

CARACTERISTICA ENZIMELOR PECTOLITICE UTILIZATE LA FABRICAREA SUCURILOR

Sandulachi E.

Universitatea Tehnică a Moldovei

INTRODUCERE

Din vremurile străvechi, enzimele naturale, produse de către microorganisme, au fost folosite la fabricarea brânzeturilor, pâinii, vinului, berii etc. Actualmente, enzimele sunt utilizate într-o gamă largă în diferite procese industriale. Pectinazele sunt utilizate în procesele de fabricare a sucului de fructe, legume, cafelei, ceaiului, berii, în industria vinicolă, la tratarea apelor uzate, extragerea uleiului vegetal, albirea hârtiei, ca adaos la hrana animalelor și păsărilor etc. [9, 10, 13].

Acest articol prezintă un studiu bibliografic, referitor la enzimele pectolitice, vizând caracteristica și comportamentul lor în procesele de fabricație a sucurilor din fructe și legume [1 - 35].

Se prezintă studiul bibliografic [10] referitor la producția de celule de pectinliaze (CE: 4.2.2.10), produse de *Bacillus pumillus* (P9), cu utilizarea semiconductoarelor de fermentare a Pectinliazei (PL). Studiul [10] prezintă interes din punct de vedere al descrierii procesului de producție, procesului de purificare, controlului calității și aprecierii factorilor ce determină activitatea enzimelor, precum și acțiunea enzimelor asupra proceselor de extracție și limpezire a sucurilor.

1. SUGESTII ȘI ABORDĂRI

1.1. Caracteristica enzimelor utilizate în industria de fabricare a sucurilor de fructe și legume

În industria de fabricare a sucurilor de fructe și legume, preparatele enzimatiche exogene sunt utilizate în vederea [33]:

- ameliorării randamentului în suc la presare;
- fabricării sucurilor cu pulpă de tip nectaruri (macerarea și stabilizarea sucurilor cu pulpă);
- fabricării sucurilor limpezite (clarificarea sucurilor).

Enzimele pectolitice sunt enzime care degradează zonele "lize" și zonele cu catene laterale (zonele ramificate) [3, 10, 13, 33]. Degradarea zonelor "lize" este realizată de trei tipuri de enzime:

- pectinesteraze, care catalizează dezesterificarea grupărilor metilice ale pectinelor cu formare de acizi pectinici și alcool metilic;

- polygalacturonase (endopolygalacturonase și exopolygalacturonase), enzime ce hidrolizează legăturile între două resturi de acid galacturonic;

- liaze, care catalizează depolimerizarea unui substrat prin reacția de β -eliminare (în absența apei).

Ruperea sau degradarea zonelor ramificate a pectinelor este realizată de următoarele enzime: endo-polygalacturonase, pectin metilesteraze, pectinase, arabinaze etc.

Tehnologia de obținere a sucurilor de fructe și legume implică utilizarea enzimelor [3, 8, 10, 33]. Prin adaosul de enzime pectolitice la pulpă, se realizează: creșterea randamentului în suc la presare; se favorizează extracția pigmentilor și aromelor, iar prin adaosul la suc – se favorizează limpezirea și claritatea lui. Eficacitatea diferitelor preparate comerciale pectolitice poate fi abordată în conformitate cu: timpul necesar de formare al flocoanelor; viteza de filtrare a sucului, după aplicarea tratamentului enzimatic pentru o anumită perioadă de timp; transparența sucului.

Acțiunea enzimelor pectolitice asupra celor două componente ale pulpei este diferită. Acțiunea asupra fazei lichide (sucului) - se manifestă prin reducerea vâscozității, prin solubilizarea pectinelor din suc. Iar, acțiunea asupra fazei solide - se manifestă prin scăderea cantității de pectină insolubile, prin distrugerea structurii de gel, se ajunge la creșterea permeabilității acestui strat, care eliberează suc. Tot din partea solidă, nehidratibilă, se eliberează componentele de aromă și culoare [3, 10, 25].

Actualmente, în industria alimentară se utilizează diverse preparate enzimatiche. În tabelul 1 este inclusă o gamă de enzime inovatoare, „Novozyme”, recomandate pentru utilizare în industria de fabricare a sucurilor de mere și pere.

În tabelul sunt 2 vizate avantajele și dezavantajele utilizării enzimelor ținând cont de proprietățile lor [33 - 34].

Pectinazele comerciale reprezintă un amestec din trei enzime diferite: polygalacturonaze liaze, pectinesteraze, pectinliaze [13].

Tabelul 1. Caracteristica unor enzime.

Aplicare	Produs	Beneficii
Presare	Pectinex [®] Yield MASH [™]	O varietate de pectinaze, care au o gamă largă de activități secundare. Sunt utilizate pentru fabricarea sucului de mere și pere. Randament de suc optim, capacitate maximă de presare.
	Pectinex [®] SMASH XXL	
	Pectinex [®] MASH Novoferm [®] 61	
Tratament	Pectinex [®] AFP-L4	Pectinaze, cu activități secundare utilizate la presarea merelor și perelor. Randament optim de suc, capacitate maximă de presare.
	Cellubrix [®] L	Preparate de celulază pentru mere și pere, utilizate la presarea a II. Se obține suc de calitate superioară, cu °Brix majore.
Degradarea pectinelor	Pectinex [®] XXL	Pectinase în diferite concentrații, care includ suficiente arabinase pentru a produce sucuri eliberate de pectine; îndeplinesc cerințele standardelor internaționale; sunt stabile la stocare.
	Pectinex [®] CLEAR	
	Pectinex [®] 5X L	
	Pectinex [®] 3X L	
Degradarea amidonului	Amylase AG XXL	Amyloglucosidase pentru tratarea sucului în scopul dezintegrării amidonului: Amilazele AG XXL oferă cele mai mici prețuri pe piață.
	Amylase AG 300 L	
Filtrare grosieră	Pectinex [®] UF	Preparat, cu o gamă largă de activități secundare. Contribuie la creșterea ratei fluxului pe unitate de filtrare, reducând costul pe operațiune.
Curățare membrană	Bio Cip [®] Membrane	Agent de curățare înainte de CIP, pentru a elimina coloizii de pe membrane. Aceasta prevede o performanță de curățare, care nu pot fi realizate cu substanțe chimice.

Tabelul 2. Avantajele și dezavantajele utilizării enzimelor.

Avantaje	Dezavantaje
Enzimele, fiind specifice în acțiunea lor, sunt mai puțin susceptibile de a produce substanțe secundare nedorite.	Sunt foarte sensibile la schimbările de condiții fizico-chimice ale mediului înconjurător.
Sunt biodegradabile și prin urmare, nu poluează mediul.	Pot fi ușor denaturate, chiar și la o mică creștere a temperaturii. Sunt foarte sensibile la infestări și modificări ale pH-ului. Deci, condițiile în care activează trebuie bine monitorizate.
Enzimele activează în condiții lejere, adică temperaturi scăzute, pH-ul neutru și presiune atmosferică normală. Sunt economice din punct de vedere al energiei.	Amestecul de substrat enzimatic trebuie să fie steril, necontaminat cu alte substanțe, care ar putea afecta reacția enzimatică.

Microorganismele, fiind surse importante de enzime industriale [1, 2, 10], produc enzime intercelulare, în interiorul celulelor și enzime intracelulare, în exteriorul lor. Tabelul 3 include caracteristici comparative ale enzimelor extra și intracelulare vizavi de modul de izolare și de stabilitatea lor [10].

Tabelul 3. Caracteristici comparative ale enzimelor.

Enzime intercelulare	Enzime extracelulare
Sunt mai dificil de izolat	Pot fi izolate mai ușor.
Celulele trebuie să fie defalcate în afară pentru a le elibera.	Nu este necesar de a distruge peretele celular, enzimele sunt secretate în cantități mari în mediu.
Necesită separarea lor de celulele microbiene, alte substanțe chimice, precum de alte enzime din amestec.	Deseori sunt eliberate pe cont propriu sau prin utilizarea altor enzime.
Adesea sunt stabile numai în mediul din interiorul celulei intact	Sunt mai stabile.
Purificarea lor este greu de realizat	Purificarea - mai ușor de realizat și mai ieftină.

2.2. Cultivarea microorganismelor în bioreactoare

Microorganismele selectate, sunt de obicei cultivate în bioreactoare, în condiții controlate,

pentru a maximaliza producția de enzime. Factorii care influențează dezvoltarea microorganismelor sunt factorii intrinseci, extrinseci și implicați.

Factorii intrinseci sunt parametrii, care caracterizează mediul de cultură: pH-ul mediului; conținut de apă liberă; potențial de oxidoreducere, conținut de nutrienți conținut de substanțe cu efect inhibitor asupra dezvoltării microorganismelor.

Factorii extrinseci sunt reprezentați de parametrii care caracterizează mediul ambiant în care se desfășoară cultivarea microorganismelor. Factorii extrinseci pot fi de natură fizică, chimică sau mecanică. Factori fizici: temperatură, conținut de gaze, umezeală relativă, presiune. Factori chimici: substanțe chimice adăugate. Factori mecanici: agitare, ultrasonore.

Factorii implicați sunt factorii de natură biologică, determinați de relațiile ce se stabilesc la un moment dat între microorganismele aflate pe același substrat, limitat cantitativ. În condiții industriale controlul acestor parametrii se realizează computerizat [4 - 10].

La cultivarea microorganismelor producătoare de enzime trebuie de ținut cont de [2, 4 - 10, 33]: conținutul de oxigen, necesar pentru respirația aerobă, sau excluderea lui, pentru microorganismele anaerobe; sursa de carbon, sursă de energie pentru respirație, eliberarea energiei necesare pentru creșterea economică; sursa de azot, necesară pentru sinteza proteinelor.

Biotehnologii trebuie să cunoască factorii care influențează calitativ și cantitativ dezvoltarea microorganismelor producătoare de enzime pentru a: stabili condiții optime de cultivare și obținere a unui randament maximal de enzime solicitate; evita infestarea culturii și enzimelor. Deci, enzimele trebuie cultivate în condiții sterile.

Obținerea unei enzime intercelulare se realizează prin selectarea și cultivarea în bioreactoare a celulelor microbiene, urmată de separarea lor prin filtrare sau centrifugare. Pe lângă centrifugare, se mai utilizează și precipitarea enzimelor din soluție, cu sare sau alcool. Enzima solicitată trebuie să fie apoi purificată prin tehnici cum ar fi electroforeza sau cromatografia în coloană [10 - 18].

Acest ultim proces este complicat și costisitor, astfel încât aceste enzime sunt utilizate numai atunci când nu există o altă alternativă disponibilă. Prin însăși natura lor, enzimele intercelulare tind să fie mai sensibile la condițiile lor de funcționare, ceea ce face utilizarea lor comercială mai dificilă. Pe de altă parte, aceste enzime sunt mult mai frecvent întâlnite în natură [10].

Purificarea enzimelor secretoare, din mediul lor nutritiv, prezintă o sursă bună de enzime

extracelulare. De exemplu, *Aspergillus niger* eliberează o enzimă numită pectinază.

În biotehnologiile de obținere a enzimelor se utilizează o varietate de tehnici [4 - 10]. La prima etapă celulele trebuie să fie separate de partea lichidă a suspensiei. În cazul în care produsul dorit este un produs chimic, celulele microbiene trebuie să fie dezintegrate, pentru a elibera enzimele, conținutul chimic dorit este apoi extras și purificat printr-o serie de tehnici, cum ar fi precipitarea și cromatografia. În figura 1 este prezentat schematic procesul de obținere al enzimelor (produs finit), care ulterior, sunt utilizate în diferite procese tehnologice.

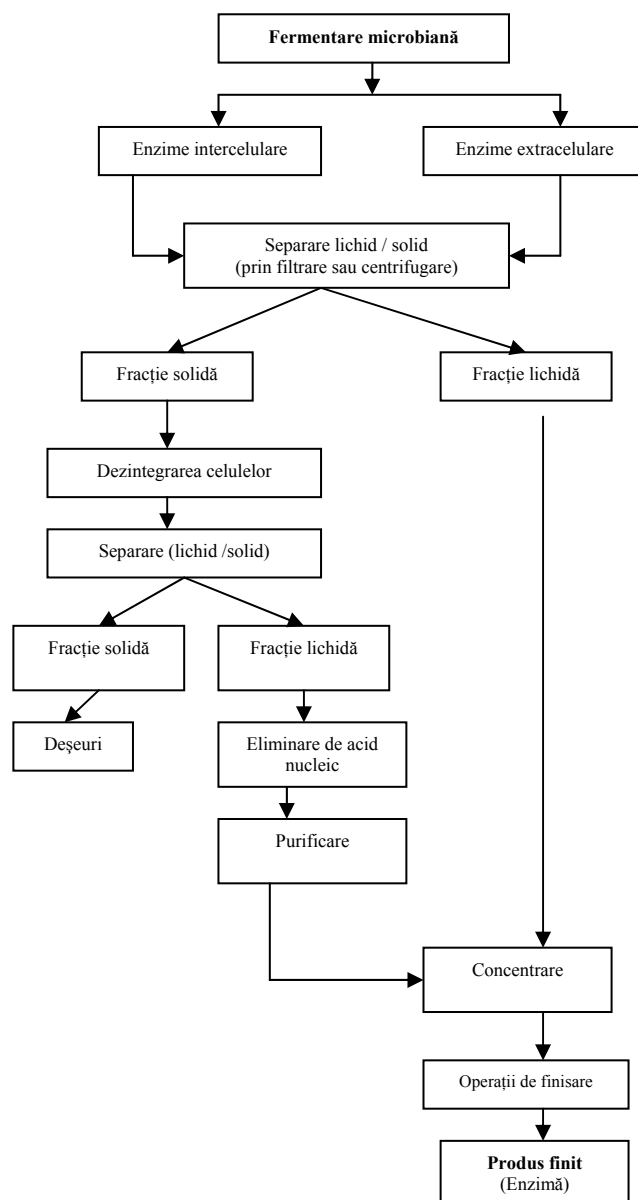


Figura 1. Reprezentarea schematică a procesului de obținere a preparatelor enzimaticice.

Pectinazele sunt produse de un număr mare de microorganisme: bacterii [11, 17 - 20], ciuperci [14,

24], actinomicete [9] și drojdii [5]. În scopuri industriale sau de cercetare biochimică, lipazele se obțin prin metode moderne de biotehnologii, prin extracție din culturi microbiene (*Mucor miehei*, *Chromobacterium viscosum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Candida lipolytica*, *Rhizopus delemar* etc.) [20]. Pectin esteraza catalizează hidroliza de metil pentru a produce acidul peptic și metanol.

Enzimele de depolimerinaze constau din hidrolaze și liaze. Liazeele sunt de asemenea numite și trans-eliminaze, care divizează legăturile glicozidice fie pectate (polygalacturonaze) sau pectina (polymethylgalacturonaze) [18].

Enzimele pectolitice sunt utilizate la tratarea fructelor, legumelor și strugurilor pentru a majora randamentul extracției. Substanțele pectice reprezintă aproximativ 0,5 - 4% din masa materiilor prime utilizate. Substanțele insolubile din suc brut obținut prin presare reprezintă în mare parte substanțe pectice. Pectina solubilă mărește vâscozitatea sucului (marcului), prezentând o dificultate în extragerea sucului prin metode mecanice. Adăugând pectinaze, vâscozitatea sucului se micșorează, celulele de pectină și celuloză sunt dezintegrate, conducând la creșterea randamentului [18, 27].

Preparatele comerciale care conțin pectiniază sunt mai preferabile pentru prelucrarea sucurilor și vinului, deoarece prin utilizarea lor, se evită producerea de metanol, precipitarea parțială a pectinei dezesterificate cu calciu endogen și prejudiciul conținutului de ester, responsabil de aroma diferitor fructe [31]. În plus, pectiniază este singura enzimă care are proprietatea de a diviza α -1.4 glicosid pectina foarte esterificată ca pectina de fructe, fără acțiunea prealabilă a altor enzime [7, 8, 28].

2.3. Caracteristica Pectinliazei produsă de *Bacillus pumillus*

În studiul [10] este vizată producția enzimelor pectice prin fermentare în medii solide. *Bacillus pumillus* (P9) a fost izolat și indentificat cu ajutorul sistemului Sherlock Microbiene Indentification (MIS). Activitatea Pectinliazei a fost determinată prin metoda (TBA), utilizând acidul thiobarbituric, metodă descrisă de către Nedjma [22]. Drept unitate de activitate PL (UE) a fost definită cantitatea de enzimă care produce 1 mMol de galacturonid/ min. Activitatea pectinliazei a fost produsă din tărâțe de grâu 1672 UE pe gram. Prin folosirea DEAE-Celuloza, cromatografiei cu schimb de ioni pectiniază a fost purificată de 36,36 ori (Tabelul 4). Enzima Thepurified a fost studiată și caracterizată.

Tabelul 4. Purificarea Pectinliazei produsă de *Bacillus pumillus*.

Parametri controlabili	Frația de enzime		
	Extras brut	DEAE-celuloza	Sephadex G 150
Volum, ml	65	50	30
Activitate, EU/ml	1.583	1.376	2.195
Activitate totală: EU %	102,9 100	68,8 81,4	54,9 79,8
Proteine, mg/ml	0,912	0,285	0,0125
Specific, EU/mg	1,736	4,83	175,6
Purificare (ori)	–	3,39	36,36

Gradul de purificare al enzimei a fost verificat cu SDS-PAGE [10]. Efectul temperaturii a fost investigat în intervalul de temperaturi 0 - 90°C, înregistrând valorile activității enzimatică la fiecare 10 grade (Figura 2), temperatura optimă fiind 60°C. Enzima cercetată a avut activitate între 20 și 80°C. Temperatura optimă a Pectin liazei a fost similară cu PLS produsă de *Bacillus sp.* DT7 [6, 16], AMD a fost mai mare decât cea produsă de *Rhizopus oryzae* [29], *Curvularia inaequalis* NRRL 13884 [18], *Bacillus sp.* PN 33 [24].

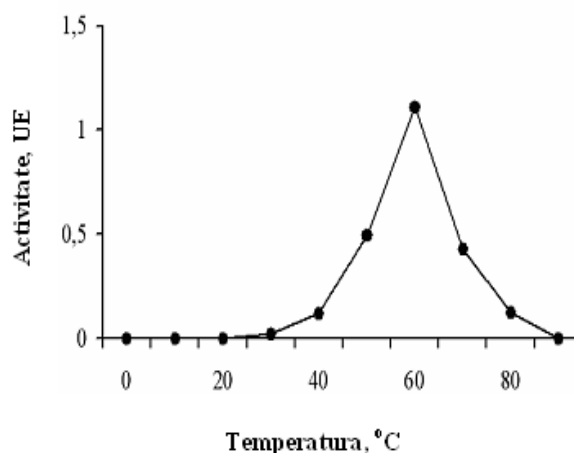


Figura 2. Efectul temperaturii asupra activității de purificare a pectinliazei, produsă de *Bacillus* (P9), [10]

Studiul [10] atestă și influența *pH* asupra activității pectinliazei, care a fost realizat în limitele valorilor *pH* 4 - 11 (Figura 2).

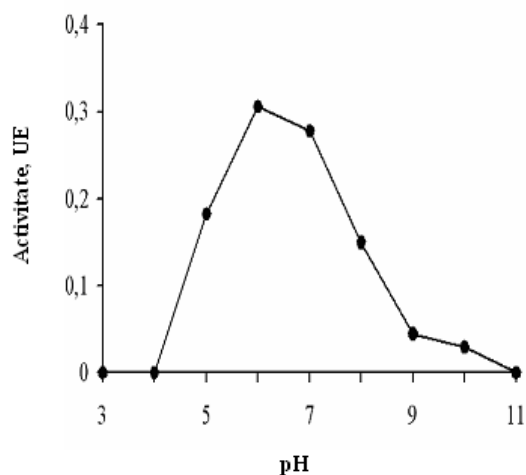


Figura 2. Efectul *pH*-ului asupra activității pectinliazei purificate produse de *Bacillus* (P9), [10]

Rezultatele studiului indică că *pH*-ul optim al reacției enzimice a fost 6, activitatea enzimatică s-a observat pe intervalul *pH* (5 ... 10). *pH*-ul optim al pectinliazei a fost identic cu PL elaborat de *Bacillus* sp. D17 [6, 16]. Această valoare este mai mare decât *pH*-ul optim (*pH*: 5) al PL produse de *Rhizopus oryzae* [12], *Curvularia inaequalis* NRRL 13884 [1] și cel al *Aspergillus niger* [23], dar mai mică, decât *pH*-ul optim (*pH*: 9) al PL produse de *Moniliella* sp. și (*pH*: 10) produse de *Penicillium* sp. EGC5 [21].

Studiul [10] atestă de asemenea și aprecierea influenței sărurilor metalice și a altor substanțe chimice asupra activității Pectinliazelor. Efectul fiecărui agent chimic a fost determinat prin măsurarea activității enzimice, utilizând acidului thiobarbituric, metoda (TBA) [22]. Termostabilitatea Pectinliazelor a fost studiată în intervalul de temperaturi cuprinse între 40 și 80°C (Figura 3).

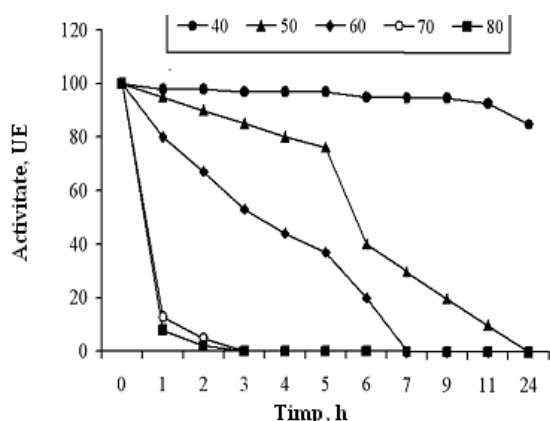


Figura 3. Stabilitatea PL purificate produsă de *Bacillus* (P9) la diferite temperaturi, [10]

Studiul [10] atestă că enzima purificată (Figura 3) a fost stabilă și și-a păstrat pe deplin activitatea după incubare timp de 1h în intervalul de

temperaturi de la 40°C la 50°C. Temperaturile de 20 și 60°C au redus activitatea enzimei, iar cele de 70, 80°C au diminuat brusc activitatea pectinliazei. Termostabilitatea PL a fost constată la temperatura de 40°C, deoarece aceasta a rămas activă aproximativ 24 h. Termostabilitatea PL produsă de *Aspergillus niger* a fost observată la 40 -50°C [23]. S-a stabilit că PL din *Rhizopus oryzae* a fost inactivată după 45 minute la 70°C [12]. Chiar dacă, s-a constatat că PL din *Pythium* a fost stabilă la 40-50°C, dar activitatea sa a scăzut rapid la temperatura peste 50°C [8]. Acțiune ionilor metalelor și a altor substanțe chimice asupra activității PL a fost diferită (Tabelul 5), [10].

PL purificată a fost complet inhibată de 10mM Hg²⁺, Mn²⁺, EDTA, β-mercaptoethanol și SDS, un efect de activitate relevant a fost observat în prezența Ca²⁺, Mg²⁺, L-cisteina, acid ascorbic (10mM). În timp ce Mg²⁺ (10mM) a stimulat activitatea PL, iar Zn²⁺, Cu²⁺ și Fe²⁺ a inhibat-o.

Tabelul 5. Efectul unor ioni metalici și substanțe chimice asupra activității PL produsă de *Bacillus* (P9)

Compuși chimici	Concentrația, mM	Activitatea PL, %
Control	-	100
CaC ₂	10 mM	132,1
MgCl ₂	10 mM	119,2
Hg(NO ₃) ₂	10 mM	0
MnCl ₂	10 mM	0
ZnSO ₄	10 mM	87,9
Cu(NO ₃) ₂	10 mM	11,1
FeSO ₄	10 mM	67,3
EDTA	10 mM	0
L - Cistein	10 mM	102,6
Acid ascorbic	10 mM	101,5
mercaptoethanol	10 mM	124,1
SDS	10 mM	0

Studiul [10] atestă și influența enzimelor: brută și pură, produsă de *Bacillus* (P9), precum și a Pectinex 100 Plus L, asupra procesului de extracție și limpezire al sucurilor de mere, banane, morcovi, piersici. Rezultatele cercetărilor sunt prezentate în tabelele 6 și 7. Cele mai relevante rezultate s-au obținut la utilizare Pectinex 100 Plus L. Cel mai semnificativ randament s-a constatat în sucul de banane, care a fost de 8 ori mai mare, comparativ cu mostra de control.

Procesul de presare al materiilor prime, prelucrate cu enzime, supuse testării, a fost mai ușor de realizat comparativ cu cel al mostrelor de control. Greutatea uscată reziduală a scăzut (6 - 72%) (Tabelul 6). Ca urmare, randamentul productivității sucului de fructe s-a majorat. Bananele, având nivel ridicat de pectină solubilă [25] a format o masă

gelificată, care o fost greu de presat după prelucrarea cu enzime.

Tabelul 6. Randamentul sucului [10].

Obiect de cercetare	Enzime			Pectinex 100 L Plus
	control	purificate	brute	
Mere (5g): Suc, ml R,* %	12 -	13 108,3	14 107,7	17 141,7
Banane, (5g): Suc, ml R,* %	8 -	13 162,5	9,5 118,8	15 187,5
Morcov, (5g): Suc, ml R,* %	11,5 -	12,5 108,7	12,5 108,7	14 121,7
Portocale, (5g) Suc, ml R,* %	5,95 -	7 117,6	6,95 116,8	8 134,5

R* - creșterea randamentului de extracție

Sucurile, obținute prin tratament cu enzime au avut o vâscozitate mai mică, comparativ cu cele ne tratate enzimatic, probabil aceasta este consecința reducerii conținutului de pectină din compoziția lor [3, 10, 33- 35].

Tabelul 7. Randamentul presării.

Obiect de cercetare	Enzime			Pectinex 100 L Plus
	control	purificate	brute	
Mere (5g): S.U, SR(g) R,* %	2,7 -	1,9 29,6	2,1 22,2	1,87 30,7
Banane, (5g): S.U, SR(g) R,* %	8,5 -	2,38 72	3,3 61,2	2,6 69,4
Morcov, (5g): S.U, SR(g) R,* %	2,7 -	1,9 108,7	2,1 22,2	1,87 30,7
Portocale, (5g) S.U, SR(g) R,* %	8,5 -	2,38 29,6	3,3 61,2	2,6 69,4

Cercetătorii [10] au ajuns la concluzia că Pectinliaza purificată, produsă de *Bacillus pumilus* (P9) poate fi utilizată în procesele de fabricare al sucurilor.

Prezintă interes și preparatul enzimatic Pektopol PT-400 [35], care reprezintă un complex de enzime (polygalacturonaze, pectinesteraze, pectin liaze), obținute în procesul de biosinteză cu utilizarea tulpinii de *Aspergillus niger*. Preparatul conține de asemenea și alte enzime ca celuloze, hemiceluloze care hidrolizează polizaharidele și proteinele, favorizând extracția și limpezirea sucurilor.

Utilizarea Pektopol PT-400 la fabricarea sucurilor ameliorează creșterea randamentului sucului de fructe la presarea pulpei, crește viteza de presare a marcului, iar la presarea fructelor cu conținut majorat de pectină, precum ar fi coacăza neagră, contribuie la majorarea capacității de producție.

De menționat și alte caracteristici ale Pektopol PT-400 cum ar fi – de pectinizarea sucurilor de fructe, ce permite realizarea mai ușoară a procesului de clarificare, sucii se filtrează mai ușor, îmbunătățește claritatea sucului concentrat, îl face mai stabil la depozitare, prin stabilizarea sistemului coloidal al concentratului, reduce costurile de producție (procesul este scurtat și optimizat).

Doza de Pektopol PT-400 utilizată în procesul de presare și limpezire depinde în principal de timpul de reacție, de temperatură, de sortimentul și maturitatea fructelor [35]. În tabelul 8 sunt incluse dozele de Pektopol PT-400 recomandate pentru utilizare la producerea sucurilor de fructe.

Tabelul 8. Doze recomandabile de utilizare a Pektopol PT-400.

Destinația	T°C	Timpul, h	Doza
Pulpa de mere	15-25	0,6-1,5	60-120 g/t
Suc de mere	50	1-2	40-100g/1000 l
Pulpa de coacăză neagră	40-50	1-2	100-400 g/t
Suc de coacăză neagră	40-50	1-2	200-400 g/1000 l
Pulpa de coacăză roșie	40-50	1-2	100-200 g/t
Suc de coacăză roșie	40-50	1-2	100-300 g/1000 l
Pulpă de căpșune, zmeură, cireșe	40-50	1-2	80-150 g/t
Suc de căpșune, zmeură, cireșe	40-50	1-2	80-150 g/1000 l

În figurile 4 – 6, în baza studiului [35], este prezentată dependența activității enzimatică a preparatului enzimatic Pektopol PT-400 de diferiți factori ca: temperatura, valoarea pH, termostabilitatea. În figura 4 este reprezentată activitatea enzimatică a Pektopol PT-400 la diferite temperaturi ale sucului (10 - 60°C).

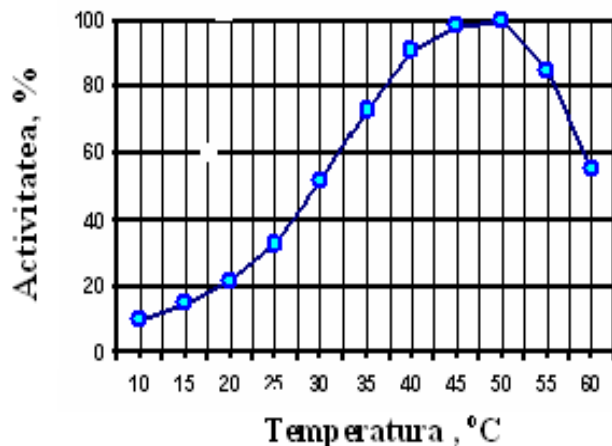


Figura 4. Influența temperaturii asupra activității enzimatică a Pektopol PT-400

Figura 5 atestă interdependența dintre activitatea enzimatică a preparatului enzimatic Pektopol PT-400 și pH mediului. Studiul [35] atestă o examinare a activității enzimatică pe intervalul pH (2,5 - 6,0), activitatea maximală fiind înregistrată la valoarea pH a mediului egală cu 4.

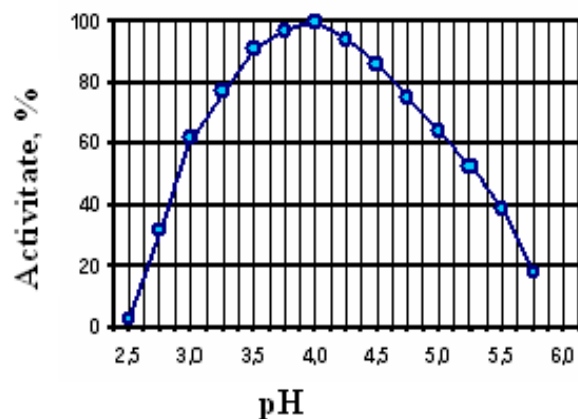


Figura 5. Influența pH-ului asupra activității enzimatică a Pektopol PT-400.

În figura 6 este prezentată termostabilitatea preparatului Pektopol PT-400 la diferite temperaturi [35]. Studiul termostabilității a fost realizat timp de 3 ore, înregistrând activitatea enzimatică a preparatului la fiecare jumătate de oră la temperaturile de 45, 50, 55, 60°C. Cea mai mare activitate enzimatică a preparatului s-a depistat în suc de măr, valoare pH a căruia a fost 3,2, la temperatura de 50°C.

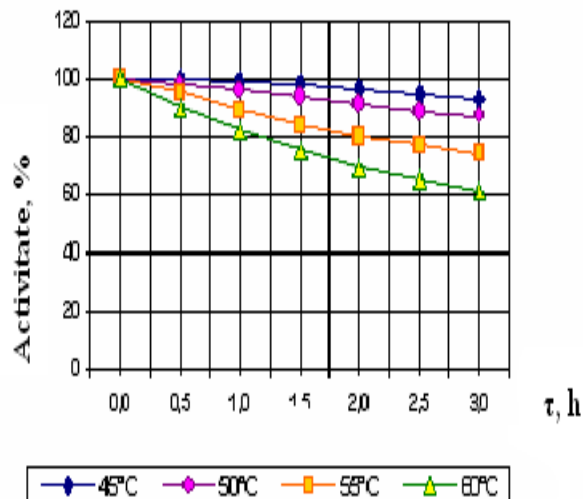


Figura 6. Termostabilitatea enzimatică a Pektopol PT-400.

În contextul celor relatate în baza studiului bibliografic, rezultă că Pectinliaza purificată, eliberată de *Bacillus pumilus* (P9), cât și preparatul enzimatic Pektopol PT-400, obținut în procesul de biosinteză cu utilizarea tulpinii de *Aspergillus niger*, ameliorează procesul tehnologic de producere al sucurilor de fructe și legume. Activitatea enzimelor este influențată de mai mulți factori: valoarea pH, T°C, efectul ionilor metalici și substanțelor chimice, inclusiv gradul de puritate al enzimelor, soiurile și gradul de maturitate al materiilor prime utilizate la fabricarea sucurilor etc.

Bibliografie

1. Afifi A. F. et al. Purification and characterization of a pectin lyase produced by *Curvularia inaequalis* NRRL 13884 on orange peels waste, solid state culture. *Ann. Microbiol.* 52: 287-297, 2002.
2. Nicolau A. *Microbiologia generală. Factori care influențează dezvoltarea microorganismelor*, Ed. Academica, Galați, p. 264, 2006.
3. Banu C. ș.a., *Biotehnologii în industria alimentară*, p. 513 -56, 2000.
4. Beg Q. K. et al., Production and characterization of thermostable xylanase and pectinase from a *Streptomyces* sp. QG 11-3. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 24:396-402, 2000.
5. Blancoa P., et al., Production of pectic enzymes: in yeasts. *FEMS Microbiol. Lett.* 175: 1-9, 1999.
6. Dosanjh N. et al., Production of constitutive, thermostable, hyperactive exopectinase from *Bacillus* GK-8. *Biotechnol. Lett.* 18: 1435-1438, 1996.
7. Cao J. et al., Screening of pectinase producer from alkalophilic bacteria and study on its potential

- application in degumming of rammie. *Enzym. Microbiol. Technol.* 14:1013-1016, 1992.
8. **Chen W. C.** et al., Purification and characterization of a pectin lyase from *Pythium splendens* infected cucumber fruits. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 39:181-186, 1998.
9. **Jayani R. S.** et al., Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochem.* 40:2931-2944, 2005.
10. **Hayrunnisa N.** et al., Production of a Novel Pectin Lyase from *Bacillus pumilus* (P9), Purification and Characterisation and Fruit Juice Application, *Romanian Biotechnological Letters*, Vol.15 nr. 2, 2011.
11. **Hayashi K.** et al., Pectinolytic enzymes from *Pseudomonas marginalis* MAFF03-01173. *Phytochemistry* 45: 1359-1363, 1997.
12. **Hamdy H. S.** et al. Purification and characterization of the pectin lyase produced by *Rhizopus oryzae* grown on orange peels. *Ann. Microbiol.* 55:205-211, 2005.
13. **Hoondal G. S.** et al. Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: a review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59:409-418, 2001.
14. **Huang L. K.** et al. Purification and characterization of an endo-polygalacturonase from *Verticillium albo-atrum*. *J. Appl. Microbiol.*, 86:145-156, 1999.
15. **Issenhuth F.** and **Schneider I.** The new generation of Panzym Mash, *Fruit Processing*, nr.5,p.254-255, 2008.
16. **Kashyap D. R.** et al. Production, purification and characterization of pectinase from a *Bacillus* sp. DT7. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 17: 277-288, 2000.
17. **Kim J. C.** et al. Production and characterization of acid-stable pectin lyase from *Bacillus* sp PN33. *J. Microbiol. Biotechnol.*8:353-360, 1998.
18. **Kashyap D. R.** et al. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technol.* 77: 215 - 227.
19. **Kapoor M.** et al. Production and partial purification and characterization of a thermo-alkali stable polygalacturonase from *Bacillus* sp.MG-cp-2. *Process. Biochem.* 36:467-473, 2000.
20. **Leonte M și Florea T.** *Chimia alimentară, Editura PAX AURA MUNDI, Galați, 360 p.* 1998.
21. **Martin N. M.** et al., Pectinase production by fungal strains in solid-state fermentation using agro-industrial bioproduct. *Braz. Arch. Biol. Tech.* 47. 813 - 819, 2004.
22. **Nedjma M.** et al. Selective and sensitive detection of pectin lyase activity using a colorimetric test: application to the screening of microorganisms possessing pectin lyase activity *Anal. Biochem.* 291:290-296, 2001.
23. **Obi S. K. C.** et al. Pectin lyase and polygalacturonase of *Aspergillus niger* pathogenic for yam tubers (*Dioscorea rotundata*). *Int. J. Food Microbiol.* 1:277-289, 1985.
24. **Patil S. R.** et al. Optimization of process for the production of fungal pectinases from deseeded sunflower head in submerged and solid-state conditions. *Bioresource Technol.* 97: 2340-2344, 2006.
25. **Pilnik W.** et al. Pectic enzymes in fruit juice manufacture. In: Nagodawithma, T., and Reed, G., eds., *Enzymes in Food Processing*, New York, Academic Press, pp.365-399, 1993.
26. **Fernandez P.** *Enzymes in Food Processing: A Condensed Overview on Strategies for Better Biocatalysts*, *Enzyme Res.* 2010; 2010: 862537, 2010.
27. **Rai P.** et al. Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology. *J. Food Eng.* 64:397-403, 2004.
28. **Sharma HSS.** Enzymatic degradation of residual non cellulosic polyssaccharides present on dew retted flax fibres. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 26: 358 - 362, 1987.
29. **Sunnotel, O.** et al. Pectinolytic activity of bacteria isolated from soil and two fungal strains during submerged fermentation. *World J. Microbiol. Biotechnol.*18:835-839, 2002.
30. **Takao M.** et al. Purification and characterization of thermostable pectate lyase with protopectinase activity from thermophilic *Bacillus* sp. TS 47. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64: 2360 - 2367, 2000.
31. **Taragano V. M.** et al. Application of Doehlert designs for water activity, pH, and fermentation time optimization for *Aspergillus niger* pectinolytic activities production in solid-state and submerged fermentation. *Enzym. Microb. Tech.* 25: 411-419, 1999.
32. **Tanabe H.** et al. Pretreatment of pectic waste water from orange canning process by an alkalophilic *Bacillus* sp. *J. Ferm. Technol.* 65 :243-246, 1987.
33. www.novozymes.com
34. A new generation of pectinases for juice, *Processing, BBII*, 2/2008.
35. Calitatea, PEKTOPOL PT-400. Standard ZN -01/97PEKTOWIN