona faktem, że temperatura wrzenia i wartości współczynnika refrakcji poszczególnych frakcji nie dały żadnych wskazówek co do ich składu chemicznego, a zbyt małe ilości uniemożliwiły wnikliwą analizę.

Frakcja		Destylat			Rektyfikat				20°C n_D	Zapach	Smak	Aromat
destylacja	rektyfikacja	temp. °C	p mm Hg	ciężar g	temp. °C	p mm Hg	szybkość destylacji krople na sek	ciężar g				
I		32	25	30						aldehydowo pinenowy		
II		54 — 56	25	7,0					1,4707	aldehydowo pinenowy		
III		56 — 68	25	5,0					1,4125	cineolowy		
IV		68 — 73	25	3,6					1,4725	wyraźny cineolowy		
V		73 — 75	25	9,6					1,4654	cineolowo mentonowy	gorzkawy	miętowo eukaliptusowy
	rektyf. a I b c				52,0 — 53,5 53,5 — 54,5 54,5 — 55,5	2 2 2	2 × 3 1 × 1 1 × 1	ok. 5 ok. 27 ok. 17	1,4572	mentonu	gorzki	miętowy
	a II b c				55,5 — 56,0 56,0 — 57,0 57,0 — 58,0	2 2 2	1 × 1 1 × 1 2 × 3	ok. 15 ok. 15 ok. 1	1,4590	mentonu	gorzki	miętowy
	a III b c				58,0 — 59,0 59,0 — 61,0 61,0 — 64,0	2 2 2	1 × 1 1 × 3 1 × 3	ok. 10 ok. 10 ok. 8	1,4563	mentonu i mentolu	gorzko chłodzący	miętowy
	IV				64,0 — 67,0	2	1 × 4	ok. 7,1	1,4585	mentolu	chłodzący	miętowy
	a V b c				67,0 — 67,5 67,5 — 68,0 68,0 — 68,5	2 2 2	1 × 3 1 × 2 2 × 3	ok. 4 ok. 5 ok. 5	1,4597	mentolu	chłodzący	miętowy
	a VI b c				68,5 — 69,0 69,0 — 69,5 69,5 — 70,0	2 2 2	1 × 1 1 × 1 1 × 1	ok. 15 ok. 50 ok. 20		mentolu	chłodzący	miętowy
XII		113,5 — 114	23	23,0					1,4433	zieleniny		
XIII		114 — 116	23	17,0					1,4571	zieleniny		
XIV		118 — 121	23	4,8					1,4596	zieleniny		
Pozostałość				29,2					1,5003	drzewny		
Ciężar łączny destylatu				460,7				231,9				
Straty				19,3				8,5				
Razem				420,0				240,2				

Dalsze prace nad badaniem składu chemicznego olejku miętowego są jeszcze w toku.

WYDZIELENIE MENTOLU

Olejek miętowy jest jedynym źródłem mentolu naturalnego. Wyodrębnić go można wykorzystując jego własności tworzenia z innymi związkami trwałych połączeń krystalicznych np. jako ftalany lub benzoesany. Jednakże te metody wydzielenia mentonu są kłopotliwe i kosztowne i nie nadają się do stosowania w przemyśle. W Japonii, gdzie olejek zawiera bardzo dużo mentolu, otrzymuje się go przez wymrażanie w temperaturze -5°C . Wydajność mentolu z olejku japońskiego w ten sposób otrzymanego wynosi $40\div 50\%$. Oczyszczanie tego mentolu przeprowadza się dwiema metodami:

1. ogrzewanie w temperaturze 60°C 1 części mentolu i 1 części 10-procentowej H_2O_2 ,

2. ogrzewanie mentolu w temperaturze 70°C z węglem aktywowanym w alkoholu 96-procentowym, odsączenie węgla i bardzo powolne chłodzenie.

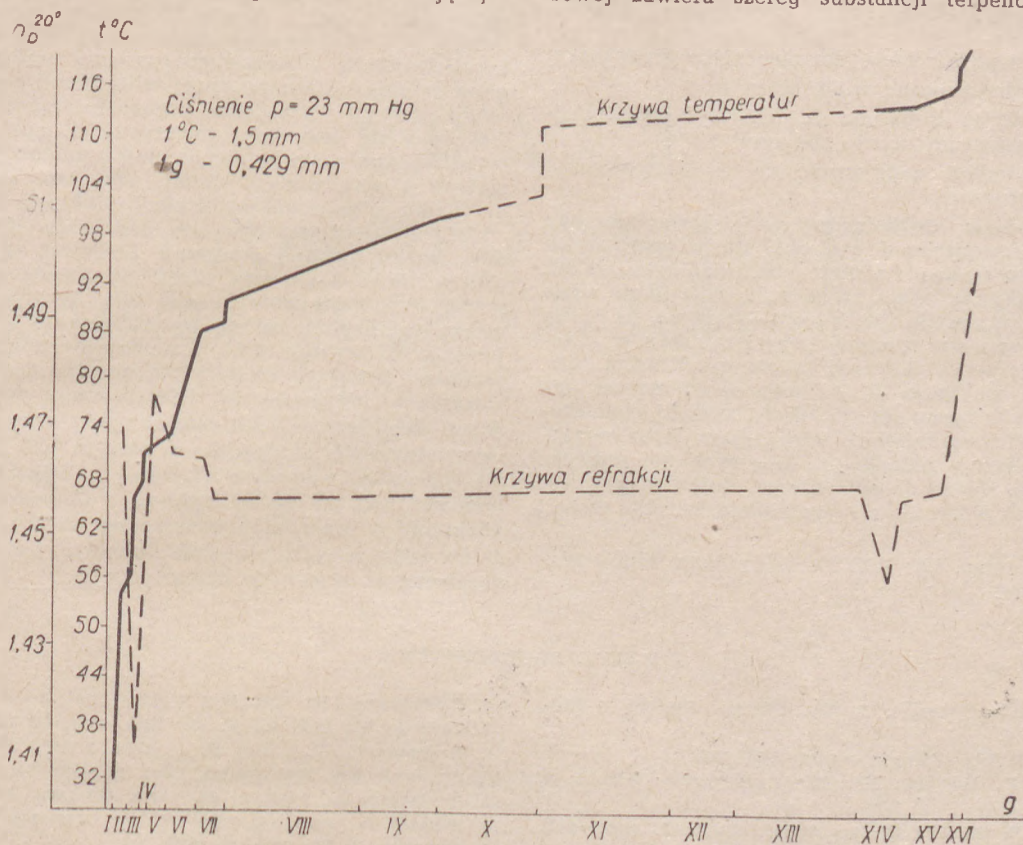
W ten sposób wydzielić można mentol jedynie z olejków o dużej zawartości mentolu. Z innych olejków mentol otrzymuje się na skalę techniczną przez destylację frakcjonowaną i wymrozenie wzbogaconych w mentol frakcji.

W celu zbadania, czy metodę wymrażania będzie można zastosować do polskiego olejku miętowego, wykonano szereg prób w różnych temperaturach, stosując różny czas wymrażania. We wszystkich próbach nastąpiła krystalizacja tylko niedużej części mentolu zawartego w olejku. Otrzymany mentol był drobnokrystaliczny, zawieszony w gęstej cieczy i trudny do odsączenia. Nie udało się otrzy-

mać tą drogą ani większej ilości mentolu, ani mentolu o dobrze wykształconej postaci krystalicznej. Natomiast zgodnie z przypuszczeniami środkowe frakcje rektyfikatu olejku miętowego ulegały krystalizacji w czasie od 1÷15 dni, dając w rezultacie krystaliczny mentol. Poddając po-

OCZYSZCZANIE OLEJKU MIĘTOWEGO

Naturalne zanieczyszczenia olejku miętowego (inne mogą pochodzić z zafałszowania) zależne są od warunków i sposobu destylacji olejku z rośliny. Destylat z rośliny surowej zawiera szereg substancji terpenowych, chlorofil,

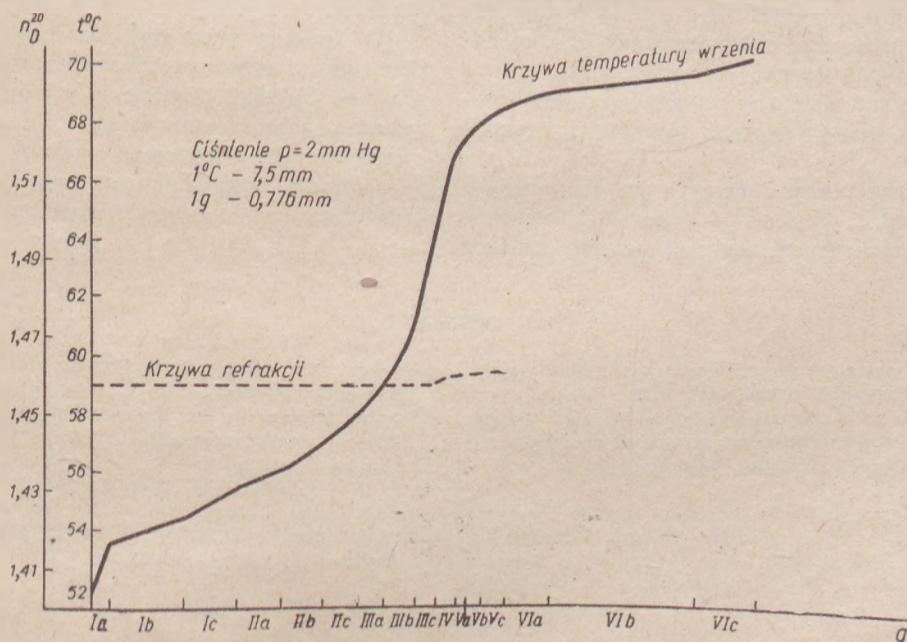


Wykres III. Destylacja olejku miętowego polskiego

nowej destylacji frakcje VI—XI otrzymano w czasie rektyfikacji olejku surowego mentol z wydajnością:

w przeliczeniu na olejek surowy	20,5%
w przeliczeniu na ciężar frakcji VI—XI	50,5%

kumarynę, które psują zapach olejku. Usuwa się je przez kilkakrotną destylację z parą wodną lub też destylację, w czasie której usuwa się niżej wrzące frakcje terpenowe, co daje wówczas olejek pozbawiony śladu zapachu terpe-



Wykres IV. Rektyfikacja frakcji VII—XI olejku miętowego

Własności otrzymanego mentolu były następujące:

t.t. 38—39°C, $n_D^{20} = 1,4447$, $(\alpha)_D^{20} = 45,27^{\circ}\text{C}$ (w alkoholu)

Pozwoliło to ustalić, że otrzymany mentol jest dobrego gatunku i odpowiada normom „Farmakopei Polskiej”.

nowego. Ponieważ smak i zapach olejku zależny jest ściśle od jego pochodzenia, a tym samym od składu chemicznego i procentowego trudno jest ustalić moment, w którym należy przerwać destylację próżniową; o tym decyduje degustator, gdyż substancje zawarte obok mentolu, mentonu

i octanu mentylu uzupełniają i zaokrąglają zapach olejku miętowego, nie należy więc ich usuwać zupełnie z frakcji użytkowych.

Oczyszczanie olejku przeprowadzono dwiema drogami:

1. przy zastosowaniu frakcjonowanej destylacji próżniowej,

2. destylacji z parą wodną, stosując różne środowiska.

Destylacja frakcjonowana miała na celu:

a. zbadanie, czy tą drogą uda się polepszyć jakość olejku przez ewentualne odrzucenie pogonów,

b. wybranie frakcji nadających się do zastosowania jako olejku oczyszczony.

Dla umożliwienia dokładnego rozdzielania mentonu i mentolu przeprowadzono drugą rektyfikację połączonych frakcji 7÷11. Oznaczono refrakcje poszczególnych frakcji i wyniki zebrano w tabl. 5. Wyniki rektyfikacji ujęte również zostały w formie graficznej — wykres III i IV; otrzymano krzywą wzrostu temperatury i refrakcji w zależności od ilości przedestylowanej substancji. Krzywa temperatur wrzenia wskazuje dość równomierny wzrost bez wyraźnych skoków temperatury. Nieco bardziej charakterystyczną jest krzywa refrakcji, wykazująca kilka wyraźnych przegięć. Kształt jednak obu krzywych nie pozwala na zorientowanie się co do składników olejku miętowego. Analiza krzywych pozwoliła na wyodrębnienie tylko dwóch przedziałów:

1. przedziału temp. 53÷61°C dla rektyfikatu odpowiadającego mentonowi,

2. przedziału temperatur 61÷70° dla rektyfikatu odpowiadającego mentolowi.

Ponieważ rektyfikacja miała na celu wyodrębnienie frakcji dobrych pod względem smakowym i zapachowym i nadających się do celów przemysłowych, przeprowadzono próby degustacyjne. W wyniku tych prób okazało się, że destylacja frakcjonowana olejku krajowego nie dała dobrych wyników w sensie oczyszczenia produktu. Poszczególne frakcje otrzymane drogą rektyfikacji pod próżnią nie miały dobrych własności organoleptycznych; wszystkie frakcje miały tzw. boki zapachowe. Przeprowadzono następnie próbę uszlachetnienia olejku miętowego drogą destylacji z parą wodną. Metoda powyższa stosowana jest do olejku miętowego japońskiego lekkiego.

W destylacji tej zbierano oddzielnie 30% przedgonu 50% frakcji głównej i pogony. Ponieważ zawartość mentolu w olejku krajowym, określona metodą acetylacji wynosiła 48%, czyli mniej więcej tyle, ile wynosi w lekkim olejku japońskim, metodę tę zastosowano do olejku krajowego. W wyniku prób degustacyjnych zapach i smak produktu destylacji okazały się nieodpowiednie do zastosowania w przemyśle. W dalszym ciągu prac przeprowadzono destylację olejku miętowego z parą wodną, przy czym stosowano środowiska o różnym pH. W trakcie destylacji destylat dzielono na szereg frakcji, które następnie poddano próbom degustacyjnym. Próby te wykazały, że większość w ten sposób otrzymanego olejku nadaje się do celów spożywczych, pozostałe natomiast frakcje mogą być stosowane w przemyśle kosmetycznym.

WYKAZ PIŚMIENNICTWA

1. Bacon, Jenisson, Kremers: J. Am. Pharm. Assocn. 12 (1924) 1075.
2. Pigulewskij G. W.: Efirnyje masła (1938) 346.
3. Gildemeister E., Hoffman Fr.: Die Aetherische Oele. T. 3, 537. (1916).
4. Kennedy E. P., Barker H. A.: Annal. Chem. 23 (1951) 1033.
5. Stephan K.: J. pr. Chem. 60 (1899) 244.
6. Girard A., Sandulesco G.: Helv. Chim. Acta 19 (1936) 1099.

7. Baldinger L. H.: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 14 (1942) 15.
8. Thomas W., Brignall T. W.: ibid. 13 (1941) 166.
9. Redeman C. N., Lucas H. J.: ibid. 9 (1937) 521.
10. Puvolini: Riv. Ital. Essen. Perf. 14 (1939) 79.
11. Beckmann A., Pleisner M.: Ann. 262 (1891) 6.
12. Wallach O.: Ann. 289 (1896) 347; 365 (1909) 240.
13. Semmler F. W.: Ber. 38 (1905) 146.
14. Rupe H., Ronus M.: Ber. 33 (1930) 3544.

СОДЕРЖАНИЕ

В настоящей работе определены физические и химические константы мятного маела. Химический анализ масла основан на выделении отдельных групп химических соединений: кислот, спиртов, кетонов и углеводов.

Хроматографическим анализом на промакательной бумаге открыто в кислотной фракции присутствие уксусной кислоты.

Химический анализ показал присутствие во фракциях спиртов dl- и l-ментоля, кетонов — смеси dl- и l-ментона и вместе с тем d-изоментона, который является по всей

вероятности продуктом инверсии l-ментона; не открыто пулегона.

Из фракции углеводов выделено цинеоль. Мемол из польского мятного масла можно выделить путем вымораживания фракций обогащенных ментолов. Мятное масло очищено посредством перегонки с водяным паром из сред с разными pH и получено продукт хорошего качества; масло после этой перегонки годилось к использованию в пищевой и косметической промышленности.

SUMMARY

The physical and chemical properties of the Polish peppermint oil have been indicated in the work under review.

The chemical analysis of the oil was carried out by the method based on the separating different groups of chemical compounds, as: acids, alcohols, ketones, hydrocarbons as well as analysis of this groups.

The present of acetic acid was determined by the chromatographic method on the paper of the acid fraction. The chemical analysis showed the presence of dl- and l-menthol in the alcoholic fraction, mixture of dl- and l-menthone in the ketone

fraction and d-isomenthone which probable is the product of l-menthone inversion. The lack of pulegone was stated. Cineol has been found in the hydrocarbon fraction.

The separation of menthol from the Polish peppermint oil may be carried out by freezing the fractions containing menthol. The peppermint oil has been purified by means of steam distillation in the different pH of the reactions mixtures. The product of good quality was obtained and suitable to apply in foodstuff and cosmetic industrie.