

## Penészek zsírbontásának vizsgálata

BÍRÓ GÉZA

Állatorvostudományi Főiskola Élelmiszerhigiénia Tanszék, Budapest

Érkezett: 1960. október 6.

### Bevezetés.

Az élelmiszeripari zsíroknak, úgy az állati, mint növényi zsíroknak mikroorganizmusok által történő lebontása ismert jelenség ugyan, a penészek ilyen irányú tevékenységére és a zsírbontás vizsgálatára mégis hasznos a figyelmet felhívni.

A penészek ugyanis hidrolizáló lipáz és oxidáló lip-oxidáz enzimeikkel — megfelelő körülmények között — a zsiradékromlás tipikus jelenségei közül savasodást, aldehid-avasodást, keton-avasodást, szappanosodást okozhatnak. Vizsgálatainkban különösen az édesipari termékek szappanos ízelváltására térünk ki, amelynek keletkezése magyarázatában az irodalom is csak feltételezéseket tartalmaz. Vizsgálatainkban a szappanos ízelváltást mutató készítményeknél, több alkalommal a penészek nagy számát (több ezres nagyságrend) találtuk, viszonylag kis baktériumszám mellett.

Hilditch (1) könyvében leírja, hogy a penészek sejtjei maguk is tartalmaznak több-kevesebb zsírt, ami a szárazanyag 10%-át is kiteheti. *Penicillium javanicum*, *Oidium lactis* és *Aspergillus nidulans* törzsek zsírféleségei palmitin-, stearin-, olein-, linolsavat tartalmaztak. A penészek zsírképzésének mérve függ a táptalaj minőségétől; Barber (2) például megemlíti, hogy egy penicillium törzs glukóz, szaharóz, vagy glicerin oldatban különböző arányban képzett telített és telítetlen zsírokat.

Az *Aspergillus niger* lipáztermelését Schenker (3) vizsgálta és a pH optimumot 30–35 C fokon 5,0–5,5-nek találta.

Contardi és Ercoli (4) *Aspergillus oryzae* vizsgálatánál kimutatta, hogy ez a törzs lecithinase B enzimjével a lipoidokat is hidrolizálni tudja.

Lea (5) a zsírok avasodásáról írt munkájában behatóan foglalkozik a mikroorganizmusok szerepével. Mucor penészgombáknak marhazsírra kifejtett hidrolizáló hatását vizsgálva azt tapasztalta, hogy 20 C fokon 5 nap, 0 C fokon pedig 20 nap alatt a zsír szabad savtartalma 12%-ra (olajsavban kifejezve) növekedett. Hangsúlyozza, hogy a mikroorganizmusok lipázképzése mellett ismeretes a szöveti lipáz hatása is. Tárolt gyümölcsökből és magvakból kivont növényi zsírok nagy savszámát a szöveti és mikrobás eredetű lipáz együttes hatásának tulajdonítja. Összefoglalja a lipáz enzim aktivitásának meghatározására alkalmas módszereket. E szerint zsírt tartalmazó tápközegben a mikroorganizmusok által termelt enzim hatására tiszta folyékony zsír-film, vagy opaleszkáló emulzió képződik a táptalaj felületén. A tápközegbe helyezett indikátor a savasodás miatt színváltozással, rézszulfát hozzáadása pedig kékeszöld színű szappan képződésével jár. Steril, szűrt oldatban a lipáz enzimnek jellegzetes a vörösvérsejtekre kifejtett hatása. A szappanos íz keletkezésénél feltételezi, hogy ez a zsírsavak ammóniával való kombinációja, ammóniumszappan hatására jön létre. Az ammónium a zsír mellett levő fehérjék szintén mikrobás elbontásából származhat.

Haskó (6) leírása szerint a szabaddá vált zsírsavak további elváltozásokon mennek át és egyéb kísérőanyagokkal alacsony szénatomú zsírsavak keletkeznek (kaprin, kaprol), amelyek szappanos ízt okozhatnak. Stoke és Stärkle (7,8) megállapítják, hogy a penészek kókuszdió olajban, pálmamag olajban és vajzsírban levő zsírsavakból metilketonokat képeznek, amelyek azután szagelváltozást idéznek elő.

*Jensen és Grettie* (9) kísérletei, amelyekben sertézsírt és hidrogénezett kókuszdió olajat oltottak be mikroorganizmusok által termelt lipáz és oxidáz enzimekkel azt bizonyítják, hogy azok a mikroorganizmusok, amelyek lipáz enzim mellett oxidázt is képeznek, avasodást tudnak előidézni. Ugyanezek a szerzők kókuszdió és palmaolaj felhasználásával készült táptalajt ajánlanak, amelyben a Níluskék-szulfát indikátor színváltozással jelzi a lipázképző telepeket.

*Shipe* (10) a lipáz-aktivitás meghatározására a táptalajból kivont zsír szabad savtartalmának titrálását ajánlja.

### Vizsgálati módszerek

Vizsgálatainkban különböző zsírféleségek felhasználásával táptalajokat készítettünk, amelyeken a penészeket elszaporítottuk. Különböző tenyésztési idők után a táptalajokból a zsírokat kinyertük, és azokon kémiai vizsgálatokat végeztünk.

A zsírféleségek sertézsír, marhazsír, keményített (hidrogénezett) növényi zsírok; nougat-, csokoládé-, kroklánzsír voltak. A táptalajok elkészítését a következőképpen végeztük:

a) Kémcsővekben ferde agar-szerűen 3–4 g zsírt merevítettünk, majd erre 5 ml folyékony táptalajt vittünk (*Czapek-féle* folyékony penész-táptalaj, pH 5,2).

b) Felolvasztott és kémcsővekbe töltött 12–14 ml *Sabouraud* féle agar-táptalajhoz 1–2 ml felolvasztott zsírt adtunk. Rázással és hirtelen lehűtéssel a táptalaj megmerevedésekor a zsír kis zsírgolyók alakjában oszlott el az agarban.

c) A felolvasztott zsírból 20 ml-t Petri-csészékbe öntöttünk, merevedés után pedig a felületén 5–10 ml olvasztott *Sabouraud* agar-táptalajt egyenletesen elosztottunk, amely szintén megmerevedett. Így a zsíron egy szilárd táptalajréteget kaptunk.

d) 20 ml olvasztott zsírt Petri-csészében merevítettünk, és így a tiszta zsírra oltottuk a penészeket.

A táptalajok beoltását *Penicillium martensii* és *Aspergillus oryzae* törzsekkel végeztük, amelyeket édesipari termékekből tenyésztettünk ki.

A penésztörzsekkel beoltott táptalajokat 30 C fokon különböző ideig inkubáltuk. A zsír-*Czapek* féle táptalajösszetételben (a) 10 napig, a zsír-*Sabouraud* táptalaj esetén (b, c) 14 napig, tiszta zsíron (d) pedig 21 napig végeztük a tenyésztést.

Tiszta zsírok inkubálása esetén (30 C fokos termosztátban) a felfordított Petri-csészéket kissé kinyitottuk és mellettük vizet párologtattunk. Ilyen állapotban inkubáltuk 4–5 napig, majd a Petri-csészéket lezártuk.

Az a, c, d, táptalajösszetételből kinyert zsírokon kémiai vizsgálatot végeztünk. A zsíroknak a táptalajból való kinyerését úgy végeztük, hogy a Petri-csészékben az agartól elválasztott, illetve a kémcsővekből kivett zsírok külső felületét szűrőpapírral leszárítottuk, megolvasztottuk, majd a megolvadt zsíradékból a kémiai vizsgálatokhoz a beméréseket elvégeztük.

A kémiai vizsgálatok során a savszám a zsíradék szabad savtartalmára, a *Lea* szám pedig a peroxidok mennyiségére adott felvilágosítást. A *Kreis*-reakció az esetleges aldehideket és ketonokat mutatja ki.

A vizsgálatokhoz beoltatlan kontrollokat is állítottunk be.

### Vizsgálati eredmények

A b) táptalajösszetételben levő zsírokból kémiai vizsgálatokat nem végeztünk, a penészeknek az agarban levő zsírgolyócskákra kifejtett zsírbontó tevékenysége azonban minden különösebb vizsgálat nélkül is szem-

betűnő volt. Az inkubálás 10—14 napján ugyanis azt tapasztaltuk, hogy az agar felületén, de a felület közelében a kémcsövek falánál is a penész által körülvett zsírgolyócskák matt fényűvé, majd a széli részén áttetszőkké, illetve átlátszókká lettek. A kísérleti beállítást *Lea* (5) szerint végeztük el, ahol a zsírt tartalmazó tápközegben enzim hatására egy tiszta, folyékony zsírfilm képződött. Esetünkben ez a zsír-film a zsírgolyócskák felületén keletkezett.

A kémiai vizsgálatok eredményeinél leginkább a savszám értékeiből vonhattunk le következtetéseket.

Táblázatainkban ugyanis a kontroll minták eredményei egy esetben sem érték el a 2-es savszámot (ami megfelel kb. 1 % szabad zsírsavtartalomnak), a penésztörzsekkel oltott táptalajösszetételekben viszont a penészek enzimatívkenysége következtében minden esetben meghaladták ezt az értéket (1., 2., 3., táblázat).

1. táblázat

CSAPEK-FÉLE MÓDOSÍTOTT (1. vizsg. módszer „a” pont)  
TÁPTALAJÖSSZETÉTELBŐL KINYERT ZSÍROK KÉMIAI  
VIZSGÁLATI EREDMÉNYE

Megnevezés	Savszám	Lea szám	Kreis-reakció
I/p	7,57	0,55	+
II/p	6,84	0,20	—
III/p	4,88	0,13	—
I/a	2,69	0,35	++
II/a	2,41	0,35	++
III/a	2,02	0,45	+
I/k	1,45	0,35	—
II/k	1,12	0,40	+
III/k	0,84	0,35	+

Jelmagyarázat:

I.: nougatszír  
II.: csokoládézsír  
III.: Kroklánzsír

p: *Penicillium martensii*  
a: *Aspergillus oryzae*  
k: kontroll.

Az 1. és 2. táblázatot összehasonlítva az utóbbi (2) táblázatban lényegesen nagyobb savszám értékeket láthatunk, ami valószínűleg a nagyobb penészfejlődés mértékével kapcsolatos. *Sabouraud* táptalajon ugyanis igen bő penészfajlódást tapasztaltunk, a táptalajt 2—4 mm vastagságban borította a penész, míg a *Czapek*-féle táptalajban rendszerint csak a folyékonytáptalaj felületén vékony hártya alakjában történt a növekedés.

A 2. táblázatból egyben az is látható, hogy a penésztörzsek az édesipari zsírok mellett a sertés- és marhazsírt is nagy savszámemelkedés (30—40 % szabad zsírsav) mellett bontják.

A 3. táblázat adatai azt bizonyítják, hogy a tiszta zsíron elszaporodó penészek kémiailag is kimutatható változást okoznak a zsírban, és egyben igazolják a penészeknek a táptalajigényekben megmutatkozó nagy alkalmazkodó képességét.

Eroősebben pozitív *Kreis*-reakciót a nougat-, és csokoládézsírnál észleltünk. A *Lea* szám és *Kreis*-reakció értékelésénél azonban tekintettel kell lennünk arra, hogy ezek a reakciók a zsír bontásának folyamatában egyes közbenső termékeket (peroxidok, aldehidek, ketonok) mutatnak ki. A savszám nagy értékeit ezért nem teljes mértékben csak hidrolízises

SABOURAUD-FÉLE MÓDOSÍTOTT (I. vizsg. módszer „b”, „c” pont)  
TÁPTALAJÖSSZETÉTELBŐL KINYERT ZSÍROK KÉMIAI  
VIZSGÁLATI EREDMÉNYEI

Megnevezés	Savszám	Lea szám	Kreis-reakció
I/p	48,6	0,12	—
II/p	23,1	0,10	+++
III/p	32,1	0,10	+
I/a	35,4	0,65	—
II/a	14,0	0,10	+
III/a	17,3	0,10	+
m/p	22,0	0,25	—
s/p	21,1	0,90	—
m/a	25,1	0,35	—
s/a	42,7	0,50	—
I/k	0,59	0,20	—
II/k	0,89	0,05	—
III/k	1,70	0,10	+
m/k	0,89	0,25	—
s/k	1,06	0,45	—

Jelmagyarázat:

m: marhazsír  
s: sertészsír

I.: Nougatzsír  
II.: Csokoládézsír  
III.: Krokántsír

p: *Penicillium martensii*  
a: *Aspergillus oryzae*  
k: Kontroll.

3. táblázat

TISZTA ZSÍRON VALÓ PENÉSZTENYÉSZTÉS UTÁN A ZSÍROK  
KÉMIAI VIZSGÁLATI EREDMÉNYE

Megnevezés	Savszám	Lea szám	Kreis-reakció
I/p	3,90	0,95	—
II/p	1,60	0,75	++
III/p	2,80	0,45	++
I/k	0,32	0,40	—
II/k	0,36	0,05	++
III/k	0,31	0,05	++

Jelmagyarázat: mint az 1. táblázatban.

bontásból származó zsírsavaknak kell tulajdonítanunk, hanem az egyéb bomlási folyamatok során képződött végtermékek savasodást előidéző hatásának is. Az identifikált penésztorzseken kívül ugyanis még megvizsgáltuk több *penicillium*, *aspergillus*, *mucor* törzs zsírbonító tevékenységét, és néhány esetben tapasztaltuk, hogy az alacsonyabb savszám értékek mellett erősebb *Kreis*-reakció értékeket kaptunk, amely bizonyítja, hogy a hidrolízisen kívül oxidatív folyamatok nagyobb mértékben is szerepelnek a zsírok lebontásában.

A vizsgált penészfélések tehát a zsírokat elbontották. Ezért az édesipari terméken „szappanosodásban” a penészek lényeges szerepet játszanak. A gyakorlatban azonban figyelembe kell venni azt is, hogy e zsíroknál a biokémiai folyamatok mellett fizikai behatásra (fény, levegő, hőmér-

séklet stb.) lejátszódtott autooxidációs folyamatok is végbemennek, és ez utóbbi tényezők hatása nem elhanyagolható.

A kémiai vizsgálatok elvégzéséért Györfő Károlynének (Édesipari Kísérleti- és Minőségvizsgáló Laboratórium), a penész törzsek identifikálásáért Nyerges Pálnének (Szőlészeti Kutató Intézet) ezúton is köszönetet mondok.

#### IRODALOM

- (1) Hilditch, T. P. : The chemical constitution of natural fats. London 1956.
- (2) Barber, H. H. : Biochem. J. 23, 1158, 1929.
- (3) Schenker, R. : Biochem. Z. 120, 164, 1921.
- (4) Contardi, A., Ercoli, A. : Biochem. Z. 161, 275, 1933.
- (5) Lea, C. H. : Rancidity in edible fats. New York 1939.
- (6) Haskó L. : Zsírok és olajok kémiaja és technológiája Budapest. 1954.
- (7) Stoke, W. N. : Biochem. J. 22, 80, 1928.
- (8) Stärkle, M. : Biochem. J. 151, 371, 1924.
- (9) Jensen L. B., Grettie, D. P. : Food Res. 2, 97, 1937.
- (10) Shipe W. F. Jr. : Arch. Biochem. 30, 165, 1951.

### ИССЛЕДОВАНИЕ РАСЩЕПЛЕНИЯ ЖИРОВ ПЛЕСНЯМИ

K. Buro

Автор исследовал действие штаммов *Penicillium mattsucii* и *Aspergillus oryzae* на свиной, говяжий жир, на гидрированные растительные масла, на жиры нугата, шоколада и на жир кроклан. С такими жирами приготовил питательную среду Цапека и Сабуроа и после культивирования плесней, производил химическое исследование жиров. Во время исследований определил кислотное число, число Леа и реакцию Крейса. Из полученных результатов установил, что исследованные плесни вызывают расщепление (прогоркание, подкисление) указанных жиров и вследствие этого играют определенную роль при омылении кондитерских продуктов.

### FETTZERSETZUNG VON SCHIMMELPILZEN

G. Biró

Verfasser studierte die von den Schimmelpilzstämmen *Penicillium martensii* und *Aspergillus oryzae* auf Schweine-, Rindfett und gehärtete (hydrogenisierten) pflanzliche Fette, auf Nougat, Schokolade und Krokkanfett ausgeübte Wirkung. Er „baute“ die Fette in Schimmelnährböden nach Czapek und Sabouraud ein und unterwarf dieselben nach Rückgewinnung einer chemischen Prüfung. Er bestimmte die Säurezahl, die Lea-Zahl und prüfte die Kreis-Reaktion. Aus den Resultaten zog er die Folgerung, dass die untersuchten Schimmelpilze eine Fettzersetzung (Ranzig- und Sauerwerden) hervorrufen und deshalb auch bei der Verseifung der süßwarenindustriellen Produkte eine Rolle spielen.

### INVESTIGATION OF THE FAT DECOMPOSING EFFECT OF MOULDS

G. Biró

The decomposing effect of the mould strains *Penicillium martensii* and *Aspergillus oryzae* on pig fat, cow fat, hydrogenated vegetable fats, nougat fat, chocolate fat and croquelin fat was subjected by the author to an investigation. The fats were transferred into Czapek and Sabouraud mould nutrients, subsequently extracted and subjected to chemical examinations, including the determination of the acid number, the Lea value and the behaviour in the Kreis reaction. Of the results, the conclusion is drawn that the moulds examined provoke the decomposition of fats (rancidity, acid formation) and thus, they play a role also in the saponification of confectionary products.