
DOKTORI (PhD) DISSZERTÁCIÓ

KAPCSÁNDI VIKTÓRIA

MOSONMAGYARÓVÁR

2015

**NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
MOSONMAGYARÓVÁR
Biológiai Rendszerek Műszaki Intézete**

**Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer- tudományi
Multidiszciplináris Doktori Iskola**

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Neményi Miklós egyetemi tanár, az
MTA levelező tagja

Alprogram: Pulay Gábor Élelmiszertudományi Doktori Program
Alprogramvezető: Prof. Dr. Szigeti Jenő CSc

Témavezetők:
Prof. Dr. Neményi Miklós (PhD) DSc,
Dr. Lakatos Erika (PhD)

**MIKROHULLÁMÚ KEZELÉS HATÁSA
A *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ÉLETTEVÉKENYSÉGÉRE,
A SZŐLŐMUST ERJEDEDÉSÉRE
ÉS A CELLULÓZBONTÁS FOLYAMATÁRA**

Készítette:
KAPCSÁNDI VIKTÓRIA

MOSONMAGYARÓVÁR
2015

**Mikrohullámú kezelés hatása a *Saccharomyces cerevisiae*
élettevékenységére, a szőlőmust erjedésére
és a cellulózbontás folyamatára**

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében
a Nyugat-magyarországi Egyetem „Wittmann Antal Növény-, Állat- és
Élelmiszer- tudományi Multidiszciplináris” Doktori Iskolája „Pulay
Gábor Élelmiszertudományi Doktori Program”

Írta: Kapcsándi Viktória

Témavezetők: Prof. Dr. Neményi Miklós (PhD) DSc,
Dr. Lakatos Erika (PhD)

Elfogadásra javaslom (igen / nem)
(aláírás)

Elfogadásra javaslom (igen / nem)
(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton % -ot ért el,

Sopron/Mosonmagyaróvár
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)
Első bíráló (Dr.) igen /nem
Második bíráló (Dr.) igen /nem
(Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen /nem

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján.....% - ot ért el

Sopron/Mosonmagyaróvár
a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....
Az EDT elnöke

TARTALOMJEGYZÉK

KIVONAT	3
ABSTRACT	3
1. BEVEZETÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	7
2.1. A mikrohullámú besugárzás	7
2.1.1. <i>A mikrohullámú besugárzás általános alapjai.....</i>	<i>7</i>
2.1.2. <i>A mikrohullámú besugárzás termikus és nem termikus hatásai.....</i>	<i>12</i>
2.2. Az élesztő.....	19
2.2.1. <i>A Saccharomyces cerevisiae főbb tulajdonságai</i>	<i>19</i>
2.2.2. <i>Az élesztő, mint az erjesztési technológia egyik fő szereplője.....</i>	<i>26</i>
2.3. Fermentációs technológiák	29
2.3.1. <i>A borászati technológia lépései</i>	<i>29</i>
2.3.2. <i>Az erjedés és az azt befolyásoló tényezők</i>	<i>31</i>
2.3.3. <i>Az erjesztés módjai és berendezései.....</i>	<i>37</i>
2.3.4. <i>Rendellenes erjedési folyamatok.....</i>	<i>42</i>
2.4. Szőlővenyige enzimes hidrolízise és nagy nyomású kezelése	45
2.4.1. <i>A cellulóz.....</i>	<i>45</i>
2.4.2. <i>Celluláz enzimrendszer</i>	<i>48</i>
2.4.3. <i>Enzimes hidrolízis és gőzrobbantás</i>	<i>51</i>
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	55
3.1. MARS mikrohullámú berendezés.....	55
3.2. A Saccharomyces cerevisiae pusztulási és szaporodási tulajdonságainak vizsgálata mikrohullámú besugárzás hatására	57
3.2.1. <i>A pusztulási görbék meghatározása.....</i>	<i>57</i>

3.2.2. A szaporodási görbék.....	60
3.2.3. Glükóz bontási képesség vizsgálata	61
3.3. Szőlőmust erjedési folyamatainak mérése	67
3.3.1. Mérési módszerek az erjedés során	71
3.4. Szőlővenyige mikrohullámú előkezelése és enzimes bontása	77
3.5. Matematikai-statisztikai módszerek a mérések során	82
4. EREDMÉNYEK.....	83
4.1. A <i>Saccharomyces cerevisiae</i> besugárzási vizsgálatainak eredményei	83
4.1.1. Sejtpusztulási vizsgálat	83
4.1.2. Szaporodási vizsgálatok eredményei.....	87
4.1.3. A <i>Saccharomyces cerevisiae</i> erjesztési aktivitásának mérése.....	91
4.2. Mikrohullámú kezelés hatása a szőlőmust erjedésére	96
4.3. A szőlővenyige mikrohullámú és enzimes kezeléseinek eredményei	106
4.3.1. Előkísérletek.....	106
4.3.2. Hosszú idejű cellulózbontási eredmények.....	108
5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVALATOK	120
6. ÖSSZEFOGLALÁS	121
7. TÉZISEK	125
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	126
9. IRODALOMJEGYZÉK.....	127
JELMAGYARÁZAT	146
MELLÉKLETEK.....	147

KIVONAT

A szerző tanulmányozta a 2,45 GHz frekvencián működő mikrohullámú sugárzás hatását a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőre. A vizsgálatok során elsősorban az erjesztési tulajdonságokra való hatását detektálta. A mikrohullámnak azt a tulajdonságát tanulmányozta, amely elsősorban a nem termális hatásokkal foglalkozik. Az élesztővel végzett vizsgálatokon kívül, a mikrohullám enzimekre és azok aktivitásának megváltozására való hatásával is foglalkozott. Megállapította, hogy a mikrohullámú sugárzás befolyásolja a *Saccharomyces cerevisiae* erjesztési tulajdonságait, amely elsősorban az alkohol-kihozatalban, a fermentációs folyamat változásában és a fermentációs idő csökkenésében mutatkozik meg. Az enzimaktivitás növekedése is igazolható a mikrohullámú kezelések alkalmazása mellett.

ABSTRACT

The author investigated the effects of 2,45 GHz microwave radiation on yeast *Saccharomyces cerevisiae*. During measurements the main focus was on the impact of the fermentation properties. The author mainly deals with non-thermal effects of microwaves properties. In addition to the studies of yeast she also dealt with microwave effect of enzymes. It can be stated that the microwave radiation influenced the fermentation characteristics of *Saccharomyces cerevisiae*, which is reflected in the alcohol yield, the change of fermentation process and decreasing the fermentation period. The increase in enzyme activity can be verified under the application of microwave treatments.

1. BEVEZETÉS

A rohamosan változó és fejlődő világunkban egyre nagyobb teret hódítanak maguknak az elektromos berendezések, többek között a mikrohullámú sugárzást kibocsátó készülékek. Ezeket a készülékeket manapság már nemcsak a háztartásokban, hanem ipari körülmények között is alkalmazzák.

A mikrohullám számos felhasználási formája között szerepel többek között (az otthoni használat mellett) a rádióműsorok sugárzása, a radar használat, rengeteg informatikai szolgáltatás (Bluetooth, IEEE), kábeltévé, internet és telefonszolgáltatások.. stb. Mindezek mellett az élelmiszeriparban is alkalmazzák a mikrohullámokat, melynek itt is többféle felhasználási formája ismert (szárítás, pasztörözés, sütés, enzimek inaktiválása), analitikai célra azonban a szárazanyag tartalom meghatározásra, illetve különböző anyagok kémia feltárására korlátozódik alkalmazása.

A Biológiai Rendszerek Műszaki Intézetében számos szak- és diplomadolgozat, valamint doktori disszertáció tárgyát képezte már a mikrohullámú sugárzás kutatása, az ennek hatására bekövetkező hő és anyagtranszportok, valamint a sugárzás hatására történő biológiai változások is (NEMÉNYI et al., 2003). Leírták, hogy a mikrohullámú tér eloszlása nem egyenletes, így a besugárzott anyagban eltérő mértékű felmelegedés és nagy hőeloszlásbeli különbségek alakulnak ki. LAKATOS (2006) dolgozott ki egy olyan rendszert, amely a homogén tér kialakítását tette lehetővé. Jelentős a mikrohullámú sugárzás szerepe az enzimek inaktiválásában, azonban kevesebb szakirodalmi hivatkozás található az

enzim aktivitás növelésére vonatkozóan. LAKATOS et al. (2009, 2012) kimutatta, hogy a cellobiáz enzim aktivitása 25%-kal növelhető. Ennek alapján arra következtethetünk, hogy a mikrohullám számos egyéb kémiai és biológiai folyamatra is hatással van.

Ismeretes, hogy a mikrohullámú sugárzás hatása a hőmérséklet emelkedésével jár együtt. Kevésbé ismerik azonban a nem termikus hatásokat. A biológiai folyamatok befolyásolása során a hőhatáson kívül a mikrohullám nem termikus, un. non- termális hatása is érvényesül. Számos kutatási eredmény igazolja már, hogy kis teljesítményű elektromágneses sugárzás, hatással van a sejtekre, elsősorban a sejtmembránokra és az enzimikus folyamatokra (KRUNAL et al., 2012; PANAGOPOULUS et al., 2002). Mindezek mellett sok tanulmány foglalkozott már azzal, hogy a mikrohullámú sugárzás nem csak magára a sejtekre, hanem a befoglaló közegre, vagyis a vízre is hatással van (SZERENCSEI et al., 2009).

Ezen ismeretek alapján kutatásaink célja elsősorban a mikrohullámnak az élő sejteket és enzimeket befolyásoló hatásának vizsgálata volt.

Kutatási célkitűzéseink:

Kutatásaink során a *Saccharomyces cerevisiae* vizsgálatát tűztük ki célul, laboratóriumi modell tápközegben, légköri nyomásviszonyok és konstans hőmérsékleti értékek mellett, kis teljesítményű mikrohullámú sugárzás hatására. Méréseink során arra kerestük a választ, hogy a mikrohullámú sugárzás milyen hatással van a sejtek pusztulási és szaporodási tulajdonságaira laboratóriumi körülmények között. A mesterségesen beállított kísérleteken kívül vizsgálatuk az élesztők tulajdonságait valós közegben (must) is, amely során az alkoholos erjedés folyamatát követtük nyomon. Vizsgálataink kiterjedtek a *Saccharomyces cerevisiae* glükózbontási képességeinek vizsgálatára is.

A dolgozat célkitűzése volt ezen kívül, hogy alátámasszuk a mikrohullám enzimekre [1,4-(1,3;1,4)- β -D-glükán-4-glükánhidroláz] gyakorolt jótékony hatását. Kísérleteink során a hatalmas mennyiségben keletkező szőlővenyige mikrohullámú gőzrobbantása, majd enzimes bontása volt a kutatás fő irányvonala. Ennek során a cellulózbontó enzim mikrohullámú kezelésével próbáltuk bizonyítani annak enzimaktivitás növelő hatását, amely révén magasabb glükózkihozatal érhető el, amely számos iparág (pl.: bioetanol előállítás) számára nyújthatnának alapot további fejlesztésekhez.

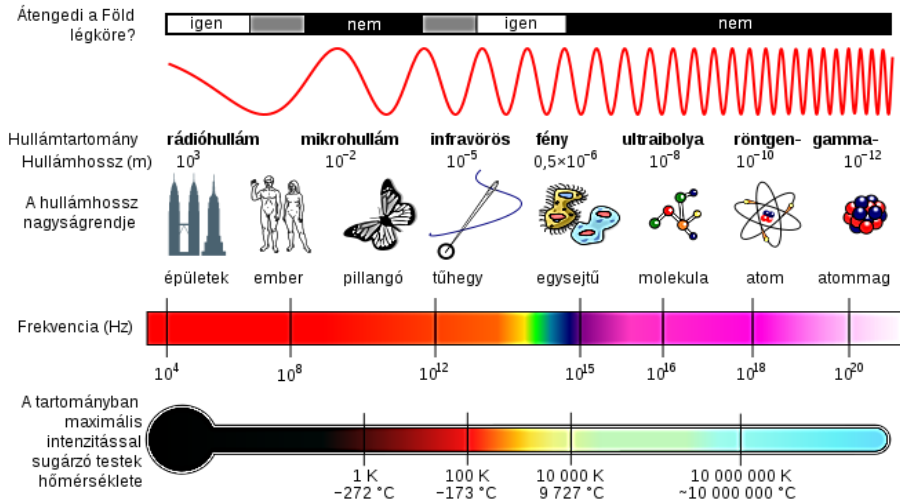
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A mikrohullámú besugárzás

Mai modern, rohanó világunkban mindennapjaink részévé vált a különböző hullámhosszúságú elektromágneses sugarakat kibocsátó készülékek használata, amelyek előnyei a hagyományos technológiákkal szemben jól ismertek. Ezért az ezen sugarak hatásának vizsgálata előtérbe került (SUTTON, 1992).

2.1.1. A mikrohullámú besugárzás általános alapjai

A mikrohullámok olyan elektromágneses hullámok, amelyek elektromos és mágneses mezőkből állnak és mozgásukat tekintve egymásra merőleges rezgést végeznek. Az elektromágneses tér részecske (foton) és hullám (transzverzális hullám) tulajdonságokkal is rendelkezik (SZABÓ, 1990), amelyek nem állandó energiaáramlásként, hanem jól meghatározott kvantumokban terjednek. Az elektromágneses sugarak hullámhossz nagysága a nanométerektől egészen a kilométerekig terjed, amely tartományból az általunk vizsgált mikrohullám 1 m-től 1 mm-ig terjed.



1. ábra. Az elektromágneses spektrum (URL¹)

Az 1. ábrán jól megfigyelhető, hogy a legkisebb hullámhosszhoz tartozik a legnagyobb energia (URL¹). A hullámhossz csökkenésével és az energia növekedésével sorrendben megkülönböztetünk: rádió- és mikrohullámokat, infravörös (infra red, IR), látható, ultraibolya (ultraviolet, UV) sugárzást, röntgen- és gammasugárzást. Végül, a kozmikus sugárzást is (ennek hullámhossza kisebb, mint 1 nm, és nagyon nagy energiájú fotonokat képvisel), amely az ábrán nem is szerepel.

Az elektromágneses tér energiája felhasználható fizika-kémiai és biológiai folyamatok (KOSTOFF és LAU, 2013) befolyásolására (SZABÓ, 1991). Igaz, hogy a mikrohullámok energiája nem elegendő a molekulák kötéseinek felbontására, azonban képes biológiai szerkezetek átalakítására (SZABÓ et al., 1987), sejt-membránok, molekulák közötti kötések elroncsolására (RAJKÓ et al., 1996) a termikus műveletek (pl. sterilizálás, főzés, tartósítás, ipari sejt-bontás, fermentálás, enzim-átalakítás stb.) során (SZABÓ és RAJKÓ, 1995).

Mikrohullámnak tekintik a 300 MHz és 300 GHz közötti tartományt (ALMÁSSY, 1982; MÁTAY és ZOMBORY, 2000; POZAR, 1993; SCHUBERT és REGIER, 2005). Az élelmiszeriparban és biotechnológiában az elektromágneses hullámok számos formáját alkalmazzák: az infravörös sugarakat és mikrohullámokat (SZABÓ, 1993; SZABÓ, 1998), a gamma sugarakat sterilizálásra, konzerválásra használják az élelmiszeriparban, az ultraibolya sugárzást pedig a levegő mikrobáinak csökkentése; az aszeptikus gyártóvonalakban a folyadékok (gyümölcslevek, tej, stb.) töltésénél; a szeletelt kenyér csomagolásánál; sajtok, húsipari szárazárak érlelő helyiségeiben és hűtőtárolókban.

Az élelmiszeripari és biotechnológiai felhasználáson kívül a mikrohullámot a radar és navigációs technikában, híradástechnikában is széles körben alkalmazzák.

A különböző sugárzások valamint a biológiai anyagok közötti reakciók megértéséhez elengedhetetlenül szükséges a sugárzást leíró jellemzők közötti összefüggések ismerete. Ezeket a törvényeket a Maxwell egyenletekkel lehet leírni (DATTA és ANANTHESWARAN, 2001; SCHUBERT és REIGER, 2005).

Az elektromágneses hullámok hullámhossza (λ , [m]), frekvenciája (f , [1/s]), valamint sebessége (v , [m/s]) a következő összefüggéssel határozható meg (1):

$$\lambda = \frac{v}{f}, \quad (1)$$

Az 1. egyenletet felhasználva a 2,45 GHz frekvenciához tartozó hullámhossz a következőképp számítható ki (SINGH és HELDMAN, 2001).

$$\lambda_{2450} = \frac{3 \cdot 10^8 \left[\frac{m}{s} \right]}{2450 \cdot 10^6 \left[\frac{1}{s} \right]} = 0,122 \text{ m} = 12,2 \text{ cm} \quad (2)$$

A mikrohullámú melegítés alapja, hogy az elektromos tér erőt fejt ki a dipólussal rendelkező részecskére. Példaként a vízmolekula töltéseloszlását tekintve elektromos dipólus. A 2,45 GHz-es mikrohullámú frekvencián a vízmolekulák megpróbálnak igazodni a változó polaritáshoz, miközben egymáshoz ütődnek, sűrűlnek, a hidrogén-híd kötések felbomlanak, és új kötések alakulnak ki. Eközben energia szabadul fel, amely mozgási energiává alakul át. Ennek következtében a rendezetlen mozgású molekulák intenzívebben ütődnek egymáshoz, amely a hőmérséklet emelkedését eredményezze. Az elektromágneses tér energiája tehát mozgási energiává alakulás következtében hőenergiává alakul (LAKATOS, 2006).

A kezelt anyag hőmérsékletemelkedése több paraméter függvénye. Függ egyrészt a kezelés időtartamától, az anyag térfogatától, térbeli elhelyezkedésétől (SZABÓ et al., 2002a), a komponensektől az összetevők dielektromos tulajdonságától, víz- és sótartalmától (BARANI et al., 2011; SZABÓ, 1994).

A mikrohullámú energia hővé alakulása a következő módon adható meg (3):

$$P_D = 55,61 \cdot 10^{-14} \cdot E^2 \cdot f' \cdot \varepsilon' \cdot \tan \delta \quad (3)$$

Ahol:

P_D : disszipált energia [W/cm^3];

E : elektromos térerősség [V/cm];

f' : frekvencia [Hz];

ε' : dielektromos állandó;

$\tan \delta$: veszteség tangens.

A mikrohullámú besugárzásokat speciális kezelő berendezésekben végzik. A magnetron átalakítja a tápegységből érkező egyenáramot mikrohullámú energiává (HOLICS, 1992). A hullámot egy speciális eszköz, az üregrezonátor irányítja a kezelőtérbe, aminek geometriai kialakítása meghatározza az elektromos téreloszlást (SCHUBERT és REGIER, 2005; SZABÓ, 1990). A kezelőtér kialakítását a hullámhossz függvényében optimalizálják. A kezelőtérbe fémkeverőket építhetnek be, ami megakadályozza az álló hullámok kialakulását, ezáltal az energia eloszlást egyenletesebbé teheti (SINGH és HELDMAN, 2001).

SIEBER et al. (1996) szerint mikrohullámú besugárzás során a hullámok reflektálódnak a készülék belső rétegeiről. A mikrohullámok az élelmiszerek komponenseinek függvényében különböző mértékben hatolnak be a kezelt anyagba, ebből kifolyólag túlfűtés történhet, vagy nem egyenletesen melegítik fel a termék belsejét. Számos esetben ez a melegítési eljárás magas hőmérsékletet eredményez, ebből kifolyólag az alkalmazott edények kialakítása nagyon befolyásolja a hőmérséklet eloszlását a különböző edényekben.

A mikrohullámú kezelések során az egyenlőtlen téreloszlás megnehezíti a kezelőtérben történő folyamatok mérését, tervezését és szabályozását (LUDÁNYI és SZILÁGYI, 1998). A kezelőtér rendszerének megtervezésekor kiemelkedő fontosságú, hogy egyenletes mikrohullámú térérő-eloszlást hozzanak létre.

VILLAMIEL et al. (1998) és RATTANADECHO (2005) véleménye szerint vízcsapdák alkalmazásával a mikrohullámú térérő eloszlás homogenizálható, azonban konkrét méréseket nem végeztek ennek meghatározására. A

homogén térerő vízcsapdákkal való egyenletes eloszlításának módszerét LAKATOS (2009) dolgozta ki.

2.1.2. A mikrohullámú besugárzás termikus és nem termikus hatásai

Nagy különbség mutatkozik a mikrohullámú hőközlés és a hagyományos hőközlés során kialakuló hőmérséklet eloszlások között. A hagyományos hőközlés során a hő hővezetéssel terjed az anyagban, ami egyenetlen hőeloszlást eredményez, egyenletes hőeloszlást akkor érhetünk el, ha az anyag teljesen homogén. A mikrohullámmal történő anyagkezelésre jellemzően elmondható, hogy a kezelendő minta teljes terjedelmében, a hagyományos hőkezeléstől különböző hő- és anyagtranszport folyamatok játszódnak le. Ennek következtében az alkalmazott kezelések ideje lecsökkenhet (SINGH és HELDMAN, 2001). A mikrohullámot ezért számos élelmiszeripari technológiai megoldás során alkalmazzák.

Rengeteg irodalom foglalkozik a mikrohullám termikus hatásával, amelyet sok élelmiszeripari technológia során tudnak alkalmazni, mint például szárítás, hús kiolvasztás, temperálás, pasztörözés, sterilizálás és az élelmiszerek elszíneződésének megakadályozása terén (TANG et al., 2008; VENKATESH és RAGHAVAN, 2004).

Rengeteg tanulmány foglalkozik a mikrohullám sterilizáló, mikrobapusztító hatásával is. POZAR (1993) leírja, hogy a mikrohullámú eljárások során elsősorban a 2450 MHz, illetve néhány esetben a 915 MHz-es frekvenciát használták.

A mikrohullámú kezelés előnye, hogy a hő- és anyagtranszportok iránya azonos, így nem történhet meg, hogy az anyagáramot gátló száraz kéreg alakuljon ki (BERECZ, 1999).

Sokféle élelmiszerben és élelmiszer alapanyagban, például pulykahúsban (ALEXIO et al., 1985), marhahúsban (DAHL et al., 1980; LIN és SAWYER, 1988), csirkehúsban (BLANCO és DAWSON, 1974), fagyasztott termékekben (SPITE, 1984; SZABÓ et al., 2002b) a mikrohullámú sugárzás mikrobákra kifejtett hatását megvizsgálták. Ezen munkák eredménye, hogy a mikrohullámú kezelés az élelmiszerekben található mikrobák gátlásával és elpusztításával növeli az élelmiszerek minőség megőrzési idejét.

A mikrohullámú pasztörözés (ROSENBERG és BOGL, 1987) azért is elterjedt módszer, mivel a rövid hőkezelési és besugárzási idő következtében az élelmiszerek nem károsodnak olyan nagymértékben a mikrohullámú kezelés hatására, mint a hagyományos hőkezelés hatására (LAU és TANG, 2002; SUN et al., 2007; WANG et al., 2003). Jelenleg is számos élelmiszer esetében alkalmazzák, pl. a tej (VALERO et al., 2000), almalé (GENTRY és ROBERTS, 2005) pasztörözésére.

Számos tanulmány foglalkozik a mikrohullámú szárítás kérdésével. A gabona magvak (BÖCKELMANN és LÜCKE, 2005), a paradicsom (ZHOU et al., 1994), a kivi és körte (KIRANOUDIS et al., 1997), a kukorica és burgonya (BEKE, 2000), az alma (JUN et al., 1999), valamint az áfonya (RAGHAVAN, 1999) szárítási kísérleteit végezték el.

LAGUERRE et al. (1999) hagyma, SZABÓ et al. (1990) gomba konvektív-mikrohullámú kombinált kezelése során vizsgálták az anyagban a hőmérséklet és nedvességtartalom változás mértékét. Minden esetben a mikrohullám gyors és kíméletes hőközlési formáját találták hatékonyabbnak.

A mikrohullámú hőközlés az élelmiszeriparban való felhasználása számos előnnyel jár. A hagyományos hőkezeléssel szemben a mikrohullámú sugárzás speciális tulajdonságai (dipól rotáció, ionos polarizáció) miatt rövidebb lesz az anyag felmelegedési ideje, így csökken a feldolgozási idő és megőrzi az élelmiszer minőségét (CINQUANTA et al., 2010; GUAN et al., 2002; LAU and TANG, 2002; SUN et al., 2007).

A mikrohullám felhasználható analitikai célokra is, mégpedig a nedvesség meghatározásnál. Tej és különböző tejtermékek szárazanyagtartalmát határozták meg mikrohullám és konvektív szárítás (DZUREC és BAPTIE, 1989), valamint mikrohullám (REH és GERBER, 2003) alkalmazásával.

A mikrohullám hőkeltő hatása régóta ismert, azonban mégsem terjed el az élelmiszeriparban. Ennek oka, hogy nem áll rendelkezésre elegendő információ a különböző frekvenciák által kifejtett hatásokról, az elektromos erőterről vagy az élelmiszerek dielektromos jellemzőiről (GÉCZI és SEMBERY, 2005).

Mindenekelőtt tisztázni kell azt, hogy a mikrohullámú sugárzás termikus és nem termikus hatásai egyaránt, különböző fizikai és biológiai paraméterektől függenek. Nagyon sok tényező van, mely befolyásolja a nem termikus hatást: frekvencia, moduláció, polarizáció, elektromágneses mező, genotípus, fiziológiai tényezők, sejt denzitás, besugárzási idő, teljesítmény (BELYAEV, 2005; RAI et al., 1994a, 1994b;).

Az elektromágneses tér energiája különböző reakciók befolyásolására alkalmas (fizikai, kémiai, biológiai). A folyamatok hatásmechanizmusát az befolyásolja, hogy milyen kapcsolatban van az elektromágneses tér energiakvantuma azzal az anyagmennyiséggel, amely változást vagy

károsodást tud okozni a kezelt biológiaiilag aktív objektumban a különböző hőhatással járó műveletek (sterilizálás, sejtbonatás, főzés, tartósítás, fermentálás, enzim-átalakítás) során (SZABÓ, 1990).

Ma a nemzetközi tudományos közvélemény elfogadja bizonyos nem termikus hatások létezését, de elismeri, hogy a rádiófrekvenciás sugárzás által bekövetkező hatások közül néhánynak hatásmechanizmusa még nem pontosan ismert.

A fizikusok megfogalmazása szerint nem termikus vagy atermikus befolyása csak akkor lehet egy hullámnak, ha teljesen megtartja elektromágneses formáját és a besugárzott anyag hőmérséklete nem változik. A biológusok azt mondják, hogy ezen sugárzás non- termális hatása egy olyan jelenség, melynél nem mérhető hőmérsékletemelkedés (MÁTAY és ZOMBORY, 2000).

Vizes oldatok dielektromos tulajdonságainak elemzésekor megfigyelték, hogy az elektromágneses hullámok alkalmazása során egyes kémiai kötések felszakadnak, ezt nevezik közvetlen nem termikus hatásnak, amikor egy foton energiája felszakítja a molekulák közötti kovalens kötéseket (DATTA és ANANTHESWARAN, 2001).

Sok korai tanulmány foglalkozott azzal, hogy bebizonyítsa a mikrohullámú sugárzás nem termikus hatását a mikroorganizmusok pusztulási hőmérséklete alatt (BECKWITH és OLSEN, 1931; CARPENTER, 1958; FÁBIÁN és GRAHAM 1933; FLEMING, 1944; NYROP, 1946; SUSSKIND és VOGELHUT, 1959; YEN és LUI, 1934), prokarióták és eukarióták esetében is. CULKIN és FUNG (1975) bebizonyították, hogy az *E. coli* és a *Salmonella typhimurium* nem képes túlélni a 905 MHz-es mikrohullámú besugárzást. Megállapították, hogy a mikrobiális pusztítás alacsonyabb hőmérsékleten

történt rövidebb idő alatt, abban az esetben ha hagyományos hőkezeléssel egészítették ki. Ez azt bizonyítja, hogy a mikrohullám által és a hagyományos úton történő hőközlés nem ugyanolyan hatással van a mikroorganizmusok élettevékenységére, pusztulási tulajdonságaira.

Mikroorganizmusok és enzimek inaktiválását lehet elvégezni mikrohullámú sugárzás segítségével. A kísérletek során, olyan nem termikus hőmérsékleten dolgoztak, ami a mikroorganizmusok tűréshatára alatt van (KHALIL et al., 1988). Többféle mikroorganizmus élettevékenységét gátolták 50 °C-os hőmérséklet alatt, többek között a narancslében lévő *Saccharomyces cerevisiae* és a *Lactobacillus plantarium* (TAJCHAKAVIT et al., 1998), valamint KOUTCHAMA és RAMASWAMY (2000) az *Escherichia coli* inaktiválását végezte el mikrohullámmal.

A mikrohullámmal történő kísérletek során kimutatták, hogy az alkalmazott teljesítmény és a besugárzási idő nagyon fontos szerepet tölt be a mikroorganizmusok inaktiválása során (WU és YAO, 2010; ZHANG et al., 2010.)

A biológiai hatás akkor fog megjelenni, amikor az elektromágneses tér hatására a sejtben biofizikai és kémiai válaszreakció jön létre, melyben a sejthártya is érintett. A felhasznált kis térerejű elektromos jel befolyásolja többek között a sejtmembrán működését, amelynek következtében azon elektrokémiai kölcsönhatások indukálódnak (PANAGOPOULUS et al., 2002). Ezek a sejt belsejében zajló biokémiai folyamatokat úgy befolyásolhatják, hogy a sejt működésében különböző változásokat válthatnak ki (BANIK et al., 2002).

Az irányított besugárzásos vizsgálatok során a mikrohullámú sugárzás során fellépő hatásokat mérik (BELYAEV, 2005). GRUNDLER et al. (1977,

1982, 1988) megfigyelték, hogy 41,8 – 42,0 GHz-es mikrohullámú sugárzás alkalmazása mellett a *Saccharomyces cerevisiae* növekedése 15%-kal fokozható, más esetekben pedig 29%-kal csökkenthető. VRHOVAC et al, (2010) háromféle *S. cerevisiae* törzs besugárzásos vizsgálata során megállapították, hogy 15-, 30-, és 60 perces kezelés hatására 19-56%-os telepszám csökkenést értek el 905 MHz-es sugárzás alkalmazása mellett. Alacsony teljesítményű (90 W) mikrohullámú kezelés hatására a *S. cerevisiae* növekedését 2 perces kezelés esetén 7,72%-kal 4 perces kezelés esetén 4,29%-kal valamint 6 perces kezelés esetén 0,86 %-kal csökkentették maximum 15 °C-os hőmérséklet alkalmazása mellett (DHOLIYA et al., 2012).

A *Spirulina platensis* cianobaktérium növekedését tudták fokozni 50 %-kal 30 perces besugárzás, 2,2 mW/cm³-es feszültség és 7,1 mm-es hullámhosszúságú besugárzási protokoll alkalmazásával (PAKHOMOV et al., 2001).

A *Staphylococcus aureus* anyagcsere folyamatait hasonlították össze hagyományos kezelés és mikrohullámú besugárzás esetén. A vizsgálatok során megállapították, hogy a glükóz-6-foszfát dehidrogenáz enzim aktivitása csökkent, a termonukleáz aktivitás pedig nőtt 10-20 másodperces mikrohullámú besugárzás hatására (DREYFUSS és CHIPLEY, 1980). Az adatok azt mutatják, hogy a mikrohullám befolyásolja a *Saphylococcus aureus*-t olyan módon, mely nem tulajdonítható a hőhatásnak a rövid idejű kezelések alkalmazása miatt.

TKALEC et al. (2005) megállapították, hogy a mikrohullámok által kiváltott hatások kismértékűek, kivéve a *Lemna minor* 2 órás, 41 V/m és 900 MHz-es besugárzása esetén, ahol 41%-os növekedést detektáltak. A szerzők

arra következtettek, hogy a mikrohullám befolyásolhatja a növekedést, és bizonyos mértékig a peroxidáz aktivitását is.

A *Saccharomyces carlsbergensis* élesztő sejtek szinkronizálásának mérésekor detektáltak a mikrohullám által kiváltott szignifikáns különbséget. 30 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ expozíció és 46 GHz-es teljesítmény alkalmazása mellett az élesztők sarjadzásának változását figyelték meg (GOLAND et al., 1994).

GARKUSHA et al.. (2008) a *Saccharomyces cerevisiae* pékélesztő gáztermelő tulajdonságait vizsgálták mikrohullámú kezelés (53-76 GHz) hatására. A szuszpenziók 1 °C-kal való hirtelen hőmérséklet emelése esetén a gáztermelés sebessége hirtelen kétszeresére növekedett.

DARDANONI et al.. (1994) *Candida albicans* növekedését vizsgálták, mely során egy folyamatos 3 órás besugárzást (72 GHz) alkalmazva 25 %-os növekedést tudtak elérni a kontrollhoz képest.

Mindezek mellett szót kell ejteni arról is, hogy a mikrohullám milyen hatással van a vízre. SZERENCSI (2011) szerint, a mikrohullám hatással van számos anyag mellett a vízre is. Ennek oka az lehet, hogy a vízmolekulának dipólusos jellege és inhomogén töltéeloszlása van. A mikrohullám által indukált hatás a besugárzást követően nem szűnik meg azonnal, hanem képes megtartani azt bizonyos ideig. Mivel a víz az anyagok alapvető és nélkülözhetetlen közege, jelenléte közvetett hatással lehet minden mikrohullámmal besugarazott anyagra.

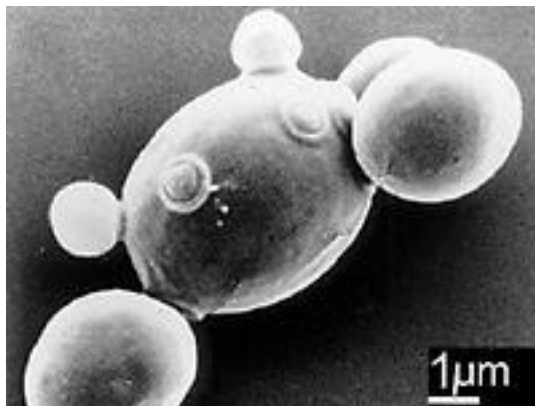
2.2. Az élesztő

Általánosságban elmondható, hogy az élesztők és élesztőszerű gombák egyes csoportjai a gombák törzsfjlődésében különböző fokon álló fonalas szervezetű és oxidatív anyagcserét folytató különböző fajokból, illetve csoportokból jöttek létre konvergáló élettani és alaktani leegyszerűsődéssel. A nagy cukortartalmú folyékony tápközegekhez, mint tenyészhelyekhez történő alkalmazkodás során egyrészt áttértek az oxidatív anyagcseréről a kisebb hatásfokú, de gyorsabb, és a más mikrobákat nagyrészt kizáró alkohol termelésével járó erjesztésre. Emellett a fonalas szervezet gömbölydeddé alakulása is előnyössé vált számukra (EDELÉNYI, 1978).

A *Saccharomyces* nemzetséget multilaterális sarjadzással szaporodó, gömbölyű, ovális vagy hengeresen megnyúlt sejtek alkotják. A nemzetségnek KURTZMAN és FELL (1998) szerint tizennégy faja van melyek közül iparilag legfontosabbak a borélesztőket is magukban foglaló, ún. „sensu stricto” (szűk értelemben vett) *Saccharomyces* fajok (MAGYAR, 2010).

2.2.1. A *Saccharomyces cerevisiae* főbb tulajdonságai

A tömlősgombák (*Ascomycota*) törzsébe, *Saccharomycetes* osztályába, *Saccharomycetales* rendjébe tartozó *Saccharomyces cerevisiae* sok élelmiszeripari technológiában régóta használt eukarióta szervezet (2. ábra).



2. ábra: *Saccharomyces cerevisiae* elektronmikroszkópos felvétele (URL³)

Az élesztősejt felépítése

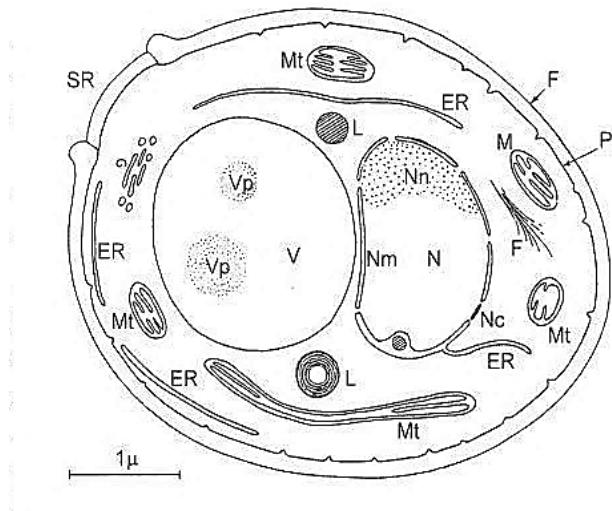
Az élesztő olyan egysejtű gomba, melynek eukariotikus sejtfelépítése van, ami jóval fejlettebb, mint a prokarióta szervezeteké. Az élesztők tojásdad alakúak, 3-8 μm széles, 9-14 μm hosszú és 6-8 μm vastag egysejtű szervezetek.

A szakirodalomban számos anyag gyűlt össze az élesztősejtek felépítéséről (3. ábra). A sejtfal szerkezetéről FLEET (1991), a tokról ill. a periplazmáról GOLUBEV (1991) ill. ARNOLD (1991), a plazmamembránról HENSCHKE és ROSE (1991), a belső membránról SCHWENCKE (1991), a sejtmagról, a kromoszómákról és plazmidokról WILLIAMSON (1991), a mitokondriumokról GUÉRIN (1991) a riboszómákról és a citoplazmában található egyéb összetevőkről LEE (1991), VEENHUIS és HARDER (1991), valamint PANEK (1991) írt összefoglalót.

A sejtben maghártyával elkülönülő sejtmagot és többféle sejtszerkezetet is tanulmányozhatunk. A sejt külső burkát a sejtfal alkotja, amely lényegesen különbözik a növényekétől és erjesztés technológiai

szempontból is kiemelt jelentőséggel bír. Anyagának legnagyobb részét kétféle poliszacharid-típus alkotja: β -glükánok és mannoпротеinek. A β -glükánok kizárólag glükózból épülnek fel, az élesztő sejtfa szárazanyagtartalmának 60%-át is kitehetik. Ez a rész a sejtfa alakját, rugalmasságát és szilárdságát határozza meg. A mannoпротеinek a sejtfa szárazanyag tartalmának körülbelül 25-50%-át alkotják. Egy részük a β -glükánokhoz, illetve azokon keresztül a membránokhoz kapcsolódik, más részük, mint enzimfehérje szabadon helyezkedik el a sejtfa és a membrán közötti térben. A sejtfa és a periplazmás tér alatt található plazmamembrán, amelynek anyagát főként szerkezeti és enzimfehérjék és lipidek alkotják. A plazmamembrán fő feladata a transzport folyamatok lebonyolítása. A membrán fehérjei elsősorban a transzportrendszerek komponensei. A citoplazma a sejt tömegének nagy hányadát kitevő rész, amely több részből épül fel. Jelentős hányadát tápanyagok, enzimek, köztes termékek vizes oldata teszi ki. A citoplazma finom fonalakból és mikrotubulusokból álló hálós felépítésű képződmény, az ún. sejtváza, amelynek fonalait különböző fehérjék alkotnak. Feladata elsősorban az anyagtranszport és a sejtosztódás. A citoplazmában található szervek a membránnal határolt vakuólumok, melyek emésztő üregek, valamint a tápanyag raktározásáért is felelősek. A sejtet az endoplazmatikus retikulum szövi át, mely a sejtmag membránja, a vakuólum membránja és a plazmamembrán között teremt kapcsolatot. Az endoplazmatikus retikulum egymással összefüggő lapos zsákokból, ciszternákból, csövekből álló, nagy kiterjedésű üreges rendszer, amelyet kb. 6 nm vastagságú hártya határol. A citoplazmában és az endoplazmás retikulum felszínén apró képletek figyelhetők meg, ezek a riboszómák, amelyek a sejt központi fehérje szintézisének végrehajtó műhelyei. A kétrétegű membránnal

határolt mitokondriumok az aerob anyagcsere, tehát a légzés és számos bioszintézis enzimeit tartalmazzák. A külső membrán tartalmazza a foszfolipid-szintézis enzimeit, míg a belsőben rögzítődnek a terminális oxidációs lánc enzimkomplexei valamint a légzés során felszabaduló energia hasznosulásáért felelős ATP-szintetáz. A mitokondrium belsejében számos enzim található, melyek például a citromsavkör és egyéb szintézisfolyamatokért felelősek. Több enzim a citoplazmában és a mitokondriumban is megtalálható. A sejtmag egy áteresztő burokkal határolt sejt szerv, mely a sejt központjának tekinthető. Feladata a genetikai információk tárolása, átírása a hírvivő RNS molekulára (transzkripció), valamint sejtosztódáskor a genetikai információ megkettőzése (replikáció). Az élesztősejtek a sejtmag és a mitokondrium DNS-én kívül egyéb citoplazmás DNS-t is tartalmaznak (DEÁK, 1998).



3. ábra: Az élesztősejt felépítése, (*Saccharomyces cerevisiae*) szerkezeti vázlat (ROSE és HARRISON, 1968)

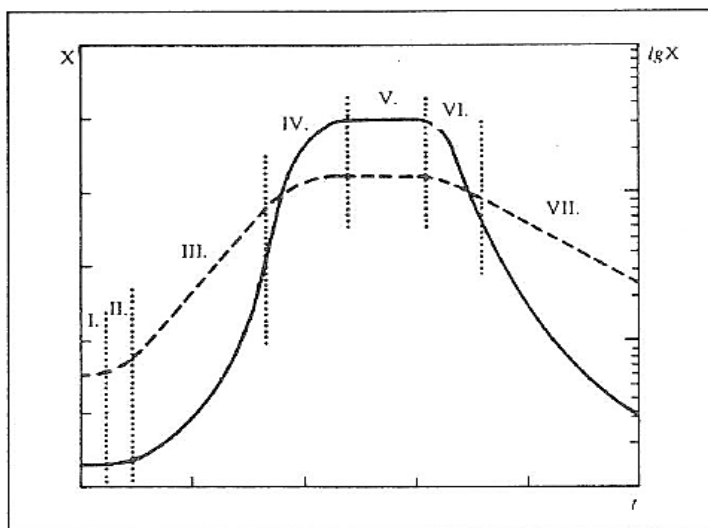
F – sejtfa

V – vakuólum

Pl – plazmamembrán	Vp – polimetafoszfát granulum
ER – endoplazmás retikulum	N – sejtmag
Mt – mitokondrium	Nm – sejtmagburok
Nn – sejtmagvacska	L – lipidcsepp

További munkák közt szerepel AYSCOUGH és DRUBIN akik (1996) a citoszkelentrónról, JONES et al. (1997) a vakuólumról, STRATFORD (1994) és ORLEAN (1997) a sejtfalról, VAN DER REST et el. (1995) a sejtmembránról, MOORE (1998) pedig az élesztősejt ultramikroszkópos szerkezetéről számolt be.

Szaporodási tulajdonságait tekintve elmondható, hogy a *Saccharomyces cerevisiae* meglehetősen könnyen és gyorsan szaporítható, biokémiai és genetikai szempontból egyaránt jól ismert. Egysejtű szervezetként szaporodik, tenyésztésüket tekintve könnyedén szinkronizálható tulajdonságokkal rendelkeznek. A sejtek méretét morfológiáját megnézve elmondható, hogy a sejt a sejtciklus melyik fázisában van, így kiváló alany a sejtciklus kutatásában.



4. ábra. Az egysejtű mikroorganizmusok szakaszos szaporodási görbéje (DEÁK, 1998).

- Folytonos vonal: sejtkoncentráció,
- Szaggatott vonal: log sejtkoncentráció (így a koncentráció logaritmusa az idő függvényében a szaporodási együtthatóval arányos meredekségű egyenessel ábrázolható)

I.: lappangási szakasz

IV.: lassulási szakasz

II.: gyorsulási szakasz

V.: állandósult (stacioner) szakasz

III.:exponenciális (logaritmusos)

VI.: hanyatló szakasz

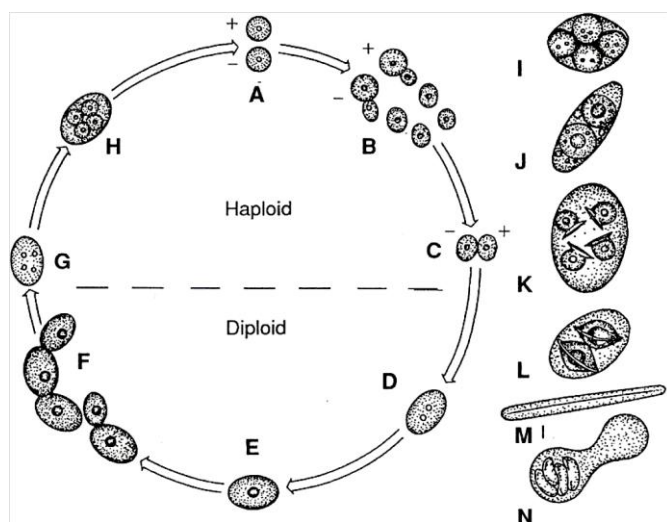
szakasz

VII.: pusztulási szakasz

Az élesztőt szakaszos szaporodási görbével lehet jellemezni (4. ábra), amely során a sejtek élettevékenysége 7 fő fázisba sorolhatók. Az I. a kezdeti lappangási (lag) fázis, amelyet rövid ideig tartó gyorsulási szakaszba követ. Ezután exponenciális (logaritmusos) szaporodást mutatnak, amelyre a folyamatos szaporodás jellemző. Ezt követi a lassulási, majd állandósult

(stacioner) fázis, ahol a sejtek már nem szaporodnak. Ekkor maximális a sejtkoncentráció a tenyészetben. Ezután a sejtek hanyatló, végül pusztulási szakaszba kerülnek (DEÁK, 1998). A sejtek pusztulása programozott sejthalál útján valósul meg a tenyésztő közegben (SEVERIN et al., 2008). A differenciálódott sejt hosszabb-rövidebb ideig megőrzi szerkezeti és működési tulajdonságait, majd öregedni kezd, és e folyamat végén elpusztul. Két különböző módon lezajló sejtpusztulást különböztetünk meg: nekrozis („klasszikus” sejthalál), amely általában károsító tényezők hatására bekövetkező traumás folyamat, valamint az apoptózis (programozott sejthalál), vagyis genetikailag programozott sejthalál. A sejtek lehetséges élettartamát ugyanis a genomban rögzített genetikai program határozza meg és elsősorban a ciklusszámot limitálja.

A *S. cerevisiae* generációs ideje 120 perc. A generációs idő az az időintervallum, ami alatt a sejtkoncentráció kétszeresére növekszik.



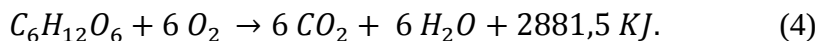
5. ábra. A *Saccharomyces cerevisiae* életciklusa (JAKUCS és VAJNA, 2003)

A sejtciklus (5. ábra) eseményeinek időbeli arányait több tényező befolyásolja. Ide sorolhatók a környezet fizikai, kémiai és biológiai tényezők is (JAKUCS és VAJNA, 2003; LEW, 2000; RUPE, 2002). A sejtek osztódását és spórázását legtöbb esetben tápanyaghiány váltja ki. A *S. cerevisiae* szaporodásának optimális hőmérséklete 37 °C (DEÁK, 1998).

2.2.2. Az élesztő, mint az erjesztési technológia egyik fő szereplője

Számos szakirodalmi hivatkozás szerint a *Saccharomyces cerevisiae* az erjesztési és borászati technológia alapját képezi (FUQUA et al., 1996; GODDARD, 2008; HAYASHI et al., 1998; KLEEREBEZEM et al., 1997; PISKUR et al., 2006; REGUERA, 2011; RICHARD et al., 1996). Ezen élesztők nagyon versenyképesek, annak köszönhetően, hogy kombinált tulajdonságokkal rendelkeznek mind a gyors növekedés, a hatékony glükóz fogyasztás, és annak képessége, hogy magasabb az etanol toleranciájuk és a környezeti stressz hatásokkal szembeni rugalmasságuk (PISKUR et al., 2006).

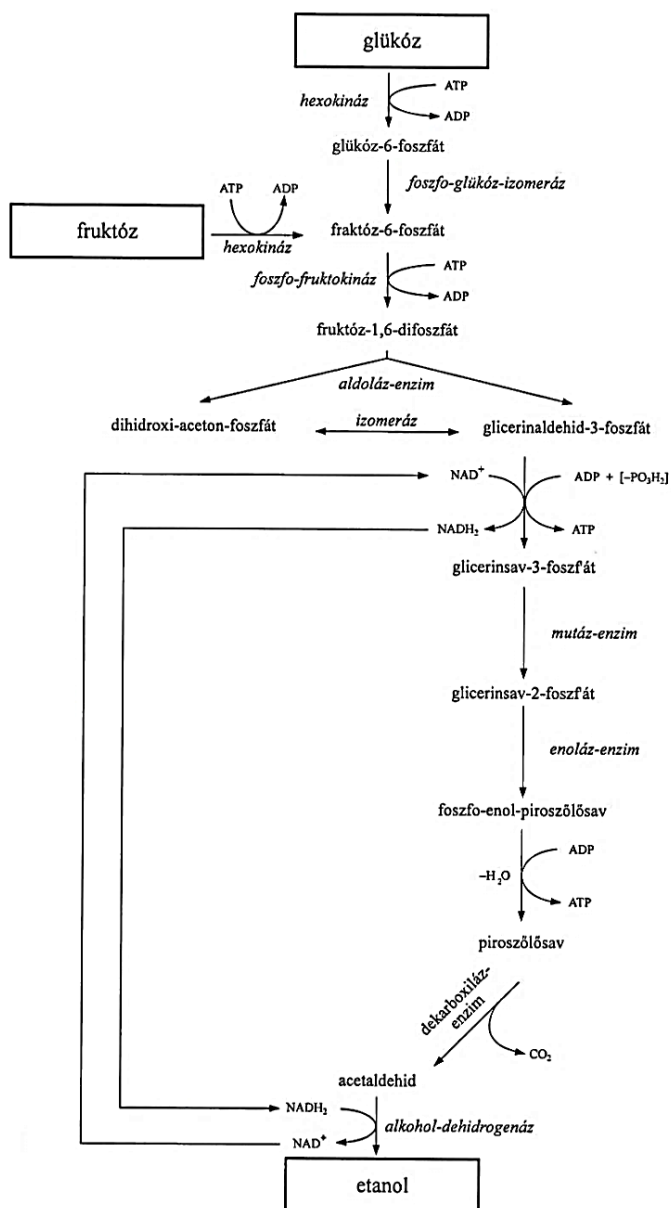
Az alkoholos erjedés folyamatának (6. ábra) tudományos kutatása LAVOISIER (1789) idejében kezdődött, a légzési, mint oxidációs folyamat leírásával. Az erjedési reakció helyes értelmezését GAY-LUSSACNAK (1815) köszönhetjük. A glükóz oxigén jelenlétében való lebontásának összegképlete a következő (4):



Körülbelül 1840-ben fedezték fel, hogy az erjedést az élesztők okozzák. Az élesztők élettani tulajdonságainak jellemzésére az egyik legfontosabb

jellemző az erjesztési képesség. Az fermentációs tulajdonsága azonban változó. Sok faj kiváló fermentáló tulajdonságokkal rendelkezik (pl. *Saccharomyces*), mások csak gyengén vagy lassan (pl. *Debaryomyces*), valamint az ismert élesztőfajok közel harmada egyáltalán nem képes erjeszteni (DEÁK, 1998).

Az alkoholos erjedés bonyolult folyamat (6. ábra), amely során több párhuzamos reakció megy végbe. Az erjedési folyamat első lépésében az élesztőben levő hexokináz enzimben levő ATP, miközben ADP-vé alakul a glükózt glükóz-6-foszfáttá alakítja. A glükóz-6-foszfátból először fruktóz-6-foszfát keletkezik, amely az ATP hatására fruktóz-1,6-difoszfáttá alakul. Ezt hasítja az aldoláz enzim két egyenként 3 C-atomot tartalmazó töredékre. Összegezve, a levegő (aerob) jelenlétében az élesztő a cukrot saját sejtanyagává és energiává, levegőtől elzárva (anaerob) pedig etil-alkohollá alakítja át.



6. ábra. A glikolízis és az alkoholos erjedés lépései (MAGYAR, 2010)

2.3. Fermentációs technológiák

Az emberek a borok erjedését évezredekken keresztül a természetre bízta, és ma is számos bortermelő részesíti előnyben a helyi, természetes mikroflórát a bor készítése során. Ezzel az ún. spontán erjedéssel optimális körülmények között is jó minőségű borok készíthetők. A borászati technológia fejlődésével azonban a spontán erjedés nem volt elég, ezért egyre inkább előnyhöz jutottak a borászat- és egyéb élelmiszeriparok számára kifejlesztett élesztőtörzsek, amelyek segítségével az erjesztés jól irányíthatóvá vált. Ezek az úgynevezett fajélesztők vagy starterkultúrák. Az erjedés mindkét esetben döntően a *Saccharomyces cerevisiae* anaerob cukorlebontó tevékenységének eredménye, amelyhez más élesztőfajok is hozzájárulnak (MAGYAR, 2010).

2.3.1. A borászati technológia lépései

A szőlő átvétele után a legelső lépés a szőlőbogyók feltárása. Ennek módja a zúzás, ami a bogyóhéj felszakítását, a bogyó belső roncsolását jelenti úgy, hogy a kocsány és a magvak sértetlenek maradjanak, ezáltal a must 60-70 %-a sajtolás nélkül is elkülöníthető. Ez a színmust. A feltáráshoz zúzó, illetve zúzó bogyózó berendezések szolgálnak (EPERJESI, 2010; MERCZ, 1978).

Ezután a mustot kezelni kell (MERCZ, 1999), amely során megvédjük azt a kedvezőtlen oxidációs és mikrobiológiai folyamatoktól, és elősegítjük a bogyók jobb feltáródását, az illat- és aromaanyagok, valamint a természetes redukálóanyagok minél tökéletesebb kinyerését (KAZAI, 1999). A nagyobb lé

kinyerés elősegítésére a kocsonyás bogyójú (nagyobb pektintartalmú) szőlő feldolgozásánál pektinbontó enzimes hozzáadása is szükségszerű lehet. (EPERJESI, 2010).

A mustelválasztás után a maradék cefréből sajtolással történik a további must kinyerése. Ez a présmust. A szín- és présmustok eltérő minőségűek, ezért azok szétválasztása és külön kezelése alapvető dolog. A színmust arány általában 65-75 %. A színmustok nagyobb cukortartalmúak, így a belőlük készült bor alkohol-, extrakt- és hamutartalma is magasabb. A titrálható savtartalom a színmustokban kisebb, de a savérzet mégis fokozottabb a nagyobb arányban jelenlévő borkősavtartalom miatt (MÁRKUS, 2005). A présmustokból készült bor színe sötétebb a magasabb cserzőanyag-tartalom miatt, oxidációra is hajlamosabbak. Gyorsabban tisztuló és szebb színű bort nyerhetünk, ha a mustot erjesztés előtt ülepítjük (nyálkázzuk) és üledékétől elválasztva erjesztjük (EPERJESI, 1959; EPERJESI et al, 1998; EPERJESI, 2010).

Mindezek után történik maga az erjesztés. Fehér borok készítésekor a szőlőfürt szilárd részeitől különválasztott mustot erjesztjük ki. Vörös boroknál viszont a héjsejtekben lévő szín- és cserzőanyagok kioldódásának elősegítése érdekében héjon történik az erjesztés. Az alkoholos erjedés során az élesztők közreműködésével a must cukortartalma alkohollá és széndioxiddá, valamint hőenergiává alakul át (STANBURY et al, 1995). Az erjedés kezdeti fázisában az élesztők szaporodnak, ehhez oxigént igényelnek, maga az erjedés azonban anaerob körülmények között zajlik (BÍRÓ és MERCZ, 1953).

2.3.2. Az erjedés és az azt befolyásoló tényezők

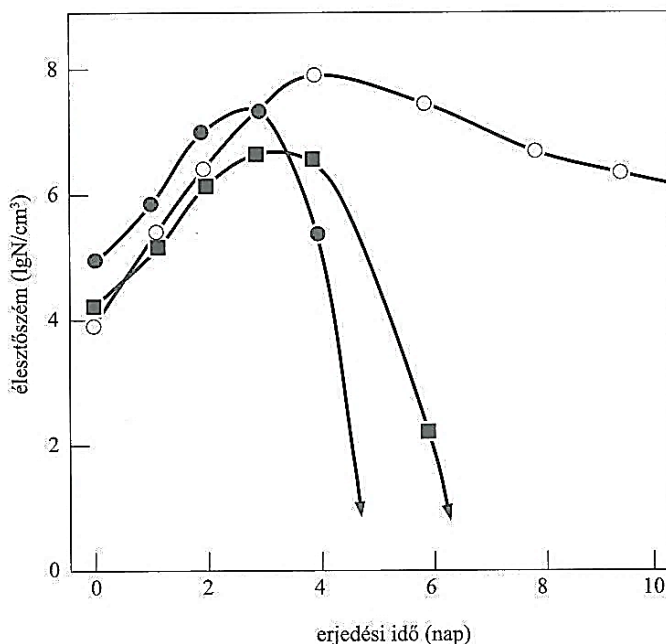
A szőlőmust összetétele és az erjedés körülményei távol állnak az élesztők számára optimális feltételektől, ezért ma már speciális fajélesztőket alkalmaznak. Bár nem csak ezek a feltételei a jó minőségű borok készítésének, alkalmazásukkal azonban az erjedés biztonsága, irányíthatósága nagymértékben fokozódik.

Ezeket a speciális fajélesztőket liofilizált formában vagy megfelelő táptalajon kapják a borászati üzemek. Ebből először az üzemi erjesztéshez alkalmas anyaélesztőt állítanak elő, melynek felhasználásával az erjesztés irányítottan végezhető (MEDINA et al., 1997; PAPAGIANNI and MOO-YOUNG, 2002; RAO et al., 2004). Az erjedés során cukrokból különböző vegyületek képződnek, amely folyamat során energia szabadul fel. Ez az energiakülönbség egyrészt az élesztősejtek létfenntartására fordítódik, másrészt jelentős mennyiségű hőenergia is felszabadul. Az erjedés tehát hőtermelő folyamat, ezért ha szükséges hűtéssel kell biztosítani az élesztők erjesztő tevékenységének optimális hőmérsékletét.

Hőmérséklet az egyik a legfontosabb paraméter alkoholos erjedés során, mivel az befolyásolhatja mind a folyamat kinetikáját, mind az időtartamát ezen kívül a bor végső minőségét, azaz szekunder metabolitok termelését (FLEET és HEARD, 1993; LAFON-LAFOURCADE, 1983).

A borászok érdeklődése egyre inkább az alacsony erjesztési hőmérséklet felé irányult, a 15-17 °C-on való hideg erjesztés során ugyanis az íz és illékony aromakomponensek megtartása javíthatja a bor aromás profilját (KILLIAN és OUGH, 1979; KUNKEE, 1984). Ezek az alacsony hőmérsékleten azonban, könnyen okozhatnak lassú vagy beragadt fermentáció.

A hőmérséklet szabályozás mellett nagyon fontos paraméter a mustban megtalálható különböző élesztőfajok jelenléte és mennyisége az erjedés során (7. ábra). Az egyes fajok kezdeti és maximális sejtkoncentrációja boronként változó lehet (FLEET, 1990).



7. ábra. Különböző élesztőfajok tipikus növekedése a must spontán erjedése során. *Saccharomyces cerevisiae* ○, *Kloeckera/Hanseniaspora* ●, *Candida* fajok ■ (MAGYAR, 2010).

Mint ahogy már az előzőekben bemutattuk (2.2.2.), az erjedés bonyolult biokémiai folyamatok összessége. Az erjedést az enzimek egész rendszere segíti elő. Ezekhez tartoznak a hexokináz, foszfohexokináz, koenzim I, foszfokináz, foszfogliceromutáz, enoláz stb. A főtermékek CO₂, C₂H₅OH képződésével a folyamat csak 94-95 %-ban megy végbe.

Az erjedő keverék cukortartalma nem haladhatja meg a 20-25 %-ot, mert károsulnak az élesztősejtek, míg 30-32 % cukortartalom mellett

megszűnik az erjedés. Ez azzal magyarázható, hogy a magas cukortartalom mellett felborul az ozmotikus nyomás, amely a sejtekre károsan hat. A szeszes erjedéssel maximálisan 18 %-os alkoholtartalmú oldatot lehet kapni, mivel az élesztők a nagyobb alkoholkoncentráció mellett elpusztulnak (BÉKÉSI és PÁNDI, 2005; DEÁK, 1998; EPERJESI et al., 1998; GRAY, 1941). Az erjedési folyamatokat sok tényező befolyásolja, ezért az élesztők számára célszerű optimális körülményeket teremteni (PASTEUR, 1876).

Hőmérséklet: a borélesztők 30-35 °C közötti hőmérsékleten működnek optimálisan, azonban erjesztési hőmérsékletük nem ezen tartomány között van. 35 °C feletti hőmérsékleten az élesztők aktivitása csökken, majd ennél is magasabb hőmérsékleten elpusztulnak. Az élesztő a hideget jól tűri, felhasználásig történő tárolása 0-5 °C között történik. Gyümölcsök erjesztésénél az optimális erjesztési hőmérséklet 17-20 °C, így az aromaanyagok is megmaradnak, kevésbé illannak el.

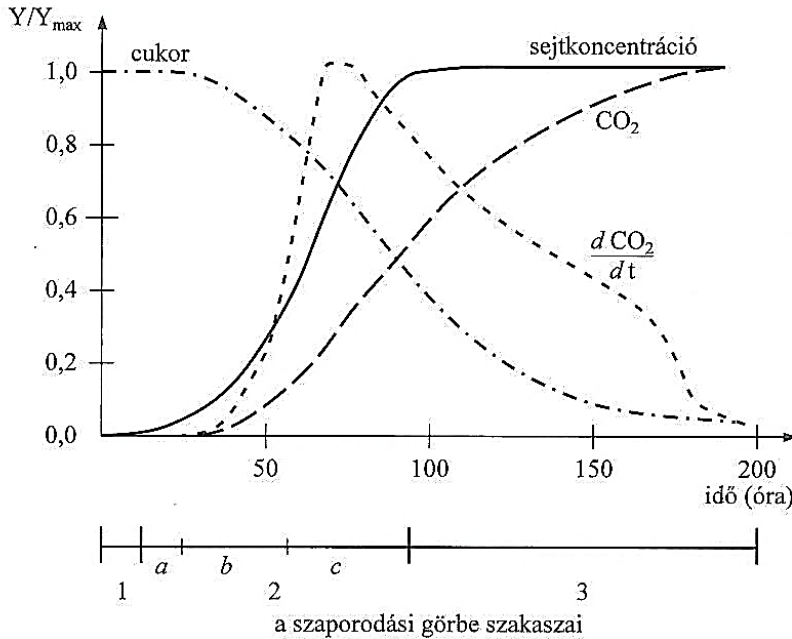
pH (kémhatás): az élesztők nem kifejezetten érzékenyek a közeg pH-jára, savas közegben is jól működnek (pH=3-7). Gyümölcsök erjesztésénél a pH-t 2,8-3,2 közé állítják be (pl. kénsav), mert ennél a pH értéknél a káros mikroorganizmusok kevésbé tudnak működni, így az erjesztendő anyag káros mikrobáktól való fertőződését megakadályozzák (BÉKÉSI és PÁNDI, 2005).

Koncentráció: a magas cukorkoncentráció az élesztő működését lassítja, STREHAIANO és GOMA (1983) szerint a *Saccharomyces cerevisiae* esetében 70g/l-es koncentráció a szaporodási sebességet a felére csökkenti. A nagy cukorkoncentráció módosítja az erjedési melléktermékek arányait, valamint növeli az élesztőgombák ecetsav termelését (FERREIRE et al., 2006). Gyümölcsök felhasználásánál ez nem okoz problémát, mert a gyümölcsök nem tartalmaznak annyi cukrot, ami gátolná az élesztő működését.

A bor cukortartalmának növelése nem megengedett, azonban törvényi szabályok (2004. évi XVIII. törvény a szőlőtermesztésről és a borgazdálkodásról) szerint elvégezhető, maximum 2 V/V%-os alkoholtartalom növelésére friss szőlő, részben erjedt szőlőmust, illetve még erjedésben levő újbor esetében répacukor, sűrített szőlőmust vagy finomított szőlőmust-sűrítmény hozzáadásával.

Levegő: A fermentatív borélesztők szénanyagcseréjéből következően az oxigén jelenléte vagy hiánya energetikai szempontból nem befolyásolja lényegesen az erjedést, mégis régi tapasztalat, hogy levegőztetéssel az erjedés meggyorsítható (GIOVANELLI et al., 1996; MAGYAR, 2010; KÁLLAI és RÁCZ, 2012).

Szermaradványok: ilyenek a növény védőszerek, tartósítószer, melyek az élesztő működését gátolják (CABONI és CABRAS, 2010). A gombaölő szer maradványok az élesztősejt membránjának szerkezeti változásához vezethetnek, amely gátolja annak működését és lassú, elakadó erjedéshez vezethet (CALHELHA et al., 2006; NAVARRO et al., 2007).



8. ábra. A szaporodás és az alkoholos erjedés általánosított lefutása mustban (20g/l cukor 20 °C) (MAGYAR, 2010).

A 8. ábra az erjedés tipikus lefolyását mutatja be a sejtkoncentráció, a cukortartalom, a szén-dioxid termelődés és a termelődés sebességi görbéje alapján 20 °C-on. A különböző paraméterek jobb összehasonlítása miatt az Y tengely értékei normalizálva kerülnek feltüntetésre (elosztva az adott paraméter maximális értékeivel).

Fermentoroknak (erjesztő berendezésnek) nevezik azokat a berendezéseket, amelyekben a fermentálást végzik, ezeket a berendezéseket túlnyomó többségben nagyüzemekben alkalmazzák.

Az alkoholos erjedés során hő keletkezik, az élesztő azonban érzékeny a magasabb hőmérsékletre, az erjesztésénél ezért az egyik legfontosabb feladat a hőmérséklet szabályozása. Másrészt a magasabb hőmérsékleten az

alkohol és az illékony komponensek elillannának, veszteséget, illetve minőségromlást okozva.

A kis űrtartalmú erjesztő tartályok esetében nem jelent problémát az erjesztésnél keletkező hő, mert a folyadék mennyiségéhez képest nagy a felület és a berendezés felszínén megtörténik a hőleadás. Ezen kívül általában az erjesztő berendezéseket vagy pincében helyezik el, vagy földfelszín alá ássák, így könnyebben lehet az optimális hőmérsékletet biztosítani.

A nagyméretű fermentoroknál a hőmérséklet szabályozását bonyolultabb módon kell biztosítani. A legrégebb óta alkalmazott eljárás a köpenyhűtés, amikor a fermentor falán keresztül történik a hűtés. Ez a köpenyhűtés azonban nem túl jó hatékonyságú módszer, általában teremhűtéssel együtt alkalmazzák. Végezhetik a hűtést a fermentor belsejében elhelyezett hűtőspirál segítségével, melyben hidegvizet keringtetnek. Ennek azonban az a hátránya, hogy a beépített spirál növeli a fertőződés veszélyét, mert a tisztítás, fertőtlenítés nehezebben oldható meg a nehéz hozzáférés miatt. Egy másik megoldás, ha kivezetik a fermentorból az erjedő cefrét és hőcserélővel lehűtik. Az erjedő cefre hőmérsékletét folyamatosan ellenőrzik és az erjesztés műveletéhez tartozó dokumentációban vezetik. Az adott anyag erjesztéséhez előre készítenek erjesztési diagramot, amelyen feltüntetik a kívánatos hőmérsékleteket az erjesztési idő függvényében. A mért hőmérsékleteket ezen a diagramon tüntetik fel, összehasonlítják az előre megadott hőmérséklettel és amennyiben eltérést tapasztalnak, akkor hűtik az erjedő cefrét (SZABÓ, 2012).

Erjesztés folyamán meg kell akadályozni, hogy oxigén jusson az erjedő cefrébe, mert akkor az élesztő szaporodni fog és nem erjeszteni. Ennek egyik módja a kotyogó alkalmazása, melyet kisebb erjesztő berendezéseknél

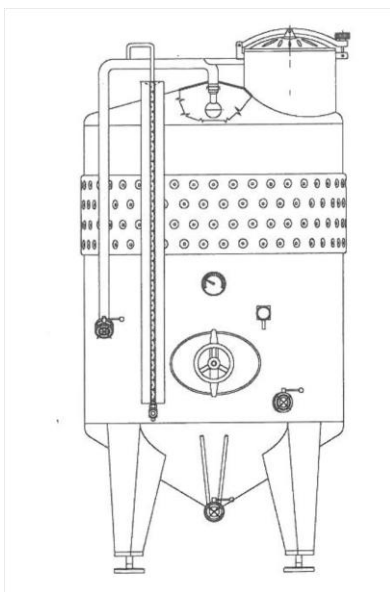
alkalmaznak. A vízzár megakadályozza, hogy a berendezésbe levegő (oxigén) jusson, ugyanakkor a keletkező szén-dioxid a vízen keresztül el tud távozni.

A fermentorokat biztonsági szerelvényekkel kell ellátni, túlnyomás és vákuum ellen. Túlnyomás akkor alakulhat ki, ha pl. a szén-dioxid elvezető szelepet kezelői hiba folytán nem nyitják ki és a keletkező szén-dioxid nem tud távozni az erjesztő berendezésből ezért megnövekszik a nyomás. Vákuum legtöbbször a berendezések tisztítása folyamán fordulhat elő, ha pl. forró berendezésbe hidegvizet vezetnek, hirtelen térfogatváltozás jön létre és "összehúzza" a tartályt.

2.3.3. Az erjesztés módjai és berendezései

Az alkoholos erjesztés folyamán két módszert szoktak alkalmazni a technológia során. A szakaszos és a folytonos, vagyis az átvágásos módszert. Az általánosabban elterjed a szakaszos erjesztési technológia, amely során az erjesztő tartályt 70-80%-os térfogatig töltve végezzük a fermentációt. Ennél a módszernél elő-, fő- és utóerjedési szakaszt különböztetünk meg. Az előerjedés során az élesztők megkezdik tevékenységüket, valamint megindul a cukor bontása. Itt a cefre még viszonylag nyugalomban van, néhány buborék megjelenése kivételével. Két-három nap elteltével a főerjedés fázisába lépünk, ami intenzív buborék és habképződéssel jár. A fermentáció folyamán hőmérsékletemelkedés is megindul, mivel hőenergia is képződik. Öt-hat nap után az erjeszthető cukortartalom csökkenése és az alkoholtartalom növekedése miatt a cefre az utóerjedési fázisba jut, ahol mozgása lelassul. Pár nap után a cefre teljesen megnyugszik és vége az

erjedésnek (édes cefre). Ezt nevezzük szakaszos erjesztésnek (BÉKÉSI ÉS PÁNDI, 2005). A hőmérséklet szabályozása ennél a módszernél is kritikus pont, amelyet hűtő-fűtő köpennyel szoktak megoldani (9. ábra).



9. ábra: Erjesztő tartály hűtő-fűtő köpennyel (EPERJESI, 2010)

A folyamatos vagy átvágásos módszer során a fent leírtak szerinti főerjedési fázisban a cefrét harmadoljuk vagy felezzük, majd ezekből további édes cefre tartályt oltunk be a hagyományos szintenyészeti eljárással. Így a már főerjedésben lévő tartályokból további „átvágással” újabb tartályok indíthatók be (BÉKÉSI és PÁNDI, 2005).

Az erjesztési módokat a technológiai megoldásokon kívül hőmérséklet szerint is lehet csoportosítani.

Az erjesztést 10 °C körüli hőmérsékleten indítjuk és ott is tartjuk addig, amíg a cukortartalom $\frac{3}{4}$ része ki nem erjed. Ezután a hőmérséklet szabályozás megszüntetésével az erjedéskor keletkező hőtől a lassú erjedési

folyamat során 16 °C-ra melegszik az anyag. A másik módszer szerint az erjesztést mindvégi 16-18 °C-on végezzük. Ez a mostanában legáltalánosabban elterjedt módszer. A harmadik módszer szerint az erjesztést 20-23 °C-on végezzük, ugyanis ez a cukorbomlás hőmérsékleti optimuma az alkohol-kihozatal szempontjából (EPERJESI, 2010)

Magát az eresztést több fajta edényben, berendezésben el lehet végezni. A legegyszerűbb megoldás a demizson üvegballon (*10. ábra*), amelynek munkatérfogata nagyjából 5-60 liter között változhat. Ezt a megoldást nem üzemi körülmények, hanem otthoni, háztáji esetleg laboratóriumi erjesztéshez alkalmazzák. A demizson szája dugóval, kotyogóval zárható. Mivel az edényszet hőmérséklet szabályozása nem megoldott, ezért megfelelő hőmérsékletű helyiségben tárolva valósítható meg az erjesztés folyamata.



10. ábra: 10 literes demizson kotyogóval (saját felvétel)

Egy másik nagyon egyszerű erjesztő eszköz a műanyag hordó (11. ábra), amely csavaros tetővel vagy bajonett zárral kerül forgalomba. Munkatérfogata 30-220 liter között mozog.



11. ábra: Műanyag erjesztő hordó (saját felvétel)

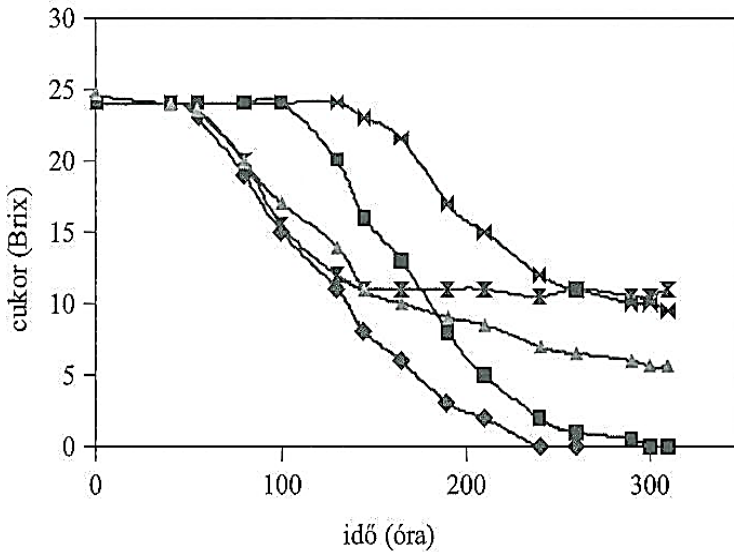
Az erjesztést kisüzemi vagy ipari körülmények között acél tartályokban végzik el (12. ábra), amelynek munkatérfogata 25 litertől több 10.000 literig terjedhet. Laboratóriumi vagy kisüzemi körülmények között kisebb (25-300 liter), hőmérsékletszabályozás nélküli tartályokat szoktak alkalmazni.



12. ábra: A saválló acél erjesztő tartályok sima (saját felvétel), és kettős falú (URL⁴) kivitelben.

2.3.4. Rendellenes erjedési folyamatok

A rendellenes erjedési folyamatoknak jelenleg 4 formáját (13. ábra) különböztetjük meg, minden profil háttérében más-más tényezők játszanak szerepet, bár előfordulnak közös elemek is.



13. ábra. Rendellenes erjedések dinamikája, BISSON (1995) nyomán.
 Normális $\blacklozenge$, vontatottan beinduló $\blacksquare$, elhúzódó $\blacktriangle$, végig vontatott $\blackcross$,
 hirtelen elakadó $\blacktriangledown$ erjedések.

A vontatottan beinduló erjedés esetében olyan tényezők jöhetnek szóba, amelyek idővel gyengülnek, csökkennek vagy semlegesítődnek. Pl. túl magas kezdeti cukortartalom, vagy túl alacsony induló hőmérséklet. Spontán erjedés során, a túl alacsony kezdeti sejtszám okozhat problémát. BISSON és BUTZKE (2000) szerint normálisan beinduló erjedéshez legalább 100-1000 sejt/ml szükséges. Liofilizált élesztő alkalmazása esetén nem megfelelő rehidratálás is késleltetheti az erjedés elindulását. Magas erjesztő tartályokban a beoltás

utáni keverés hiánya is okozhat problémát. Az ilyen típusú erjedési gondok az okok megszüntetésével gyorsan orvosolhatók.

Normálisan beinduló, de elhúzódó vagy elakadó erjedés esetében a kezdeti körülmények optimálisak, de az erjedés során kedvezőtlennek válnak. Előfordulhat a makro- és mikro tápanyagok kimerülése. Az okok erjedési tápsók, élesztő tápanyagok adagolásával, kezdeti kevertetéssel megszüntethetők. A tápanyag pótlását az erjedés normális sebességű szakaszában kell végrehajtani, mert az elhúzódó vagy elakadt erjedést már nehéz elindítani (MAISONNAVE et al., 2013). Az erjedés elakadásának megelőzésére hatékonyan találták oxigén adagolását az aktív szaporodási fázis végén, a maximális erjedési sebesség elérése után (SABLAYROLLES, 1996; BISSON és BUTZKE, 2000). Az erjedés elakadása az optimálistól (0,1) eltérő glükóz-fruktóz aránya miatt is kialakulhat (GAFFNER és SCHÜTZ, 1996).

Lassan beinduló és egyenletesen lassú erjedés a magas cukortartalmú és botritiszes mustok erjesztése, valamint a hidegerjesztés során (12 °C alatt) alakulhat ki. Egyéb mustokban több oka lehet ennek a jelenségnek. Súlyosan tápanyaghiányos mustban az élesztők már az erjedés elején korlátozva vannak, és nem tudnak felszaporodni az erjesztéshez szükséges sejtszámra. Ezt korai komplex tápanyag adagolásával kiküszöbölhetjük. Hasonló probléma adódhat a nagyon alacsony (3,0 alatti) pH esetében is, amely azonban savtompítással jól korrigálható. Gyenge stressz tűrésű, rosszul alkalmazkodó vagy genetikailag sérült *Saccharomyces* törzs esetén is ez a rendellenes erjedés a jellemző, amely komplex tápanyagok és élesztő sejtfal készítmények (szterolok) adagolásával javítható (MAGYAR, 2010).

Az erjedés elakadása akkor jellemző, ha hirtelen hősokk éri az erjedő anyagot. Ez a sokk fokozza a sejtek alkohollal, acetaldehiddel és zsírsavakkal szembeni érzékenységét. Ez az irányított erjesztési technológia mellett már ritkán fordul elő.

Az elakadt újborok újraindítása nagyon nehéz, bár nem lehetetlen feladat a borászok számára. Sok tényezőt kell figyelembe venni, de abban minden kutató egyetért, hogy az újraoltás előtt az eredeti élesztőpopulációt el kell távolítani az újborból. Ennek háttere abban rejlik, hogy a sejtek között kommunikációs mechanizmusok vannak. Az egyik ilyen az ún. „quorum sensing”-nek nevezett sejtsűrűség érzékelő képesség, ami molekulák közvetítésével egy meghatározott sejtsűrűség elérése után a populáció egyedeit működésük összehangolására készíti (WATERS és BASSLER, 2005). A másik molekuláris háttér még kevésbé ismert, de feltételezések szerint az éhező sejtek egy „figyelmeztető” szignál molekulát bocsájtanak ki, amelyet nagy sejtsűrűségű közegben a szomszédos sejtek érzékelni képesek (SINCLAIR et al., 1998). Ennek hatására a sejtek nyugvó állapotba lépnek és megszüntetik aktivitásukat.

2.4. Szőlővenyige enzimes hidrolízise és nagy nyomású kezelése

Hazánk borvidégein a metszési időszakban minden évben hatalmas mennyiségű szőlővenyige keletkezik, amelyet érdemes lehet energetikai célokra hasznosítani.

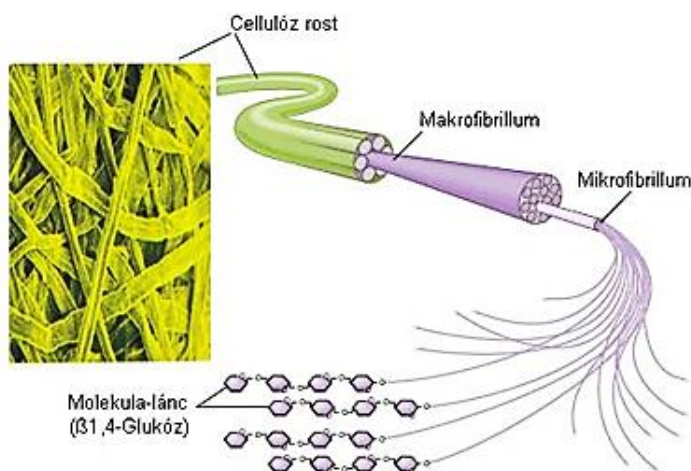
A szőlő- és gyümölcsstermelés során keletkező melléktermékeiből (szőlővenyigéből és gyümölcsfa-nyesedékből) évente 350-400 ezer tonna keletkezik, amelyek jelentős mennyiségű (5-6 PJ) energiát lennének képesek szolgáltatni. Ezen melléktermékek tüzelésükre eddig még csak próbálkozások történtek. A szőlővenyige bálázásos betakarítása és kisméretű kazánokban történő égetése a szőlőtermelő gazdaságokban járható út. A venyige és a gyümölcsfa-nyesedékek aprítására, gyűjtésére és tüzelésére még nincs kialakult technológia és törvényi szabályozás sem (URL⁵).

Mivel a növényi biomassa a szén, földgáz és kőolaj után a negyedik legnagyobb mennyiségben előforduló energiaforrás, ezért az energetikai és környezetvédelmi kihívásokra a biomassa felhasználása kínálhat megoldást.

2.4.1. A cellulóz

A cellulóz (14. ábra) a Földön legnagyobb mennyiségben előforduló szerves anyag, mivel a növények vázanyagának legnagyobb részét képezi. Bolygónkon minden évben 180 milliárd tonna cellulóz termelődik, így a legnagyobb mennyiségben előforduló, növényi biomasszából származó szénhidrát forrás. A növényi eredetű biomasszán kívül nagy mennyiségben termelődik úgynevezett másodlagos biomassa is, amely a mezőgazdasági és ipari jellegű hulladékokat jelenti (COUGHLAN és MAYER, 1992).

Az utóbbi időben jelentősen megnőtt az ipar érdeklődése a nagy mennyiségben képződő biomassza felhasználása iránt. A folyamatosan megújuló energiaforrás nyersanyaga lehet számos ipari ágazatnak és a bioetanol előállításnak is alapjául szolgálhat.



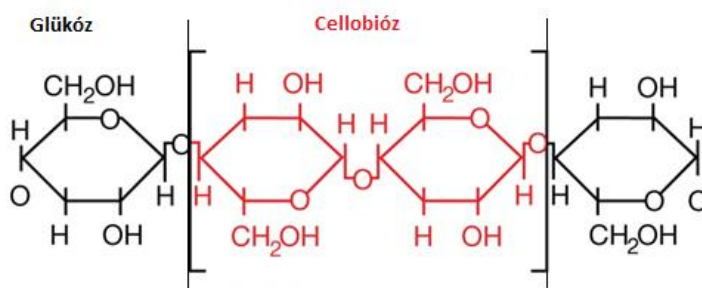
14. ábra. A cellulóz felépítése (URL²)

A cellulóz $(C_6H_{10}O_5)_n$ egy poliszacharid, amely β -D-glukopiranoz egységekből épül fel 1-4 kapcsolódással. Fehér színű, normál körülmények között szilárd porszerű anyag. A cellulóz a növényi sejtek rostszerű vázanyaga, amely leginkább a gyapotban, lenben, kenderben fordul elő. Szerkezetét tekintve a cellulóz szálak mikrofibrillumokat, azok pedig makrofibrillumokat alkotnak. A mikrofibrillák pedig beágyazódnak a hemicellulóz és lignin mátrixba.

A nagy molekulatömegű és a rendezett mikrokristályos szerkezetű anyag, amelynek révén stabil vegyület, vízben oldhatatlan (FAN, 1980, SJÖSTRÖM, 1981), híg savakkal és lúgokkal szemben is ellenálló (GASZTONYI és LÁSZTITY 1992). Szobahőmérsékleten 40 %-os sósavban illetve híg

kénsavban melegítve, nyomás alatt először cellobiózra, majd D-glükózzá bomlik. Ezt használják ki savas feltáráskor (RÉCZEY et al., 1996). A tömény sósavon kívül csak néhány gomba, baktérium és rovar képes bontani (DIENES, 2006).

Élelmiszeriparban főként cellulóz-étereket, alkil-, hidroxi-alkil és karboxi-alkil származékokat használnak fel. Elsősorban a sütőiparban adalékanyagként (öregedéskésleltetés), gyümölcs- és zöldségszáritmányokban a rehidratáció javítására, alkalmazható az alkil-hidroxi-cellulóz emulzió stabilizátorként, az alkilcellulóz habképző anyagként (GASZTONYI és LÁSZTITY, 1992) alkalmazzák.



15. ábra. A cellulóz molekula egy részlete (PÁLFIA ÉS KRISTÓF, 2013)

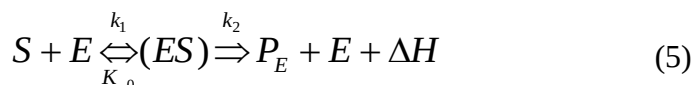
A cellulózt (15. ábra) az emberi szervezet nem tudja megemészteni. A feltárásra különféle módszereket szoktak alkalmazni. Ezek közé tartozik a hidrolízis gyenge illetve erős savakkal (sósav, kénsav), lúgokkal, oxidálószerekkel (hidrogén-peroxid), valamint előkezelés gőzzel és az enzimatis hidrolízis. A gyenge savas hidrolízis ugyan megbontja a lignin szerkezetét, de csak kismértékű a hidrolízis, ebből kifolyólag kis glükóz kihozatal érhető el. Az erős savak alkalmazásának hátránya, hogy az erősen korrozív körülmények jelentősen megnövelik az alkalmas berendezések árát,

ezen kívül számos nemkívánatos melléktermék keletkezik, csökkent glükóz kihozatal mellett (GREGG és SADDLER, 1996).

2.4.2. Celluláz enzimrendszer

Az élő szervezetekben lejátszódnak olyan bonyolult folyamatok is, amelyek azon kívül, de azonos körülmények között egyáltalán nem, vagy csak sokkal lassabban mennek végbe. Ezeket a különleges reakciókat Berzelius (1835) tanulmányozta először. Leírta, hogy az ezek az anyagok, olyan tulajdonságokkal rendelkeznek, amelyek a reakcióban nem vesznek részt, de nélkülük a reakció nem játszódik le. Az ilyen hatást katalitikus hatásnak nevezte. Kühne (1878) enzimeknek nevezte ezeket az anyagokat, amelyeket élesztőkkel kísérleteztek ki, tehát élesztőből származnak és a szervezetben katalitikus hatást fejtenek ki (NEMESTÓTHY, 2005).

Az enzimreakciók általános egyenlete (5) ANTONELLI (2002) nyomán:



Ahol:

S : szubsztrát;

E : enzim;

P_E : reakció végterméke;

ES : intermediér komplex.

A bioetanol előállítására jelenleg két módszer kínálkozik. Az egyik az ún. keményítő alapú technológia, mely nyersanyaga a növényekben található egyszerű cukrok (glükóz, fruktóz, stb.) illetve a keményítő, és végterméke az első generációs alkohol. Az egyszerű cukrok egy lépéses alkohol

fermentációval etil-alkohollá konvertálhatók, amelynek fermentációját a közönséges péklesztő törzs végzi anaerob környezetben (BENKŐ, 2012).

A másik az ún. cellulóz alapú technológia, mely nyersanyaga a cellulóz alapú biomassa (lignocellulózok), terméke a második generációs alkohol. A növényi biomassa cellulózt, különböző fajtájú hemicellulózokat és lignint tartalmaznak. Ilyenek például a fű-, fafélék, illetve a növényi szarak (kukoricaszár, búzaszalma). A komplexet alkotó három fő komponens mellett kis mennyiségben találhatunk fehérjéket, olajokat, pektineket is ezekben a nyersanyagokban (BENKŐ és RÉCZEY, 2008). A cellulóz alapú etanol technológia több lépéses, bonyolultabb eljárás, mint a keményítő alapú, viszont a nyersanyagbázis miatt ez válhat a jövő útjává (BENKŐ, 2012). Az első generációs etanol előállítási költsége alacsonyabb, mint a második generációsé, hosszútávon azonban fő célkitűzést jelenthet az élelmiszeripari nyersanyagokat használó elsőgenerációs gyártókapacitások átállítása második generációs technológiára, mellyel az eddig nem értékesített melléktermékek lennének tovább hasznosíthatók (BENKŐ, 2012).

A cellulóz enzimatis lebonatása és a bioetanol előállítás jelentősége nagyon megnőtt az utóbbi időben. A cellulózból kiinduló etanol gyártásban a celluláz enzimek előállításának költsége nagyon nagy hányadot tesz ki. Celluláz enzimeket nagyon sok gomba (*Trichoderma*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Sclerotium*, *Schizophyllum*, *Penicillium*, *Monilia*...stb.) és bizonyos baktériumok is (*Clostridium*, *Pseudomonas*, *Cellolomonas*, *Streptomyces*, *Actinomycetes*...stb.) termelnek (COUGHLAN, 1985; ENARI 1987).

Celluláz termelés szempontjából a gombák állnak a kutatások középpontjában, azokon belül is főleg a *Trichoderma* és az *Aspergillus* fajokat vizsgálták. A baktériumok közül csak a *Clostridium* (ZEIKUS, 1980)

és a *Cellulomonas* (HAGGET et al., 1978) rendelkezik elegendő enzimtermelő képességgel az ipari felhasználás szempontjából. Az enzimek számos előnnyel rendelkeznek a kémiai katalizátorokkal szemben:

- működésükhöz nincs szükségük magas hőmérsékletre és nyomásra, ami energia-megtakarítást jelent,
- sok enzim hatékonyabb, mint kémiai megfelelője,
- nem igényel toxikus oldószereket így környezetszennyezése elhanyagolható, vagy enyhébb mértékű,
- specifikusabb, így kevesebb melléktermék termelődik,
- alkalmazni lehető őket olyan reakciókban, amelynek katalízise vegyi úton nem megoldott.

Az enzimek előnyös tulajdonságai sok szempontból előnyösek, egyrészt a biotechnológiai folyamatokat környezetbaráttá teszik, de ahhoz, hogy azok gazdasági szempontból versenyképesek legyenek, rengeteg kutatás-fejlesztést igényelnek (DIENES, 2006). A cellulózok hidrolízisében a celluláz enzim komplex (WOOD, 1990) vesz részt, ami háromtípusú enzimből áll:

- endoglükanáz
- exoglükanáz, avagy cellobiohidroláz
- glükozidáz.

Az endoglükanázok a cellulóz belsejében lévő -1,4- glükozidos kötésekét hidrolizálják. A cellobiózt nem bontják, hidrolizálni képesek azonban az amorf cellulózt, cellodextrint, foszforsavval duzzasztott cellulózt és a szubsztituált cellulózt. Az enzim specitása ezért kicsi. A *Trichoderma reesei* fermentálása során az extracelluláris fehérjék 15-20 %-a endoglükanáz (BROWN és GRITZALI, 1984).

A cellobiohidrolázok a glükóz dimereket (cellobióz) hasítanak le, jellemzően az endoglukanázok által előállított rövidebb láncok végeiről. Ezek az exoglukanázok a *Trichoderma reesei* fermentlevében a legnagyobb hányadban előforduló fehérjék. *T. reesei* cellulóz szubsztráton való tenyésztéskor az extracelluláris fehérjék 35-85%-a cellobiohidroláz volt (GRITZALI és BROWN, 1979; GONG et al. 1979).

A glükozidázok cellobiózt és oligoszacharidokat bontanak glükózzá (ENARI, 1987). A cellulóz cukrosításában nagyon fontos szerepük van, a cellobiózt hidrolizálják ezáltal megakadályozzák a cellobióz felhalmozódását, ami a celluláz enzim rendszer többi tagjára nézve gátló hatású. Ezen kívül katalizálják a cellobióz kötésének hasítását a két anhidroglükóz egység között. Ilyen minőségükben sebesség-meghatározó szerepük van a cellulóz hidrolízisében (COUGHLAN, 1985).

A *T. reesei* sokak szerint a legjobb celluláz termelő gomba, annak ellenére, hogy viszonylag alacsony az extracelluláris –glükozidáz termelése (ALLEN és STERNBERG, 1980). Az enzimes folyamat hatékonyságának növelése céljából ezért a cellulóz elcukrosítása folyamán – glükozidáz kiegészítést alkalmaznak (STERNBERG et al., 1977; SRIVASTAVA et al., 1987).

2.4.3. Enzimes hidrolízis és gőzrobbantás

A második generációs bioüzemanyagok előállítása során alapanyagként a mezőgazdaságból származó lignocellulóz tartalmú biomasszát és más mezőgazdasági hulladékokat használják fel (KÁDÁR et al., 2004), ezen kívül papírt (LARK et al., 1997), valamint füvet és fákat (BOLLÓK et al., 2000). A lignocellulóz tartalmú bioetanol előállítás során az előkezelési technológia nagyon nagy jelentőséget tölt be (STEVENS et al., 2004) a cellulóz nagyon

komplex kémiai felépítése miatt. A glükóz molekulák felszabadítása bonyolult és gondosan megtervezett technológiát igényel.

A cellulózból nagy mennyiségű glükóz előállítása savas vagy enzimes hidrolízissel történhet. A savas hidrolízis magas hőmérsékleten és alacsony pH-n történik. Ezt a technológiát választva problémát jelent a berendezések korrodálódása, valamint melléktermékek keletkezése is. Ezzel ellentétben a cellulóz enzimes hidrolízise szelektíven nagy glükóz kitermeléssel megy végbe, egyéb köztes termékek keletkezése nélkül (FLACHNER, 2003).

A savas hidrolízis során alkalmazott savak közül a kénsav a leghatékonyabb. Alacsony (<120 °C) hőmérsékleten és nagy (>5%) koncentrációban alkalmazva is lejátszódik a hidrolízis. A híg (0,5-5%-os) kénsav pedig körülbelül 200 °C-on viszi oldatba a poliszacharidokat. A hidrolízist két lépésben szokták megvalósítani. Az első lépésben csak a hemicellulózt hidrolizálják, majd a második lépésben pedig már erősebb körülmények mellett hidrolizálják a cellulózt. A kénsavas hidrolízis mellett a monoszacharidok tovább bomlanak, illetve a későbbi erjesztést gátló melléktermékek (inhibitorok) termelődése is megindul. Nagy mennyiségű inhibitor termelődés esetén az erjesztés előtt ezeket a komponenseket el kell távolítani (LARSSON et al., 1999), vagy szigorúan ellenőrzött fed batch (rátáplálásos szakaszos) erjesztést kell végezni (NILSSON et al., 2001, RUDOLF et al., 2004).

Az enzimes hidrolízist olyan enzimekkel lehet elvégezni, amelyek celluláz illetve hemicelluláz aktivitással rendelkeznek, esetleg közvetlenül ilyen enzimeket termelő mikroorganizmusok alkalmazásával (jellemzően *Trichoderma reesei*). A cellulóz enzimes hidrolízise vizes közegben,

jellemzően 35-50 °C-os tartomány között, 4,8-as pH-n több enzim együttes aktivitása mellett valósulhat meg.

A cellulózt bontó enzimek alkalmazása bár környezetvédelmi szempontból előnyös, magas anyagköltségük miatt még további kutatásokat kell elvégezni, arra vonatkozóan, hogy hatékonyságukat, aktivitásuk mértékét növelni tudjuk, így az ezen alapuló bioetanol előállítás is gazdaságos legyen (DIENES, 2006).

A cellulóz bontási folyamatok felgyorsítására tettek már lépéseket. A savas hidrolízis mellett a cellulóz rost feltárását végezhetik gőzzel, magasabb nyomásértékek alkalmazásával.

Számos irodalmi hivatkozás szerint gőzrobbantással eredményesen lehet előkezelní a lignocellulóz alapanyagokat, így kukoricaszárat is. Az eljárások során, 160-270°C-on nyomás alatt (0,7-5 MPa) átítatják a megfelelően előkészített lignocellulózt, majd egy megfelelően kiképezett szelepen át igen rövid idő alatt expandáltatják. A gőz tehát először beférkőzik a lignocellulóz mátrixba, majd onnan robbanásszerűen expandál, ezáltal a lignocellulóz struktúra szétesik, a hemicellulóz jelentős része hidrolizál, a cellulóz kristályossága csökken, hozzáférhető felülete jelentősen nő. Ezt az eljárást alkalmazza az Iotech (JURASEK, 1979), a Stake (BENDER, 1979) és a General Electric (BROOKS, 1978). Az eljárásnak az a hátulütője, hogy az alapanyag nagy része lebomlik, amelynek következtében bizonyos fermentációt gátló melléktermékek (inhibitorok) keletkeznek. Kénsav, kéndioxid vagy széndioxid adagolásával javíthatjuk a hidrolízist és a cellulóz enzimes bonthatóságának hatékonyságát, valamint bizonyos mértékben visszaszoríthatjuk az inhibitorok keletkezését (PURI, 1983; TENBORG, 1998).

ÖHGREN (2005, 2006a,b, 2007a,b) a kukoricaszár gőzrobbantásával kapcsolatban végzett számos kutatást. Megkísérelte a teljes folyamat (gőzrobbantás, cukrosítás és erjesztés) optimalizálását. Savkatalizált gőzrobbantást követően ($T=190\text{ }^{\circ}\text{C}$, $t=10\text{ perc}$) celluláz enzimek és pékélesztő egyidejű alkalmazásával, cukrosítással és erjesztéssel, azonban az elméleti etanol kitermelés 70%-át ritkán tudta meghaladni. Az ezt meghaladó, 73-80% közötti etanol kitermelést csak az előkezelt szilárd anyagban maradt xilanázok, illetve hőtoleráns cellulázok adagolásával tudott elérni.

A köles illetve rizs szalmából készített bioetanol előállítás során alkalmaztak mikrohullámú előkezelést, amikor a nyersanyag besugárzását végezték. Ezekben az esetekben a cellulózbontó enzimet a mikrohullámú kezelés után kell az anyaghoz adagolni (HU és WEN, 2008; MA et al., 2009).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. MARS mikrohullámú berendezés

A mikrohullámú kísérleteinket MARS mikrohullámú roncsoló berendezéssel végeztük el (16. ábra). A CEM MARS egy komplex zárt mikrohullámú minta-előkészítő berendezés, mely alkalmas szilárd és folyadék minták (víz, talaj, hulladék, biológiai minták) roncsolására. A készülék lehetőséget nyújt hidrolízisre, szerves kémiai szintézisre, minták szárítására és bepárlásra is.

A készülék hálózati feszültségről (230 V/50 Hz) működik. A magnetron névleges teljesítménye 1600 W, frekvenciája 2455 MHz. A rendszer három különböző teljesítményszinten működhet (400 W, 800 W, 1600 W) pulzálás-mentesen, mindhárom teljesítményszint 1 %-os lépésközzel szabályozott a felhasználó által előírt nyomás és/vagy hőmérséklet görbe minél pontosabb követése érdekében.

A beépített számítógép 100 db többlelépéses program tárolására ad lehetőséget. A szoftver négyféle szabályzást tesz lehetővé a teljesítmény-idő-nyomás-hőmérséklet megfelelő beállításával.

A mikrohullámú térben lejátszódó állapotváltozásokat aszerint lehet leginkább nyomon követni, hogy a besugárzott anyagban hogy alakul a hőmérséklet változása. A mikrohullámú készülékekről ismeretes, hogy fémek tartalmazó hőmérő nem helyezhető a kezelőtérbe, kivéve, ha annak kialakítása teljesen homogén, ezért a hőmérsékletmérését termométerrel

(VILLAMIEL et al., 1998) és műanyag védőréteggel burkolt termoelemmel valósítják meg (RAMASWAMY et al., 1991; CHENG et al., 2006a).



16. ábra. A MARS mikrohullámú berendezés felépítése

A belső tér fala teflonnal bevont saválló acél. Lehetőség van két darab vezeték alkalmazásával vákuum és/vagy gáz be- és elvezetésére a mikrohullám szivárgása nélkül. A berendezés egy biztonsági ajtóval és nyitásérzékelővel van ellátva, mely megakadályozza a magnetron működését ajtónyitáskor illetve abban az esetben, ha az ajtó nincs tökéletesen becsukva. A rendszer rendelkezik két hőkapcsolóval, amelyek nem megfelelő működés esetén azonnal leállítják a készülék működését. A forgótányér automatikusan elindul, amikor a magnetron működésbe lép. A készülékben egy elszívó rendszer is működik, az esetlegesen keletkező gőzök eltávolítására. A magnetron speciális védelme gondoskodik a felesleges mikrohullámú energia elnyeléséről. Ennek segítségével képes a készülék egyetlen mintával, vagy akár minta nélkül is működni a magnetron károsodása nélkül.

3.2. A *Saccharomyces cerevisiae* pusztulási és szaporodási tulajdonságainak vizsgálata mikrohullámú besugárzás hatására

A kísérletek során mikrohullámú sugárzásnak tettük ki a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőt, és ezután vizsgáltuk annak pusztulási és szaporodási tulajdonságait. A mérésekhez a kereskedelemben kapható pékélesztőt (Budafoki) alkalmaztuk. Az élesztővel végzett vizsgálatok során a kezelési hőmérséklet minden esetben 37 °C, az inkubálási hőmérséklet pedig 30 °C volt.

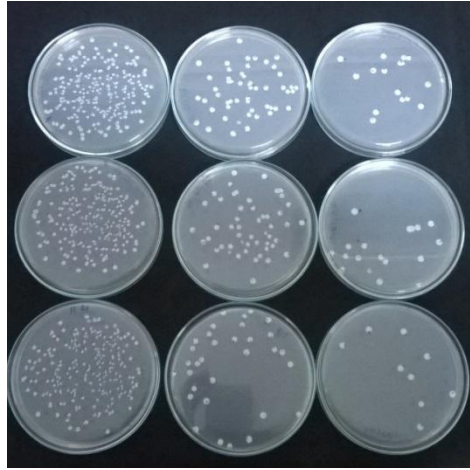
3.2.1. A pusztulási görbék meghatározása

A mikrohullámú kezelések kialakításánál fontos paraméter a sugarak behatolási mélysége a kezelendő anyagba, amely esetünkben a MARS mikrohullámú készülék egyedi kialakítása miatt 100 %-os volt. A mikrohullámú készülékben egyszerre mindig 525 ml mintát kezeltünk.

A pusztulási görbe meghatározása során, 5 teljesítményszinten vizsgáltuk az élesztő pusztulási tulajdonságait. A mikrohullámú besugárzás során 50- ($0,095 \text{ Wcm}^{-3}$), 100- ($0,190 \text{ Wcm}^{-3}$), 400- ($0,761 \text{ Wcm}^{-3}$), 600- ($1,142 \text{ Wcm}^{-3}$) és 900 W –os ($1,714 \text{ Wcm}^{-3}$) teljesítményt alkalmaztunk, ahol a hőmérsékletet 37 °C-ban maximalizáltuk, ugyanis ennél magasabb hőmérsékleten a sejtek már károsodnak, pusztulnak. Ezen teljesítmények alkalmazásával különböző besugárzási időket alkalmaztunk (30, 60, 90, 120 perc), amely kezelések után tenyésztési módszerrel határoztuk meg a pusztulás intenzitását (ismerve a kiindulási sejtszámot).

A mikroorganizmusok élősejt számának meghatározását telepszámlálós eljárással végeztük, amelyhez felületi szélesztéses módszert alkalmaztunk. Ez a módszer alkalmas az összcsíraszám, valamint az elektív és szelektív táptalajok és optimális tenyésztési viszonyok alkalmazásával szűkebb mikroba csoportok élő sejtszámának meghatározásához. A mérés elvégzéséhez először elkészítettük az élesztőknél általánosan alkalmazott YGC táptalajt. A táptalajhoz 5 g/L peptont, 20 g/L glükózt, 14,8 g/L agart és 0,1 g/L kloramfenikolt adagoltunk (a kloramfenikol adagolása azért fontos, mert ez teszi szelektívvé a táptalajt), megfőztük majd autoklávbán 121 °C-on 15 percig sterilizáltuk. A lemezek leöntése előtt a Petri csészéket is ugyanígy 121 °C-on 15 percig kezeltük. A sterilizálás után a Petri csészékbe 15 ml táptalajt öntöttünk, majd hagytuk megszilárdulni őket. A megszilárdulás után a szélesztés előtt a csészéket szárítószekrénybe szikkasztottuk 50 °C-on 30 percig, ugyanis a nedves felületű lemezen nehéz a szélesztés és a kifejlődő telepek szétfuthatnak.

A megfelelő kiértékeléshez először decimális hígítási sort készítettünk a mintákból. A táptalaj megfelelő előkészítése után a kezelt élesztőszuszpenziókból 0,1 ml-t pipettáztunk a lemezekre. A hígítási sor három tagjából 3 párhuzamos szélesztést végeztünk (17. ábra). Szélesztés után a megfordított lemezeket 30 °C-on 72 óráig inkubáltuk szárítószekrényben (VENTICELL, V 1.05 Blue line). Az értékelésbe csak azokat a telepeket vontuk be, melyeknél a telepszám 10-300 között volt.



17. ábra: Az élesztő pusztulási tulajdonságainak kísérleti eredményei (saját felvétel)

A kiértékelést a következő képlet (6) alapján végeztük:

$$\bar{C} = \frac{\sum c}{\langle n_1 + 0,1 | * n_2 \rangle * V * d} \quad (6)$$

ahol,

$\bar{C}$: telepszám súlyozott középértéke

$\sum c$: a számításba bevont valamennyi lemez telepeinek összege (legalacsonyabb és az azt követő kiértékelhető hígítási fokok)

n_1 : a legalacsonyabb kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma

n_2 : a következő kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma

V : lemezre vitt kultúra mennyisége

d : első értékelte hígítási szint hígítási foka

3.2.2. A szaporodási görbék

Az élesztő szaporodását folyékony táplevesben vizsgáltuk. A tápközeg elkészítéséhez 5 g/L glükózt, 5 g/L kazein-peptont, 5 g/L élesztőkivonatot és 1 g/L ammónium-dihidrogén foszfátot használtunk, melyben ezután analitikai mérleggel (Sartorius BL 210S) bemértük az élesztőt (3,75 g/L).

Kontrollként 30 °C-on szárítószekrénybe inkubáltuk az egyik szuszpenziót. A második minta kezelése során mikrohullámú sugárzást kapott a tápoldat, amelybe ezután tettük bele az élesztőt. A harmadik minta kezelése során pedig az élesztőszuszpenziót egybe kezeltük a tápoldattal. A besugárzás során a teljesítményt 50 W (400 W 12%-a) és 400 W-ra a hőmérsékletet 37 °C-ra állítottuk be a kezelési idő pedig 60 perc volt.

A szuszpenziókat a kezelések után szárítószekrénybe (VENTICELL, V 1.05 Blue line) helyeztük és YellowLine RS/OS 10 Basic típusú rázóberendezéssel folyamatosan mozgattuk (120 rpm). Az élesztők optimális szaporodási hőmérséklete fajtól függően 30-37 °C között van, ezért a hőmérsékletet 30 °C-ra állítottuk be. A szaporodás intenzitását optikai denzitás méréssel valósítottuk meg (VITEX Densicheck, 18. ábra), melyet minden órában mértünk 17 órán keresztül. A sejtszám meghatározását a Densichek készülékhez tartozó skála alapján számítottuk ki.



18. ábra. Densicheck optikai denzitás mérő (saját felvétel)

A mérést 3 ismételtsben végeztük el. A mérés hibájának elkerülése miatt megmértük a folyékony tápközeg denzitását is. A kísérleti adatok rögzítését és az eredmények kiértékelését a Microsoft Office Excel (2003) program segítségével végeztük.

3.2.3. Glükóz bontási képesség vizsgálata

A pusztulási és szaporodási vizsgálatok után az élesztő glükóz bontási képességét is vizsgáltuk mikrohullámú kezelések hatására. A kísérletek során laboratóriumi fermentorban (MINIFORS S-000113794, *19. ábra*), valamint irányított erjesztő berendezésben (Hagyó Kereskedelmi és Szolgáltató Kft.) végeztük méréseinket.

A MINIFORS fermentorban (2,5 literes munkatérfogat) végzett kísérletek során először élesztőszuszpenziót készítettünk, amely 8 dl vízből, 6 g élesztőből, 1 g élesztőkivonatból állt. A szuszpenzióhoz 25 g glükózt

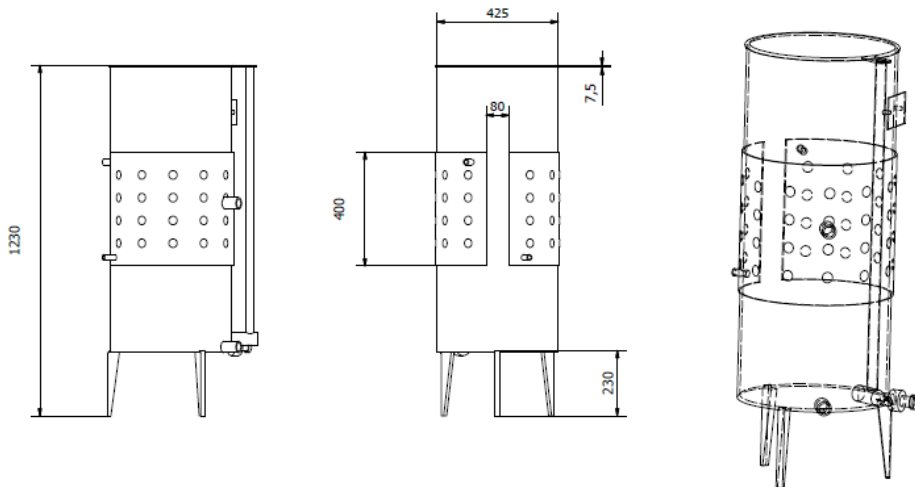
adagoltunk. A szuszpenziót ezután a MARS mikrohullámú berendezésben kezeltük, amely során a kezelési teljesítmény 50 W, a kezelési idő 60 perc, a hőmérséklet pedig 37 °C volt. A hőmérséklet mérését és szabályozását az edényzetbe vezethető hőmérővel és a fermentorhoz tartozó vízvezetékrendszerhez csatlakoztatható vízhűtéssel valósítottuk meg. Kontroll mintához hasonlítottuk eredményeinket, amely semmilyen kezelést nem kapott.



19. ábra. MINIFORS laboratóriumi fermentor

A kezelt mintát ezután a fermentorban a kontroll mintát pedig szárítószekrényben (VENTICELL V 1.05 Blue line) 30 °C-on, folyamatos keverés, rázatás mellett inkubáltuk.

Nagy fermentoros (Hagyó Kereskedelmi és Szolgáltató Kft.) kísérleteket is végeztünk, ahol ugyanazokat a kísérleti paramétereket állítottuk be, mint a MINIFORS fermentorban, azzal a különbséggel, hogy itt folyamatos mikrohullámú besugárzást alkalmaztunk, napi 7 órás kezelést alkalmazva. A mikrohullámú berendezést összeköttöttük a fermentorral, a két berendezés között pedig VWR VP-SD820-típusú perisztaltikus szivattyú biztosította a folyadék folyamatos áramlását.



20. ábra: A Hagyó Kereskedelmi és Szolgáltató Kft. által kialakított irányított erjesztő berendezés.

A fermentor (20. ábra) 2 db 130 l-es munkatérfogató fűthető-hűthető kettős falú tartályból, hozzájuk tartozó központi szabályozó egységből és egy számítógépes szoftverből áll (21. ábra).



21. ábra. Az irányított erjesztő berendezéshez tartozó szoftver felhasználói felülete.

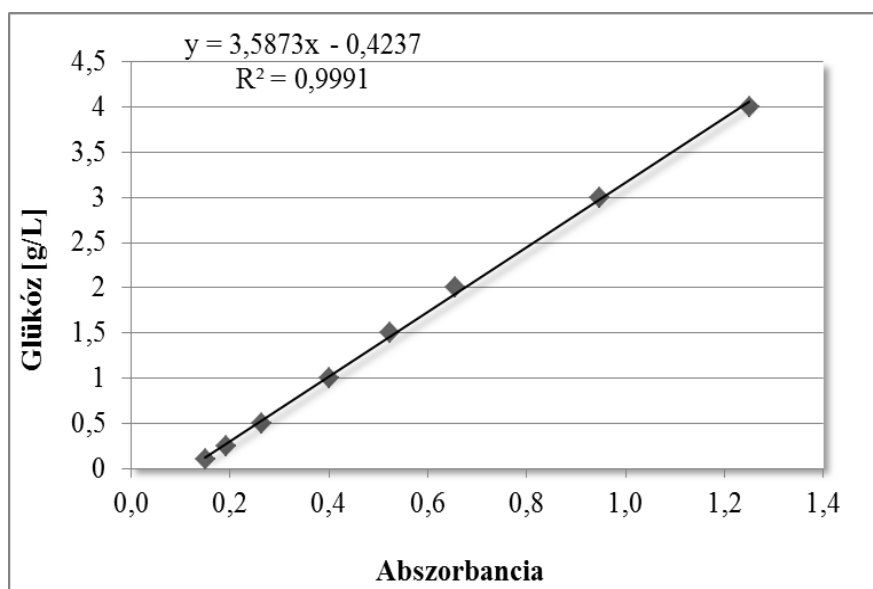
A rendszerben folyamatos hűtőközeg biztosítja az optimális hőmérsékleti körülményeket. A rendszer szabályozása során számítógép vezérelte programmal követtük nyomon a hűtőkörének áramlási viszonyait. A számítógép segítségével optimális hőmérsékletet tudtunk elérni, ezáltal megfelelő hőmérsékletet tudunk biztosítani a mintáink számára.

A mikrohullámú sugárzás paramétereit ugyanúgy állítottuk be, mint a kis fermentoros kísérletnél, vagyis az alkalmazott teljesítmény 50 W, a hőmérséklet pedig 37 °C volt. A mikrohullámú készülékbe műanyag csőből kialakított spirált alakítottunk ki, melynek hossza a készülékben 5 m volt. A műanyag cső belső átmérője 4 mm, így a készülékben kezelt minta mennyisége egyszerre 0,063 liter volt. A folyadék áramlását biztosító perisztaltikus pumpa percenként 4 dl szuszpenziót pumpált át a rendszeren, ami azt jelenti, hogy 1 óra alatt 24 liter, 7 óra alatt pedig 168 litert mintát

kezelt meg a készülék. Mivel a tartályokba 70 liter szuszpenziót adagoltunk, így napi szinten 2,4-szer tudta megkezelni a rendszer a mintát.

A kezelési időn kívül a tartályok hőmérsékletszabályozó rendszerét úgy állítottuk be, hogy a hőmérséklet 30 °C legyen. Ebben az esetben is kontroll mintához is viszonyítottuk eredményeinket.

Mindkét módszer esetén naponta mértük a cukor fogyását HITACHI U-2910 típusú spektrofotométerrel. A spektrofotométeres mérések előtt 1%-os glükóz reagensből kiindulva kalibrációs oldatokat készítettünk különböző koncentrációban (0,1 g/L; 0,25 g/L; 0,5 g/L; 1 g/L; 1,5 g/L; 2 g/L; 3 g/L; 4g/L). Az így kapott kalibrációs egyenes egyenletét kellő megbízhatósággal használhattuk fel a minták glükóztartalmának meghatározásához (22. ábra). Eredményeinket minden esetben 3 mérés átlaga alapján ábrázoltuk.



22. ábra. Referencia oldatok glükóztartalma az abszorbancia értékek függvényében.

A mérés során a mintából 3 μ l mennyiséget kémcsőbe pipettáztunk, majd ehhez 3 ml glükóz GOD/PAP (Diagnosticum Zrt.) reagenst adtunk hozzá. Ezt az elegyet 37 °C-os vízfürdőbe helyeztük 7 percre, majd a spektrofotométer küvettájába töltöttük, majd leolvastuk az eredményeket.

3.3. Szőlőmust erjedési folyamatainak mérése

Az erjesztési kísérletek elvégzése során különböző kezelési eljárásokat alkalmaztunk. A kísérletek során Olaszrizling fajtájú szőlőből készített must erjedését vizsgáltuk. A méréseket 3 ismétlésben végeztük. Az eredmények kiértékelés során egytényezős variancia analízist és kétmintás T-próbát alkalmaztunk.

Az első mérés során négy párhuzamos minta erjedését hasonlítottuk össze.

- kontroll minta: semmilyen kezelésnek nem vetettünk alá.
- élesztővel beoltott minta: *Saccharomyces cerevisiae* fajélesztő adagolása (IOC B 2000 aktív szárított élesztő, Eurotrade Kft.).
- mikrohullámmal kezelt minta: MARS5 mikrohullámú roncsoló berendezés általi kezelés (alkalmazott teljesítmény 50 W, kezelési idő 45 perc, a must végső hőmérséklete 32 °C).
- élesztős kiegészítést és mikrohullámú kezelést is kapott minta: a fent leírt kezelési paraméterek alkalmazása mellett.

Az itt beállított kezelések során azért választottuk az 50 W-os teljesítményt, mert ezen a kezelési szinten az élesztők pusztulási aránya és károsodása még nem olyan nagymértékű, hogy a továbbiakban azok szaporodását gátolja.

A mérésekhez felhasznált must kezdeti cukorfoka 179.2 g/l volt. A mustot (24 liter) 4 egyenlő részre osztottunk (6 liter) majd mikrohullámmal kezeltük őket a fent leírt eljárások szerint, ezután 10 literes üvegballonokba helyeztük el mintákat.

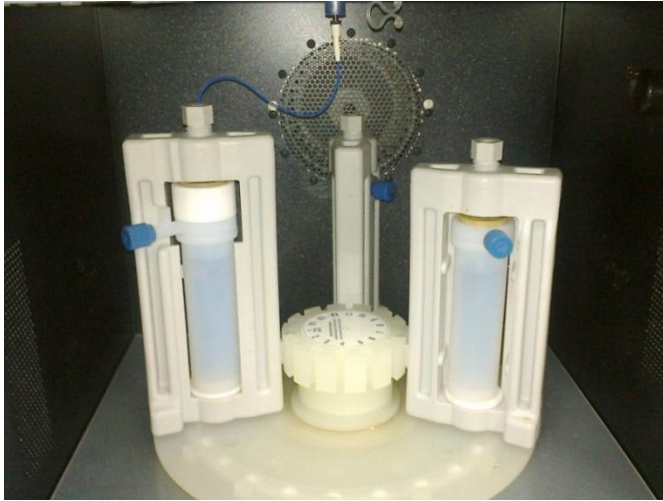
A kontroll mintánál, mivel semmilyen kezelést nem kapott, abban csak a természetes vadélesztők által előidézett erjedést követtük nyomon.

Az élesztős kiegészítést kapott mintához a fajélesztőt (IOC B 2000 aktív szárított élesztő, Eurotrade Kft.). adagoltunk. Az élesztőt a legjobb hatékonyság és élesztőminőség elérése érdekében körülbelül 15 percig rehidratáltuk, 10x-es mennyiségű 30-35 °C hőmérsékletű mustban.

A mikrohullámú kezelést kapott mintát MARS mikrohullámú berendezésben kezeltük (23. ábra). A minta hőmérsékletét folyamatosan mérte a referencia mintatartóba vezetett szenzor. A mustot 16 °C-ról 32 °C-ra melegítettük fel. A 7 db mintatartóba 75 ml/db mustot töltöttünk, így kezeltük meg az adott alapanyagot. A mintatartók anyaga teflon, amely nem nyeli el a sugárzást, így az bejut a kezelni kívánt anyagba. A berendezés programozhatósága lehetővé teszi hogy a kísérletek reprodukálhatóak legyenek.

Az élesztős beoltás mellett mikrohullámú kezelést kapott mintánál először a fejélesztős beoltást végeztük el, majd ezután a mikrohullámú besugárzás következett a fent beállított paraméterek alapján.

Az erjedés során az alkohol-, cukor- és savtartalom változását mértük.



23. ábra. A minták elhelyezése és kezelése a MARS mikrohullámú készülékben.

A **második méréssorozat**ot kiegészítettük hagyományos kezelésekkel. Így a beállított mintaszám az előzőhöz képest 6-ra növekedett. A mérésekhez felhasznált must kezdeti cukorfoka 169.2 g/l volt.

Ebben az esetben a következő kezeléseket állítottuk be:

- kontroll minta: semmilyen kezelésnek nem vetettünk alá.
- élesztővel beoltott minta: *Saccharomyces cerevisiae* fajélesztő adagolása (IOC B 2000 aktív szárított élesztő, Eurotrade Kft.).
- hagyományos (főzőlapos) kezelést kapott minta: mágneses keverővel ellátott főzőlapon (Yellow Line, MST basic C) kezeltük a mustot (32 °C)
- mikrohullámmal kezelt minta: MARS5 mikrohullámú roncsoló berendezés általi kezelés (alkalmazott teljesítmény 50 W, kezelési idő 45 perc, a must végső hőmérséklete 32 °C).

- élesztős kiegészítést és mikrohullámú kezelést is kapott minta: a fent leírt kezelési paraméterek alkalmazása mellett.
- élesztős kiegészítést és hagyományos (főzőlapos) kezelést is kapott minta: a fent leírt paraméterek mellett.

A hagyományos (főzőlapos) kezelés (24. ábra) bevezetésére azért volt szükség, mert a mikrohullámú besugárzás természetesen hőmérséklet növekedéssel is jár. Azért, hogy bebizonyítsuk a nem-termikus hatást, hagyományosan is kezeltük a mintákat, hogy az erjesztési paraméterek detektálása révén vizsgálhassuk a mikrohullám nem termikus hatását.



24. ábra. Yellow Line, MST basic C mágneses főzőlapos berendezés

A kezelési körülményeket ugyanúgy állítottuk be, mint az első mérések alkalmával. Ugyanaz a mennyiség került kezelésre a besugárzási teljesítmény és időtartam ugyanaz volt, és a kiindulási és végső hőmérséklet is ugyanúgy került beállításra mind a mikrohullám, mind pedig a hagyományos módszer esetén.

Az erjedés során az alkohol-, cukor- és savtartalom változását mértük.

A harmadik ismételés során az alapanyag ugyanaz volt mint az előzőekben (Olaszrizling must), azonban fagyasztott mintával dolgoztunk. Lefagyasztottuk a szükséges mennyiséget 30 litert, és 1 évig mélyhűtőben tároltuk (-18 °C-on). Ezután felolvasztottuk a mustot és az előzőekben beállított 6 kezelést végeztük el rajta. Ebben az esetben az alkoholtartalom változásának mérésére fektettük a hangsúlyt.

Az erjesztés mindhárom esetben 18 ± 1 °C-on történt.

3.3.1. Mérési módszerek az erjedés során

A must cukortartalmának meghatározása mustfokolóval (25. ábra) történt.

Mérés menete:

- Első lépésként a merülő mérőt, és a fokoló üveghengert megtisztítottuk, majd a mérendő musttal többször előblítettük őket, így megelőztük, hogy befolyásolják a valós eredményt.
- A mérés előtt a mustot ülepítettük, ugyanis csak tiszta musttal szabad végezni a mérést. Mivel a zavaros must is módosíthatja az eredményt.
- A henger töltésénél képződött habot a must túllöntésével szüntettük meg.
- A hengerbe lassan behelyeztük a fokolót és akkor olvastuk le az értéket a skáláról amikor a mérő süllyedése megállt és lebegett a mustban.

- Ezt követően a hőmérsékletet is leolvastuk, ha a hőmérséklet $17,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ -tól eltér, a leolvasott mustfokot helyesbítjük. Így kapjuk meg a valódi mustfokot, vagyis a must cukortartalmát tömegszázalékos - % (m/m) - értékben.



25. ábra. Mustfokoló

Sűrűségmérés kézi refraktométerrel

A refraktométereket $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletű anyagok mérésére kalibrálják. Ha a must $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -nál hidegebb, akkor $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ -onként, $0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ -t le kell vonni, ha pedig $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -nál melegebb, akkor ugyanennyit hozzá kell adni a leolvasott értékhez.

A mérés módja:

- A prizmafedőt felnyitottuk, a prizmát desztillált vízzel megtisztítottuk majd vizsgálandó mustból egy-két cseppet a prizmára cseppentettünk, majd a fedőlapot lezártuk.
- A refraktométert a fény felé fordítjuk, szemünk elé helyeztük, és leolvastuk a skálát. A must szárazanyag-tartalmát a skálának az a pontja mutatja, ahol a sötét és a világosabb látómező találkozik.

Alkoholtartalom mérése Malligand-féle készülékkel

A Malligand-féle készüléket (26. ábra) időnként hitelesíteni kell. A hitelesítést az Országos Borminősítő Intézet végzi. A készülék három részből áll: talpas forralótartály, skálás hőmérő, hűtő.



26. ábra. Malligand-féle ebullioszkóp

Vizsgálat menete:

Tiszta vízzel legalább háromszor kiöblített forralótartályt az alsó jelre feltöltöttük (a hőmérő ebben az esetben a telített vízgőz hőmérsékletét fogja mérni). A hőmérőt és az üres hűtőt a helyére csavartuk. A készüléket denaturált szeszess égővel melegítettük. Néhány perc múlva a víz forrásnak indult. Amikor hőmérő higanyszála legalább két percre megállt és a hűtőből vízgőz szállt fel a mozgatható skála 0 pontját a higanyszál végső kifutási

helyére állítottuk, majd a skálát a nem plombált csavarral rögzítettük. Ezzel a készülékkel az uralkodó légnyomást beállítottuk, ezt a beállítást kb. 2 órán keresztül használhattuk.

A láng eloltása után a készüléket szobahőmérsékletre hűtöttük, majd szétsavartuk, a vizet kiöntöttük, és a tartályt a vizsgálandó borral kétszer-háromszor átöblítettük. Ügyeltünk a forralógyűrű átöblítésére is. Ezután a tartályt a vizsgálandó borral felső jelre töltöttük, a hőmérőt felszereltük. A hűtőbe annyi vizet töltöttünk, hogy a víz színe a felső perem alatt 1 cm-el legyen, majd a hűtőt is rácsavartuk a tartályra. Ezután a vizsgálni kívánt anyagot melegítettük.

Az elegy forráspontja akkor állt be, amikor a hőmérő alsó harmada langyos volt. Az alkoholtartalmat ilyenkor a skáláról közvetlenül leolvashattuk. A tároló doboz tetejére ragasztott hitelesítési táblázat adatai szerint helyesbítettük az adatokat.

A Malligand készüléket alapvetően nem az erjedő cefre alkoholtartalmának mérésére szokták alkalmazni, de annak mérésére is alkalmas. Ebben az esetben a minták megfelelő előkészítése volt szükséges, amely szűréssel, és a keletkező CO_2 kikeverésével és melegítéssel megvalósítható volt.

Az alkoholtartalom mérését mintánként 3 ismétlésben végeztük.

Titrálnható savtartalom meghatározása:

A must és az erjedő minták savtartalmának változását titrálással határoztuk meg. Egyszerű titrálással a savak mennyiségét külön-külön nem ismerjük meg, ezért Magyarországon a titrálnható savtartalmat borkősav g/dm^3 -ben adják meg.

A vizsgálathoz felhasznált eszközök illetve anyagok:

- borminták
- 1 db 15 cm³-es pipetta
- villanyrezsó
- felszerelt büretta
- 0,1 n NaOH mérőoldat
- 2 db 250 cm³-es Erlenmeyer lombik

Vizsgálat menete:

- 250 cm³-es mérőlombikba pipetta segítségével kimértük a 15 cm³ vizsgálandó mintákat.
- Villanyrezsón a mintákat forralásig melegítettük, így az oldott szén-sav eltávozik
- A lombikokat lehűtöttük
- 5 csepp brómtimolkék indikátort adtunk a mintákhoz
- 0,1 mólos nátrium-hidroxid mérőoldattal kék szín megjelenéséig titráltuk.

A savtartalom kiszámítása (7, 8):

$$A_{g/1000cm^3} = \frac{v \cdot f \cdot T \cdot 1000}{b} \quad (7)$$

$$A_{g/1000cm^3} = \frac{0,1mól / dm^3 NaOHcm^3 \cdot f \cdot 0,0075 \cdot 1000}{15cm^3} \quad (8)$$

Ahol,

v : fogyott 0,1 n NaOH mérőoldat cm^3 -ben

f : 0,1 mól/dm^3 NaOH oldat faktora

T : az 1cm^3 0,1 mól/dm^3 NaOH által mért borkősav (gramm)

1000: 1 liter borra vonatkozó átszámítási tényező

b : a vizsgált bor térfogata cm^3 -ben

3.4. Szőlővenyige mikrohullámú előkezelése és enzimes bontása

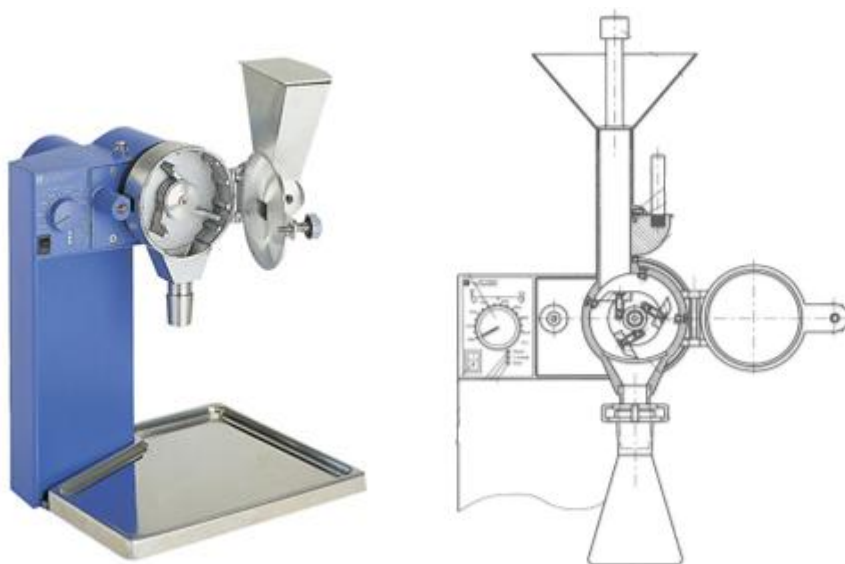
A szőlővenyige cellulózbontása során fizikai-kémiai kezeléseket alkalmaztunk úgymint gőzrobbantást, autoklávós kezelést, hagyományos (főzőlapos) kezelést, majd ezekhez a mintákhoz enzimet adagoltunk. A cellulóz bontás mértékét a cukortartalom növekedésének detektálásával követtük nyomon.

Alapanyagunk a Pannonhalmi borvidék egyik szőlőültetvényéről származó metszés után marad venyige volt. A venyigét először kézi erővel, metszőollóval 1-2 cm-es darabokra aprítottuk, majd Grinder Drive IKA MF10 Basic Microfine EU/AU-típusú (27. *ábra*) daráló berendezéssel még kisebb darabokra aprítottuk. Mivel a későbbiekben használt enzim (*Trichoderma reesei*) puffert igényel, ezért a felaprított venyigét már ebbe a Na-acetát- ecetsav pufferben kezeltük.

A mikrohullámú gőzrobbantásos kísérletek során előméréseket végeztünk, ahol különböző nyomásértékek alkalmazása mellett határoztuk meg a cellulózbontás mértékét (glükóz kihozatal). A kezelések mellett kontrollként kezeletlen mintához adagoltunk cellulózbontó enzimet (*Trichoderma reesei*).

A szőlővenyige mikrohullámú gőzrobbantása, majd enzimes kezelésénél ugyanazt a MARS mikrohullámú roncsoló készüléket használtuk, mint az előző kísérleteink során. A venyige kezelése során a mikrohullámú teljesítményt 1600 W-ra, a kezelési időt 5 percre a maximális hőmérsékletet pedig 150 °C-ra állítottuk be. Ezen kezelési paraméterek állandósága mellett változtattuk a nyomásértéket, amelyet a szőlővenyige gőzrobbantására

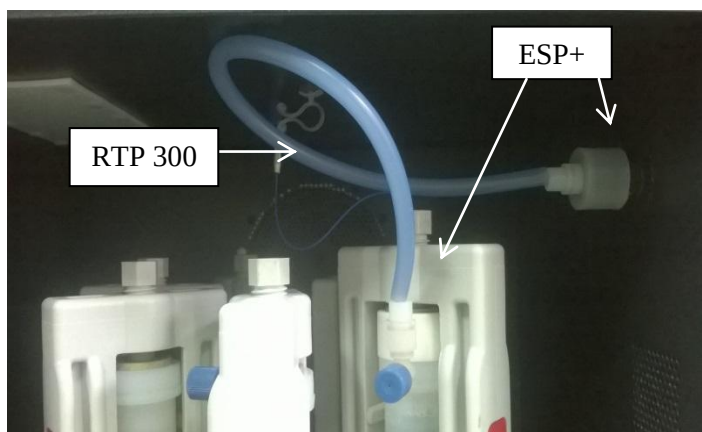
alkalmaztunk. Az előkísérletek során 1-25 bar közötti nyomásértékeken végeztük el méréseinket 3 ismétlésben.



27. ábra. A Grinder Drive IKA MF10-es daráló

A gőzrobbantás során az aprított (1-2 mm) venyigéből 20 g-ot (edényenként 10 g) a MARS mikrohullámban alkalmazott teflon edényzetébe helyeztük és hozzáadtunk 70 ml Na-acetát-ecetsav pufferoldatot. A nagy nyomás alkalmazása miatt a teflonedényekre a gyártó által biztosított kevlár köpenyt húztunk.

A mintatartókat behelyeztük a mikrohullámú készülékbe és bevezettük a hőmérséklet-mérő (RTP 300) és a nyomáskontroll (ESP+) szenzorokat (28. ábra). A beépített ESP+ nyomáskontroll a kontrol edényben figyeli és ellenőrzi a reakció során keletkező nyomást. Másodpercenként 200-szor történik nyomásmérés.



28. ábra. A hőmérséklet-mérő (RTP 300) és a nyomáskontroll (ESP+) szenzor bevezetése a MARS mikrohullámú készülékbe

A venyige 5 perces kezelése után megvártuk, hogy a minták 80 °C-ra hűljenek, hogy biztonságosan nyithatóak legyenek a mintatartó edények. Ezután megvártuk, míg a minták tovább hűljenek (kb. 40 °C-ra), amely után következett az enzim adagolása. Azért fontos, hogy megfelelő hőmérsékleten adagoljuk az enzimet, mert azok 45 °C felett károsodhatnak.

A mintákhoz adagoltunk 1,4-(1,3:1,4)-B-D-Glucan-4glucano-hydrolase (Sigma-Aldrich, ATCC 26921) enzimet (20 g minta, 150 ml puffer, 2 ml enzim). Ezután a mintákat rázatás mellett inkubáltuk 37 °C-on, majd 5 órán keresztül óránként spektrofotométerrel (HITACHI U-2910, Double beam UV/VIS) mértük a glükóz tartalom növekedését.

Az előkísérletek után különböző kombinációjú kezeléseket állítottunk be. Változtattuk a kezelési időt, hőmérsékletet, nyomásértékeket.

A kezelési paraméterek változtatása mellett többféle kísérleti mintát alakítottunk be:

- mikrohullámmal gőzrobbantott venyige és hozzá kezeletlen enzim adagolása,
- mikrohullámmal gőzrobbantott venyige és hozzá mikrohullámmal kezelt enzim adagolása,
- autoklávban kezelt venyige és hozzá kezeletlen enzim adagolása ,
- hagyományosan kezelt venyige és hozzá kezeletlen enzim adagolása,

Az autoklávos kísérletek során VAPOSTERI/P-típusú (29. ábra) autoklávban, nyomás alatt is kezeltük a mintákat. Mivel ebben a berendezésben nincs lehetőség a nyomásértékek és hőmérsékletek olyan precíz mértékű szabályozására és nyomon követésére, mint a mikrohullámú készülékben, ezért itt 120-135 °C-os hőmérsékletet és 1 bar nyomást alkalmaztunk a kezelési idők változtatása mellett. Az edényekbe ebben az esetben is 10 g mintát és 70 ml pufferoldatot adagoltunk. A kezelési idő lejára után megvártuk, míg az autoklávban a hőmérséklet 80 °C alá csökken, majd kivettük a mintákat. A minták lehűlése után azokhoz 1,4-(1,3:1,4)-B-D-Glucan-4glucano-hydrolase (Sigma-Aldrich, ATCC 26921) enzimet (2ml-t) adagoltunk. Ezután a mintákat rázatás mellett inkubáltuk 37 °C-on, majd 5 órán keresztül óránként spektrofotométerrel (HITACHI U-2910, Double beam UV/VIS) mértük a glükóz tartalom növekedését.



29. ábra. A VAPOSTERI/P-típusú autokláv

A hagyományos kezelés során az aprított venyigét (20 g) a Na-acetátos pufferban helyeztük fel a főzőlapra (Yellow Line, MST basic C) és 100 °C-on kezeltük különböző időtartamokig. A kezelés után a mintát lehűtöttük, és utána adagoltuk hozzá az enzimet. Ezután a mintákat rázatás mellett inkubáltuk, az előzőekhez hasonlóan 37 °C-on, majd 5 órán keresztül óránként spektrofotométerrel mértük a glükóz tartalom növekedését.

A kísérletek során olyan mintákat is kialakítottunk, ahol a különböző módon kezelt venyigéhez mikrohullámú kezelést kapott enzimet adagoltunk. Az enzim kezelése MARS mikrohullámú berendezéssel történt. 1 mintatartóba 75 ml Na-acetát puffert és 1 ml enzimet adagoltuk. Az enzim kezelésénél figyelni kellett arra, hogy ne alkalmazzunk túl magas teljesítményt és hőmérsékletet, nehogy az enzim roncsolódjon. Ezek alapján a mikrohullámú teljesítményt 50 W-ra, a maximális hőmérsékletet 40 °C-ra állítottuk be a kezelési idők változtatásával, ugyanis 45 °C felett már károsodhat az enzimek szerkezete (LAKATOS, 2009).

3.5. Matematikai-statisztikai módszerek a mérések során

A kísérletek kiértékelése során minden esetben Microsoft Office Excel programot használtunk.

Az eredményeket mindig az adott ismétlések átlagai alapján ábráztuk. Az átlag egy adatsokaságra jellemző szám. Úgy számíthatjuk ki, hogy az adatok összegét elosztjuk a darabszámukkal. Az átlag nagyobb a számsokaság legkisebb értékénél, és kisebb a legnagyobbánál.

Az eredményeknél feltüntettük a mérések szórását, amely megmutatja egyes értékek számtani átlagtól vett eltéréseinek négyzetes átlagát, vagyis azt, hogy az ismértértékek mennyivel térnek el átlagosan az átlagtól.

Az kezelések közötti különbségek meghatározásához először egytényezős variancia analízist alkalmaztunk, amely több minta szórásnégyzetének (varianciájának) összehasonlításán alapul. A vizsgálatok célja ennek alkalmazásakor a sokaságok egyezésének vagy eltérésének valószínűsítése.

A kétmintás T-próbát akkor alkalmaztuk, amikor a varianciaanalízis alapján szignifikáns különbség mutatkozott a minták között. A kétmintás T-próbával két különbözően kezelt minta közötti eltéréseket vizsgáltuk.

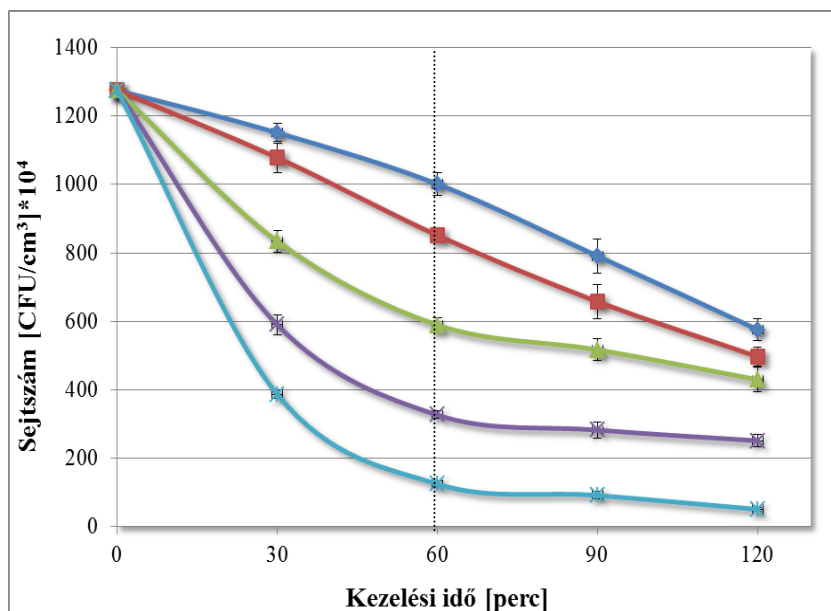
4. EREDMÉNYEK

4.1. A *Saccharomyces cerevisiae* besugárzási vizsgálatainak eredményei

4.1.1. Sejtpusztulási vizsgálat

A kísérletek során méréseket végeztünk a *Saccharomyces cerevisiae* élesztő pusztulási tulajdonságai tekintetében (30. ábra) mikrohullámú besugárzás hatására. A pusztulási görbe meghatározása során, 5 teljesítményszinten vizsgáltuk az élesztő pusztulási tulajdonságait. A mikrohullámú besugárzás során 50-, 100-, 400-, 600- és 900 W-os teljesítményt alkalmaztunk, 37 °C-os hőmérséklet mellett. A kísérletet úgy állítottuk be, hogy a kiindulási sejtszám azonos legyen az adatok összehasonlíthatósága érdekében.

Az 50 W-os teljesítményen kezelt élesztő pusztulási intenzitásából látszik, hogy a különböző kezelési idők függvényében arányosan növekszik a pusztulás intenzitása. Ezen a teljesítményszinten az élesztők még a 120 perces besugárzás hatására sem pusztultak el teljes mértékben. A kezdeti sejtszámhoz képest 45,1 %-os túlélési arány volt megfigyelhető. Ez hasonlónak mondható MILLIGAN és BRIGID (2000) eredményeihez viszonyítva, akik leírták, hogy konstans (35 °C) hőmérséklet és maximum 3-8 perces kezelés mellett az élesztők pusztulási aránya alacsonyabb.



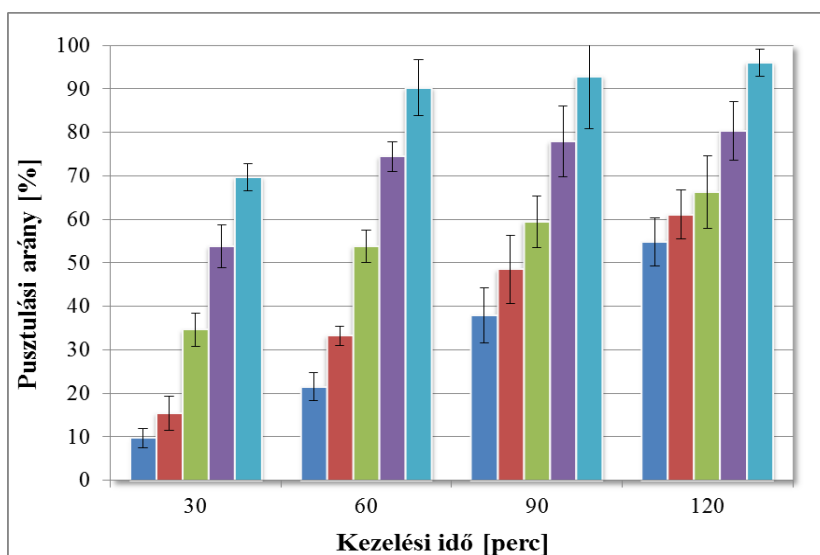
30. ábra. A *Saccharomyces cerevisiae* pusztulási görbéje 50-(◆), 100-(■), 400-(▲), 600-(✕) és 900 W-os(*) mikrohullámú sugárzás hatására.

A 100 W-os kezelés esetén látszik, hogy a pusztulás intenzitása már nagyobbak mondható az 50 W-os kezeléshez képest. Ennél a teljesítményszintnél kijelenthető, hogy az élesztők pusztulása még nem mutat radikális változást az előző teljesítményhez képest. Míg az 50 W-os kezelésnél 120 perc után 45,1 %-os túlélési arány mutatkozott, addig 100W-os teljesítménynél ez az érték a 90 perces kezelés után is még csak 51,5 %-os volt. A kezdeti sejtszámhoz képest 120 perces kezelés után ebben az esetben az élesztők 38,9 %-a élte túl a kezelést.

A 400 W-os kezelés során a pusztulási intenzitás nagy mértékben növekedett az 50-, és 100 W-os kezelésekhöz képest. Itt már 60 perces besugárzás hatására csak 46,2 %-os túlélési arányt mértünk. A végső túlélési arány a 120 perces kezelés után 33,6 %-os volt. Tehát 400 W-os kezelés már nem érdemes alkalmazni a magas pusztulási arány miatt.

600 W-os teljesítmény alkalmazásakor a pusztulás intenzitása tovább növekedett, már 30 perces kezelés után az élesztők 74,6 %-a elpusztult. A 600 W-os kezelés során a sejtek túlélése már a 90 perces kezelés után is csak 22,1 %-os, míg 120 perc után már a sejtek 80,3 %-a elpusztult. 600 W-os teljesítményszinten rövid idejű kezelések alkalmazása lehet csak célravezető a magas pusztulási százalék miatt, hacsak nem a sejtek károsítása, pusztítása a célunk.

A 900 W-os kezelés alkalmazása esetén 30 és 60 perces besugárzási idő alkalmazása mellett a pusztulás a legintenzívebb, majd lassuló tendenciát mutat. Ez a jelenség a 400-, és 600 W-os besugárzás esetén is észrevehető. Végeredményben azonban elmondható, hogy már a 90 perces kezelés után is csak a sejtek 7,2 %-a élte túl a besugárzást, míg 120 perces kezelés után 3,9 %-os túlélésről beszélhetünk.



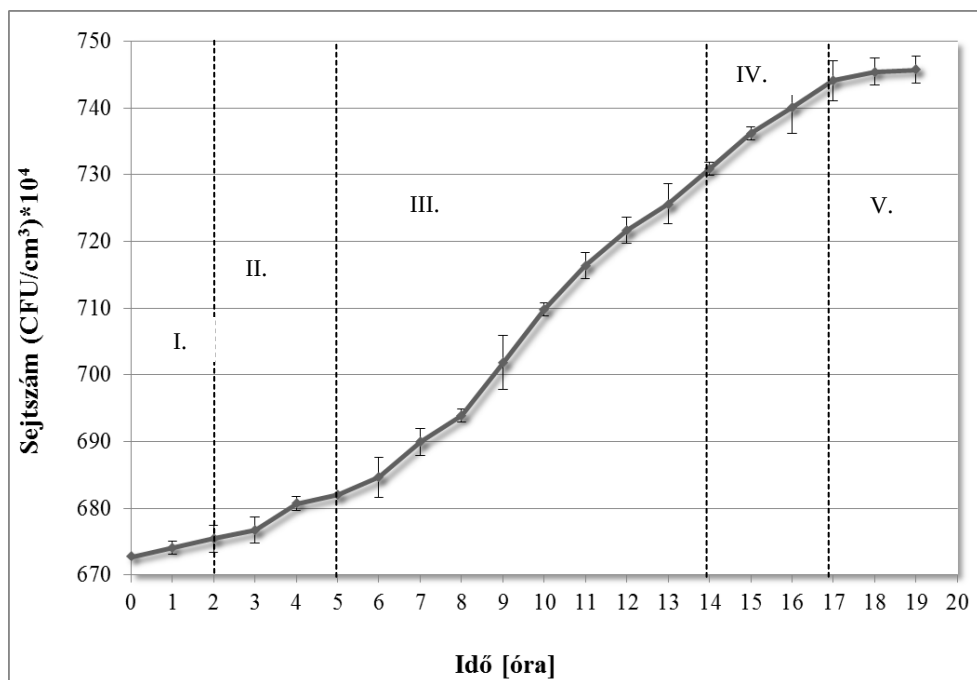
31. ábra. A sejtszámok csökkenésének %-os aránya a kiindulási sejtszámhoz viszonyítva 50-(■), 100-(■), 400-(■), 600-(■) és 900 W-os (■) mikrohullámú sugárzás hatására.

Az eredményekből látszik (31. ábra), hogy az élesztők pusztulási aránya is növekszik a mikrohullámú kezelésnél alkalmazott teljesítmény emelésével együtt. Az 50 W-os és 100 W-os kezelések esetén a pusztulás intenzitása egyenletes, lineáris összefüggés figyelhető meg ($R^2=0,9936$; $R^2=0,9941$). A pusztulási arányok a 400-, 600-, és 900 W-os eredmények esetén térnek el jelentősebben, ahol hatványos összefüggés alakult ki ($R^2=0,9953$, $R^2=0,9772$; $R^2=0,9901$). A 30 perces besugárzás esetén már jól látható, hogy a pusztulási arány a 600-, és 900 W-os kezelés esetén 50 % felett van. Ezt az arányt a 400 W-os kezeléssel 60 perc után, míg 50- és 100 W-os kezeléssel 120 perc után tudtuk elérni.

Az eredményekből látszik, hogy minél rövidebb ideig kezeltük a mintákat, annál nagyobb a különbség a pusztulási arányok között. Minél hosszabb ideig alkalmazzuk a mikrohullámú sugárzást, annál jobban csökkennek ezek a különbségek. Ebből arra következtethetünk, hogy annak ellenére, hogy bár az alacsonyabb hőmérsékletű és teljesítményű mikrohullámú kezelés az élesztők szempontjából előnyösebb, magasabb teljesítményen már nem érdemes kezelni őket, a magas pusztulási és roncsolódási arány miatt. Az alacsony teljesítmény alkalmazása valószínűsíthetően kedvezőbb hatással van az élesztők enzimatikus működésére, membrán, ill. sejtfalstruktúrájára a magasabb teljesítményű kezelésekhez képest.

4.1.2. Szaporodási vizsgálatok eredményei

A pusztulási vizsgálatok mellett, méréseket végeztünk a *Saccharomyces cerevisiae* szaporodási tulajdonságaira vonatkozóan is. A szaporodási vizsgálatok során először meghatároztuk az élesztő szaporodási görbéjét (32. ábra). A görbe meghatározása után különböző mikrohullámú kezeléseket alkalmaztunk, majd ezután vizsgáltuk a szaporodási tulajdonságokat. A méréseket minden esetben 3 ismételtsben végeztük.

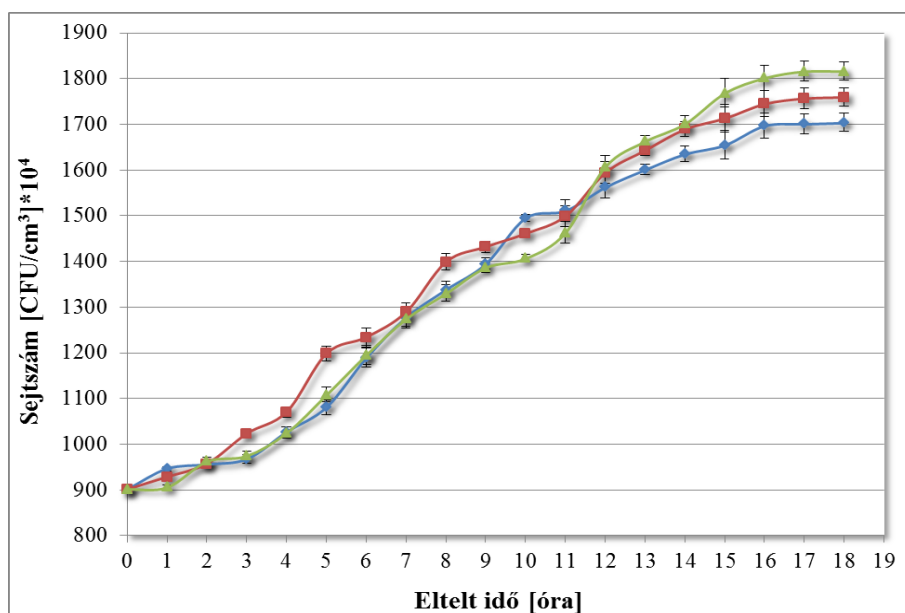


32. ábra. A *Saccharomyces cerevisiae* szaporodási görbéje (saját vizsgálat)

Ahogy azt az irodalmi áttekintés részben ismertettük (2.2.1.), a mikroorganizmusok szakaszos szaporodási görbét mutatnak. A 32. ábrán látszik, hogy a *Saccharomyces cerevisiae* is követi ezt a mintát. A szaporodás első 2 órájában a lappangási szakasz látható (I.), amely után a 2-5. órában egy

gyorsulási szakasz (II.) következik. A gyorsulási szakasz után a logaritmusos szakasz a 5-14. órában látható (III.), ezután a lassuló szakasz (14-17. óra, IV.) és végül az állandósult szakasz (17-19. óra) látható (V.). A részletes eredményeket az I. számú melléklet tartalmazza.

A szaporodási görbe meghatározása után különböző minták szaporodását hasonlítottuk össze (33. ábra). A kontroll (kezeletlen élesztő szuszpenzió) minta volt az, amelyhez viszonyítottuk méréseinket, emellett az élesztő tápoldatot, és a tápoldatot az élesztővel egyben kezelve mértük ki a szaporodási görbéket. A mikrohullámú teljesítmény 400 W volt, a kezelési idő 60 perc, míg a mikrohullámú készülékben beállított végső hőmérséklet 37 °C. Az eredmények azért indulnak ugyanarról a sejtszámról, hogy a szaporodási eredmények jobban összehasonlíthatók legyenek.



33. ábra. A *Saccharomyces cerevisiae* szaporodási görbéje különböző kezelések hatására a kontroll (♦), a kezelt víz (■) és az együtt kezelt (▲) minták esetén.

Az eredményekből látszik, hogy a lappangási-, gyorsuló- és exponenciális szakaszok között nincs szignifikáns különbség.

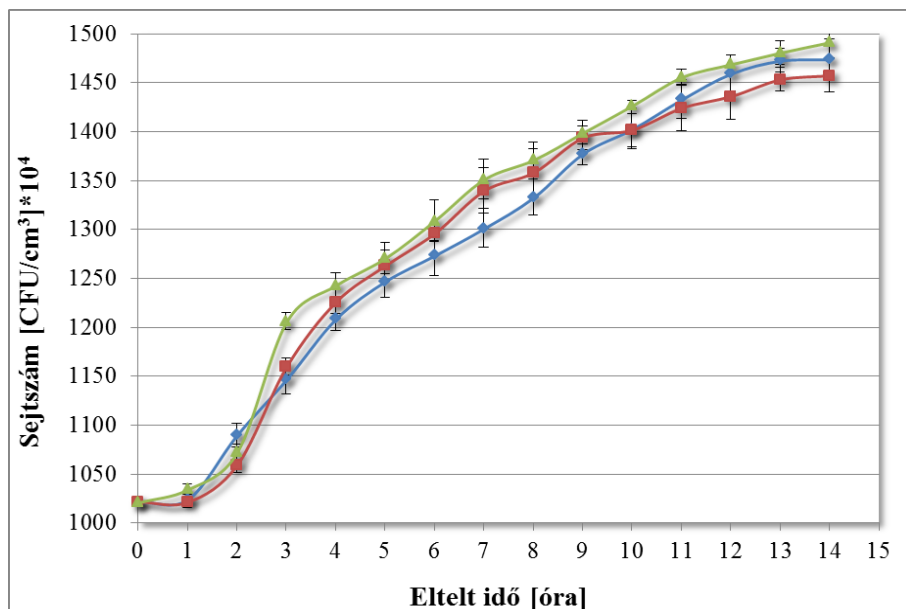
A mérés 14. órájától látható különbség a minták között. Ugyan a görbék lefutása hozzávetőlegesen azonos, azonban megállapítható, hogy a végső sejtszámok tekintetében különbségek mutatkoztak a kezelések között. A legnagyobb különbség annál a mintánál mutatkozik, ahol a vizet együtt kezeltük az élesztővel. Ebből arra következtethetünk, hogy a mikrohullám hatással van az élesztők szaporodására, oly módon, hogy nagyobb végső sejtszámot tudunk elérni egy adott mikrohullámú kezelés elvégzésével. Ezt igazolják ZENG (2014) eredményei is, aki szintén mikrohullámú besugárzás hatására vizsgált az élesztők szaporodását. Leírja, hogy mikrohullámú (1-1,6 W/g) kezelés hatására sokkal intenzívebb élesztő szaporodást tudott elérni a kontroll mintához képest, a különbség Zeng esetében is a végső sejtszámok közti különbségben mutatkozott meg. Ezen kívül nagyobb teljesítményen (1-8-2,2 W/g) a szaporodás gátlódását detektálta. A részletes eredményeket a II. számú melléklet tartalmazza.

Az alábbi mérések során kontroll, hagyományosan kezelt és mikrohullámmal kezelt minták szaporodási görbéjét mértük ki.

A 34. ábrán látszik, hogy 50 W-os teljesítmény alkalmazása mellett a mikrohullámmal kezelt minta nem mutat szignifikáns különbséget a másik két mintához képest. A végső sejtszám tekintetében ebben az esetben is a mikrohullámmal kezelt minta hozta a legjobb eredményeket, azonban nem annyira szembetűnően, mint a 400 W-os kezelés esetében.

Ezek az eredmények ellentmondásban állnak ZENG et al. (2014) által publikált cikkel, amely szerint az alacsony teljesítményű (1-1,6 Wcm⁻³) sugárzás kedvező hatással van az élesztők szaporodására, valamint károsodás

nélkül serkenti és javítja a sejtmembrán áteresztőképességét. A részletes eredményeket a III. számú melléklet tartalmazza.

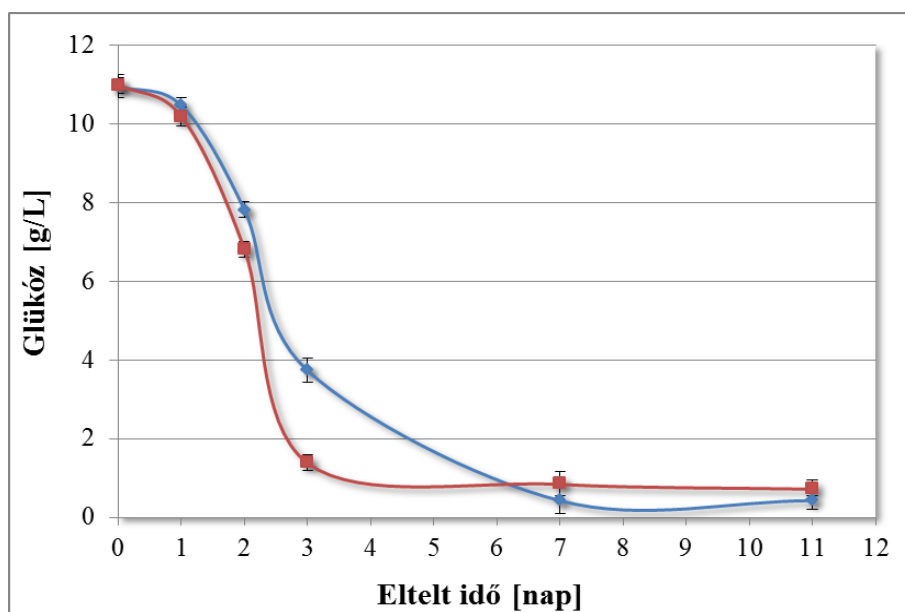


34. ábra. A *Saccharomyces cerevisiae* szaporodási görbéje különböző kezelések hatására a kontroll (—◆—), a hagyományos (—■—) és az 50 W-on mikrohullámmal kezelt (—▲—) minták esetén.

A szaporodási kísérletek eredményei alapján elmondható, hogy a mikrohullámú kezelés oly módon van hatással az élesztők szaporodására, hogy a magasabb végső sejtkoncentráció érhető el az állandósulut szakasz végére. A kezelések során 37 °C-os hőmérsékletet alkalmaztunk, így feltételezhető, hogy a mikrohullám non-termális hatása érvényesül jelentősebben ezen tulajdonságok megváltozása során.

4.1.3. A *Saccharomyces cerevisiae* erjesztési aktivitásának mérése

A szaporodási görbék meghatározása után olyan kísérleteket állítottunk be, ahol az élesztő glikózbontási aktivitását mértük. A mérések során élesztőszuszpenziót készítettünk, ahol az élesztő számára optimális életfeltételeket biztosítva különböző kezelések elvégzése után mértük a glükóz fogyását. A 36. ábrán a kontroll és a mikrohullámú sugárzást kapott minta erjesztési aktivitását hasonlítottuk össze MINIFORS fermentorban.



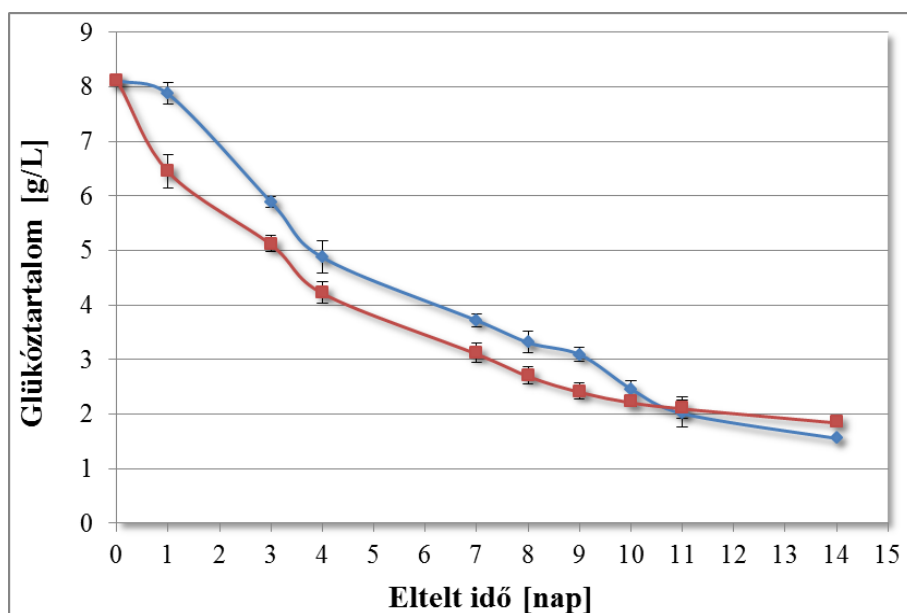
36. ábra. A kontroll (—◆—) és a mikrohullámmal (—■—) kezelt élesztő erjesztési aktivitásának változása.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a mikrohullámmal kezelt minta cukortartalma gyorsabban csökken, tehát az élesztők aktivitása nagyobb volt. Már az erjesztés 4. napján feldolgozta a cukor nagyrésztét, míg

a kontroll minta esetén ehhez kétszer annyi idő kellett, azonban a maradék cukor minimálisan magasabb volt (nem szignifikánsan) az erjesztés végén.

Ezekből az eredményekből arra következtethetünk, hogy az 50 W-os teljesítményű mikrohullámú sugárzás hatással van az élesztők erjesztési aktivitására. Az erjedés első szakaszában a legintenzívebb az erjedési folyamat, ami a kontroll mintáról is elmondható ugyan, de a kezelt mintánál hosszabb ideig tart. A részletes eredményeket a IV. számú melléklet tartalmazza.

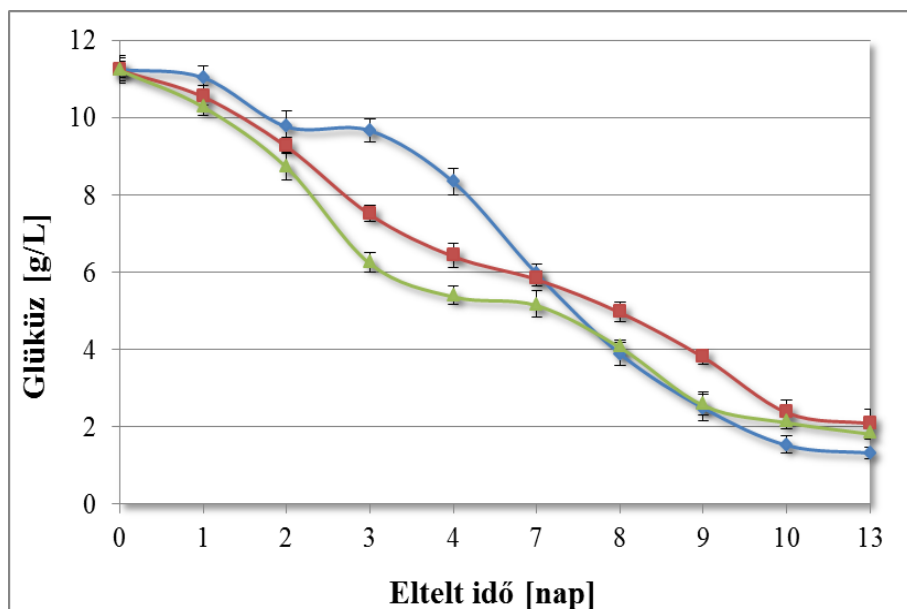
A Minifors fermentorban elvégzett kísérletek után, nagy fermentorban (3.2.3. fejezet) is elvégeztük a mérést (37. ábra), azzal a különbséggel, hogy itt a mikrohullámú kezelési idő 7 óra volt, és a kezelt- és a kontroll minta mennyisége 70 liter volt.



37. ábra. A kontroll (—◆—) és a mikrohullámmal (—■—) kezelt élesztő erjesztési aktivitásának változása.

A nagy fermentoros kísérlet eredményeiből látszik, hogy tendenciájában hasonlóságokat mutat a kis fermentoros kísérlettel összehasonlítva. Az erjedés első szakaszában a mikrohullámmal kezelt minta cukortartalma nagyobb intenzitással változik a kontroll mintához képest. A végleges cukortartalom azonban a kontroll mintánál lett alacsonyabb. A görbék lefutásának eltérése abból adódhat, hogy amíg a kis fermentoros kísérletek során a mikrohullámú kezelés úgy mond „szakaszos” volt, addig ennél a mérésnél a minta „folyamatos” kezelést kapott. A folyamatos kezelés során nem az egész minta lett kezelve egyszerre, hanem annak egyszerre csak 0,09 %-a volt mikrohullámú sugárzásnak kitéve. A részletes eredményeket az V. számú melléklet tartalmazza.

Az előzőekben leírt két módszert (erjesztés előtt kezelt, folyamatosan kezelt) összevetve is méréseket alakítottunk ki. A kontroll mellett egymással párhuzamosan mértük a kis és nagy fermentorban az erjesztési paramétereket (38. ábra). A részletes eredményeket a VI. számú melléklet tartalmazza.



38. ábra. Az élesztő erjesztési aktivitásának változása a kontroll (—◆—), az erjesztés előtt kezelt (—▲—), és a folyamatosan kezelt (—■—) minták esetén.

A két mérést összehasonlítva a görbék lefutása összhangban van az előző két kísérlet eredményeivel. A kontroll minta cukorfogyása lassabban indul el a két kezelt minta eredményeihez viszonyítva. Az erjesztés előtt 60 percet kezelt minta eredményei a legjobbak, ami szintén azt bizonyítja, hogy az erjesztési aktivitás tekintetében, egy szakaszos, egész mintát átfogó kezelés hatékonyabbnak bizonyul, a folyamatosan áramoltatott, egyszerre csak kis mennyiséget átfogó kezeléssel szemben.

A mérések mindhárom beállított kísérlet során hasonló eredményeket hoztak. Az erjedés első szakaszában a kontroll minta cukorfogyása kevésbé volt intenzív a mikrohullámmal kezelt mintákhoz képest. Az erjedés utolsó harmadában a minták cukortartalma kiegyenlítődött azonban a kontroll minta végső eredményei lettek alacsonyabbak. .

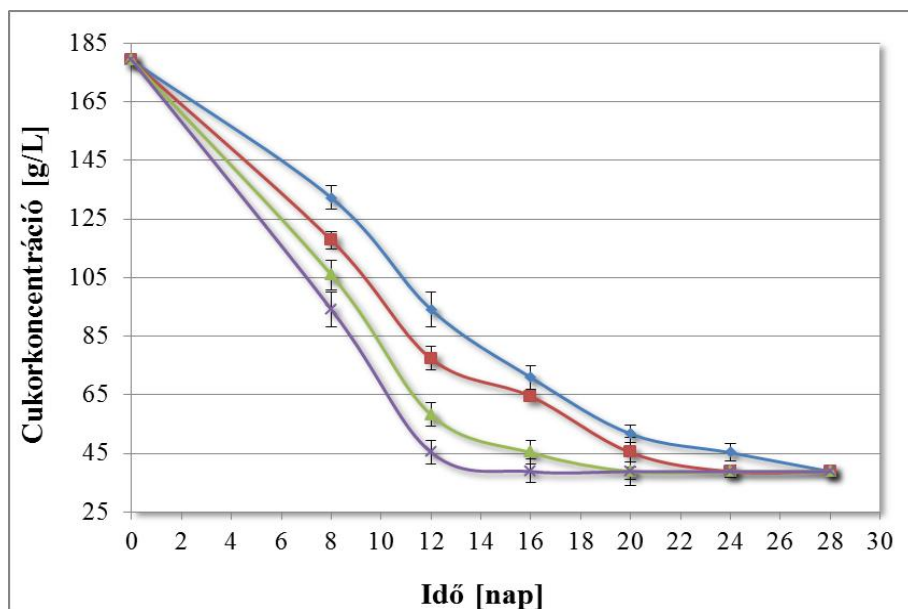
Eredményként elmondható, hogy a mikrohullámú sugárzás egyértelműen befolyásolja az élesztő erjesztési aktivitását oly módon, hogy az erjedés a mérés elején intenzívebb lefolyású, amely a fermentáció végére kiegyenlítődik.

Az erjedési idő csökkentése azoknál az élelmiszeripari technológiáknál lehet fontos, ahol nem kifejezetten a végtermék minősége, hanem a minél gyorsabb erjedés a cél. Ebből kifolyólag elsősorban a szeszgyártás és pálinkagyártás szempontjából lehet nagyobb jelentősége, itt ugyanis ugyanolyan alkohol kihozatal mellett az erjedési idő leredukálása nagy jelentőséggel bírhat. Igaz, hogy a cukorbontás is még csak megközelítőleg 50%-os, azonban a kezelési paraméterek további pontosításával ez az arány valószínűleg tovább javítható. A borászati technológia során ennek fontossága nem mérvadó, ugyanis ennél a technológiánál napjainkban az erjedési idő elnyújtása a cél az aroma- és egyéb anyagok minél kedvezőbb kialakulása miatt.

4.2. Mikrohullámú kezelés hatása a szőlőmust erjedésére

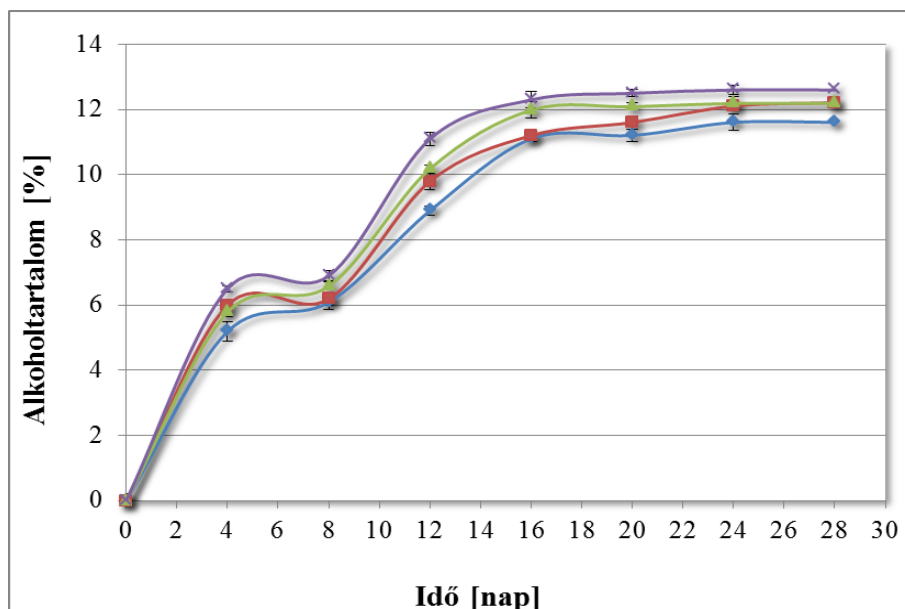
Az előző eredmények alapján (4.1.1.; 4.1.2.; 4.1.3.) az élesztő szaporodási, pusztulási és erjesztési tulajdonságainak vizsgálatát olyan körülmények között is elvégeztük, amely az optimális körülményeket biztosítja számára. A must mikrohullámú kezelése során 50 W-os teljesítménnyel, 45 perces kezelési idővel és 37 °C-os hőmérséklettel dolgoztunk. Azért választottuk ezeket a kezelési paramétereket, hogy a pusztulási- és szaporodási vizsgálatok eredményeit valós közegben is vizsgálhassuk és igazolhassuk az alacsony teljesítményű mikrohullám non-termális hatását. Ezért ezeket a méréseket szőlőmust erjesztési kísérleteivel valósítottuk meg. A méréseket 3 ismételtsben végeztük el, ennek alapján eredményeinket ezek átlaga alapján ábrázoltuk.

Az első kísérletek értékelése során már az erjesztés elején (2. nap) a minták közötti különbség szembetűnő. A kontroll minta cukorfoka sokkal lassabban csökken, mint a kezelést kapott mintáké, ami azt bizonyítja, hogy a kezelések egyértelműen befolyásolják a must erjedését. A legnagyobb hatást a kombinált kezelésnél (mikrohullám + élesztő) figyelhetünk meg, ahol a minta a végleges cukortartalma már az erjesztési idő felénél (14. nap) elérte, szemben a többi mintával. A mikrohullámmal kezelt és a kombinált kezelést kapott minta esetén ugyan hőmérséklet emelkedés történt (37 °C-ra), azonban az eredmények alapján elmondható, hogy a mikrohullámú hőkezelés hatással volt végső eredményeinkre a kontrollhoz és az élesztővel kezelt mintához képest.



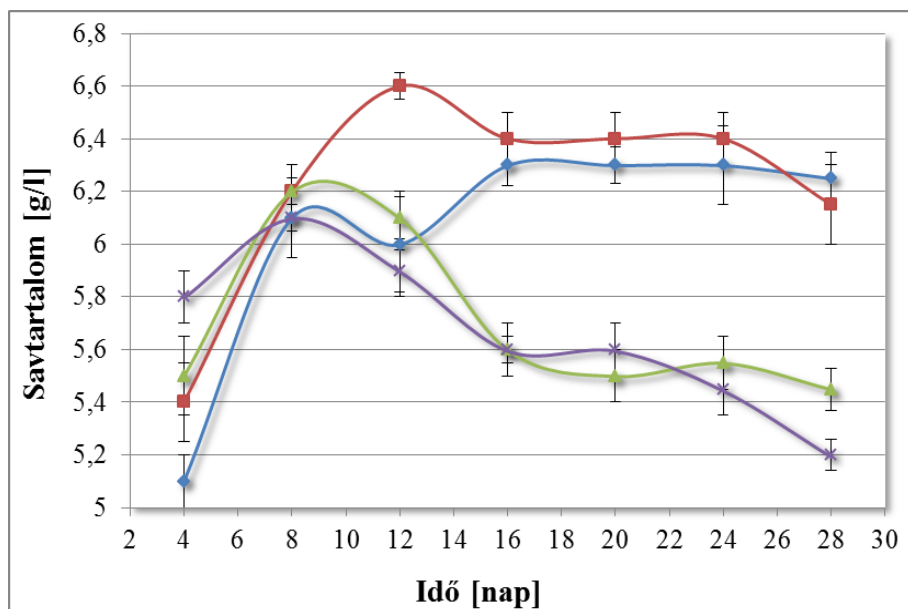
39. ábra. A must cukortartalmának változása az erjedés során a kontroll (—◆—), a mikrohullámmal kezelt (—■—) az élesztővel beoltott (—▲—) és a mikrohullámmal és élesztővel kezelt (—×—) minta esetén.

A 39. ábrán látszik, hogy a mikrohullámú kezelést és élesztős kiegészítést is kapott minta cukortartalma már az erjesztés 14. napján elérte a legkisebb értéket. A csak élesztős kiegészítést kapott minta (18. nap), illetve a csak mikrohullámú kezelést kapott minták (24. nap) esetében a must cukortartalma lassabban csökken. Ezek a minták az erjedés 20. napján elérik a minimum értéket, míg a mikrohullámmal kezelt mintáknál ez a jelenség a 24. napon következik be. Az eredmények azt mutatják, hogy a mikrohullám és a fajélesztős beoltás együttes alkalmazása a legeredményesebb a 4 kezelés közül, ezek az eredmények az irodalmi hivatkozások szerint alakultak.



40. ábra. A must alkoholtartalmának változása az erjedés során a kontroll (♦), a mikrohullámmal kezelt (■) az élesztővel beoltott (▲) és a mikrohullámmal és élesztővel kezelt (×) minta esetén.

Az alkoholtartalom (40. ábra) tekintetében elmondható, hogy a kontroll minta alkoholtartalma a kezelt mintákhoz képest kisebb mértékben növekedett, valamint a fermentáció végén ennek a mintának az alkoholtartalma lett a legkisebb (11,6 %). A mikrohullámmal és élesztővel, valamint a csak élesztővel kezelt minták alkoholtartalma már az erjesztés 20. napján elérte a legmagasabb szintet (12,6 %, 12,2 %), amiből arra következtethetünk, hogy a kezelés jelentősen befolyásolja az erjedés sebességét. A csak mikrohullámmal kezelt minta a maximális alkoholkoncentrációt a 24. napon (12,1 %), a kontroll minta pedig a 28. napon (12,2 %) érte el.



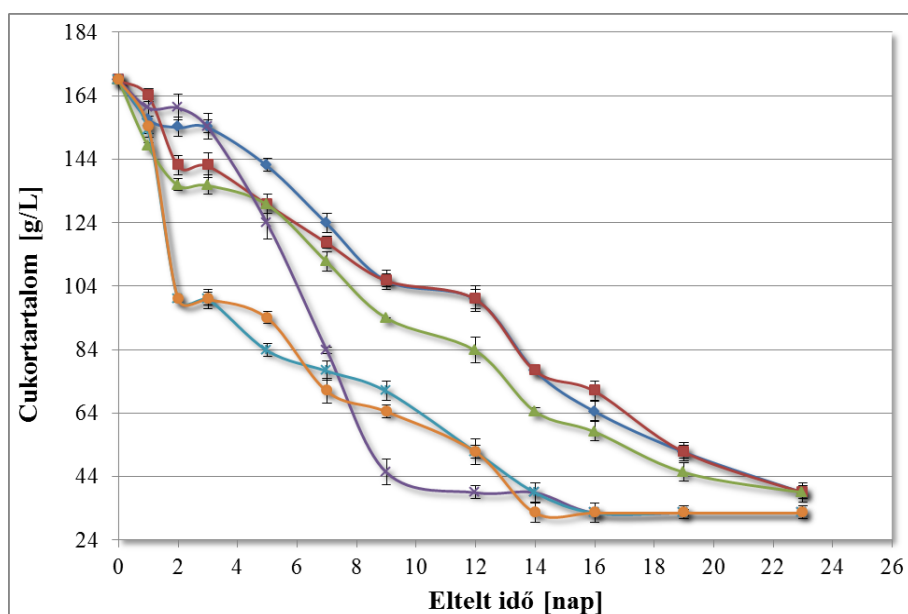
41. ábra. A must savtartalmának változása az erjedés során a kontroll (◆), a mikrohullámmal kezelt (■) az élesztővel beoltott (▲) és a mikrohullámmal és élesztővel kezelt (✕) minta esetén.

Irodalmi hivatkozás szerint, ha az erjesztést az erjesztett cukormennyiség függvényében vizsgáljuk, az erjedés kezdetén az ecetsav növekedését, majd ecetsavcsökkenést figyelhetünk meg (KÁLLAY, 2010). Ez méréseink során is egyértelműen látszik (41. ábra). Az ábrán azonban megfigyelhető, hogy azok a minták, amelyek élesztős kiegészítést kaptak, alacsonyabb savtartalommal rendelkeztek az erjedés végére. Az az élesztős beoltásnak köszönhető.

Az első mérésorozat eredményeit a VII. számú melléklet tartalmazza.

A második mérésorozat alkalmával mintáinkat kiegészítettük hagyományos hőkezelési (főzőlap) mérésekkel, annak érdekében, hogy kizárhassuk a mikrohullámú sugárzás által kiváltott termális hatást.

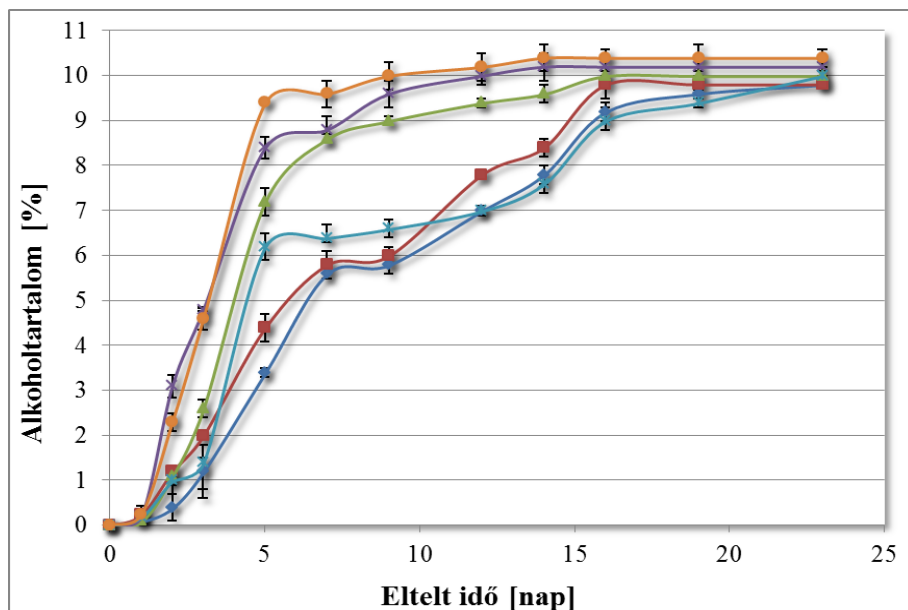
A második mérésorozat során a cukortartalom (42. ábra) tekintetében hasonló eredmények születtek, mint az első mérés alkalmával. Szembetűnő, hogy az „élesztős és hagyományos” minta, valamint „mikrohullám és élesztős” minta cukortartalma már az erjesztés 14. napján elérte a legalacsonyabb szintet (23 nap a teljes erjesztés), míg a többi mintánál ez csak később következett be. A legjobb eredményt azonban a hagyományosan kezelt és élesztővel beoltott kombináció adta.



42. ábra. A must cukortartalmának változása az erjedés során a kontroll (◆), a mikrohullámmal kezelt (■) az élesztővel beoltott (▲) a mikrohullámmal és élesztővel kezelt (×), a hagyományosan kezelt (✱), valamint a hagyományosan és élesztővel kezelt minta (●) esetén.

Az erjedés a mérés második napján indult meg szembetűnően. A 43. ábra azt mutatja, hogy a kontroll minta (0,4%) és a kezelt minták (1-3,1%) között az alkoholtartalomban szembetűnő különbség észlelhető.

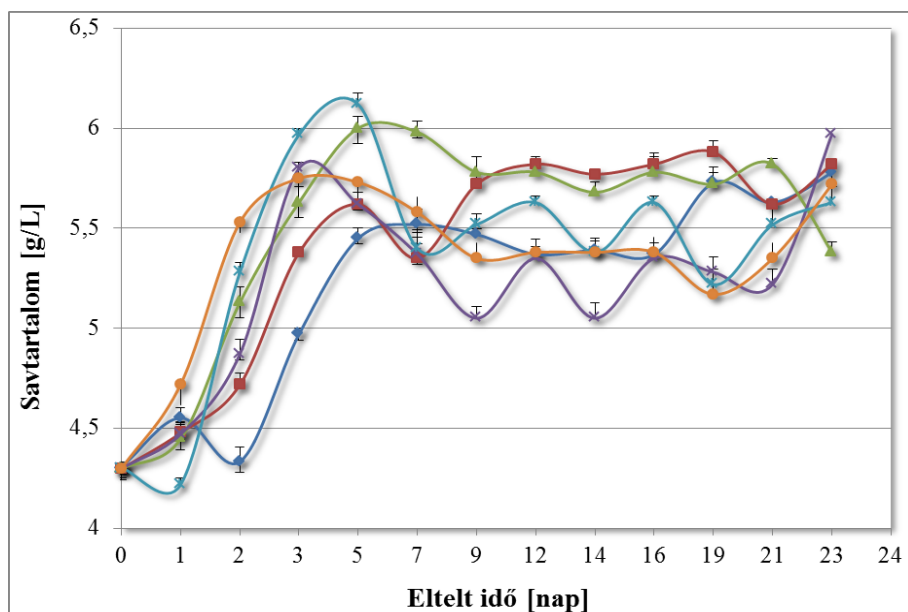
A kombinált kezelést kapott minták alkoholtartalma (43. ábra) már az erjesztés 14. napján elérte a legmagasabb szintet (10,4% és 10,2%), amiből arra következtethetünk, hogy a kezelés befolyásolja az erjedés sebességét. A csak „élesztős” és csak „mikrohullámos” kezelést kapott mustminta alkoholtartalma a 18. napon eléri a maximális értéket, ebben az esetben azonban a maximális alkoholtartalom 10% illetve 9,8%.



43. ábra. A must alkoholtartalmának változása az erjedés során a kontroll (♦), a mikrohullámmal kezelt (■) az élesztővel beoltott (▲) a mikrohullámmal és élesztővel kezelt (×), a hagyományosan kezelt (*), valamint a hagyományosan és élesztővel kezelt minta (●) esetén.

Savtartalom tekintetében (44. ábra) elmondható, hogy a legnagyobb savtartalommal a komplett kezelést kapott minták rendelkeznek. A

savtartalom változás nem annyira egyöntetű, mint a cukor és alkoholtartalom változás. Az erjedés folyamán ugyanis az élesztő némely savat elfogyaszt (almasav, borkósav), miközben újak keletkeznek (borostyánkősav, tejsav) (EPERJESI et al. 1998). Az eredmények alapján kijelenthető hogy a 0. napon (must) és az utolsó napon (bor) mért savfokok között átlagosan 23,31%-os különbség mutatkozik, valamint a legnagyobb és legkisebb savfok közötti különbség 28,44%-os volt.

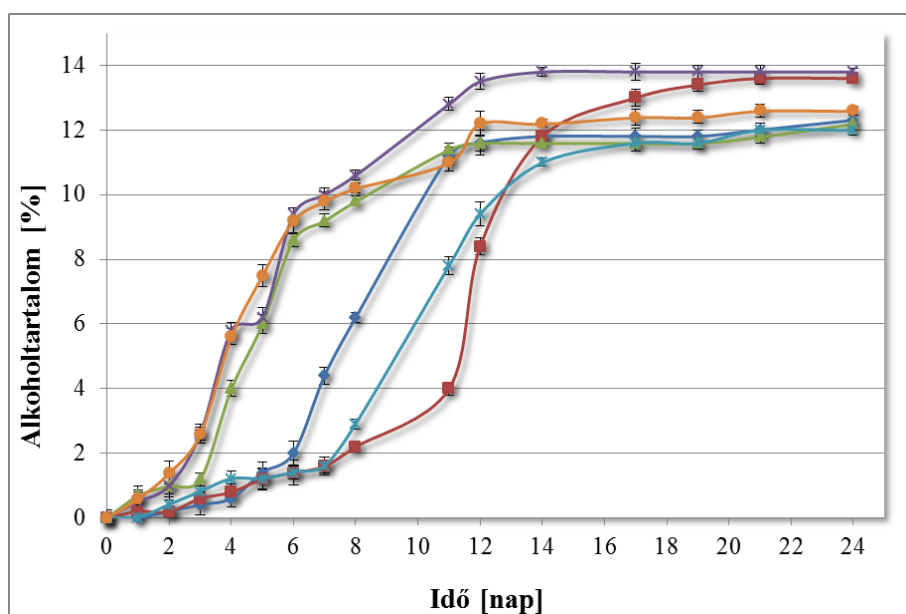


44. ábra. A must savtartalmának változása az erjedés során a kontroll (◆), a mikrohullámmal kezelt (■) az élesztővel beoltott (▲) a mikrohullámmal és élesztővel kezelt (×), a hagyományosan kezelt (✱), valamint a hagyományosan és élesztővel kezelt minta (●) esetén

Az eredmények alapján kijelenthetők, hogy mindkét mérőssorozat hasonló eredményeket hozott. A kezelések hatására a minták cukortartalma gyorsabban csökkent, az erjedési idő pedig a legjobb esetben 40%-kal megrövidült. Ezek valószínűleg az élesztős beoltásnak és a kezelések által

kiváltott hőhatásnak tudhatók be. Elmondható, hogy az erjesztés előtt rövid és maximum 37 °C-ig tartó hőkezelés fajlesztő alkalmazása mellett pozitívan befolyásolja az erjedés paramétereit, az erjedési idő rövidül, míg az alkohol kihozatal növekszik. A második mérésorozat eredményeit a VIII. számú melléklet tartalmazza.

A harmadikusterjesztés kísérlet során az alkoholtartalom detektálására helyeztük a hangsúlyt. Azt mértük, hogy változik az alkoholtartalom a fermentáció során a különböző kezelések hatására. A különbség ennél a mérésorozatnál az volt, hogy fagyasztott mustmintákkal dolgoztunk (45. ábra).



45. ábra. Fagyasztott must alkoholtartalmának változása az erjedés során a kontroll (◆), a mikrohullámmal kezelt (■), az élesztővel beoltott (▲), a mikrohullámmal és élesztővel kezelt (×), a hagyományosan kezelt (*), valamint a hagyományosan és élesztővel kezelt minta (●) esetén.

Az eredményekből egyértelműen látszik, hogy az élesztő és a mikrohullám együttes alkalmazása hozta a legjobb eredményt. Ez az erjedés lefolyása és a végső alkoholtartalom tekintetében is elmondható.

A másik kezelés, ahol a minta kombinált kezelést kapott (élesztő + főzőlap), a végső alkoholtartalom tekintetében a harmadik helyet hozta és az erjedés lefolyását tekintve azonos tendenciát mutat, mint az előzőekben bemutatott minta eredményei. Az erjedés 7. napjáig szinte azonos az erjedés lefolyása, ezután azonban a hagyományos + élesztős minta erjedési tendenciája lassuló képet mutat.

Az erjedés lefolyását tekintve szintén azonosnak mondható a csak élesztős kezelést kapott minta, azonban ennek a legalacsonyabb az alkoholtartalma az élesztős beoltást kapott minták közül.

Az a három minta, amely nem kombinált kezelést kapott (kontroll, hagyományos, mikrohullám) az erjedés lefutását tekintve érdekes képet mutat. Az erjedés nagyon lassan indul be. Ez azzal magyarázható, hogy a fagyasztás során a mustban lévő természetes vadélesztők jelentős része elpusztult és a kezelések után a még élő sejtek regenerációjához több idő kellett.

Szembetűnő azonban, hogy a mikrohullámmal kezelt minta erjedése szinte az összes mintáét felülmúlja a fermentáció végére. Kivételt képez a mikro + élesztős minta. Azonban a mikrohullám hatása itt is feltételezhetően igazolást nyer.

Fagyasztott mintás eredményeinket (45. ábra) összehasonlítottuk az előzőekben bemutatott eredményeinkhez.

Az eredmények összevetése után elmondható, hogy mindkét mérőssorozat hasonló eredményeket hozott abban a tekintetben, hogy az

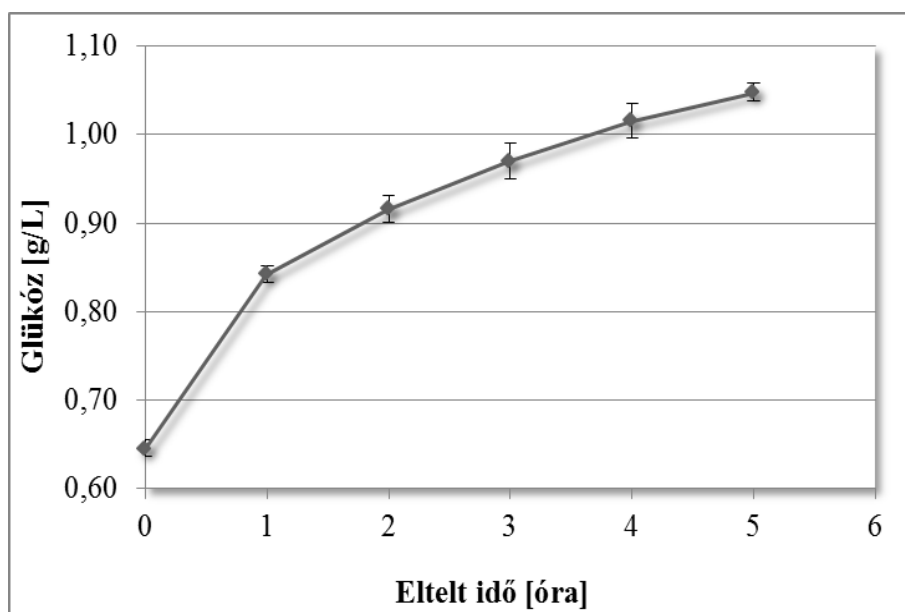
előerjedés folyamán a friss mustminták erjedése indult el hamarabb. A végső alkoholtartalom azonban mind a 6 esetben a fagyasztott minták esetén lett magasabb. A fermentáció 6-12. napja között egyenlítődt ki a két minta az alkoholtartalom tekintetében. A végső alkoholtartalom közötti különbség 16,7% és 28% között alakult. A legnagyobb különbséget a mikrohullámú kezelést is kapott minták mutatják.

A fagyasztott minta eredményei bizonyos tekintetben felülmúlják a frissen kezelt minták eredményeit. Érdekességgént elmondható, hogy fagyasztás utáni kezelés esetén a mikrohullám hatása jobban érvényesült az összes mintához képest.

4.3. A szőlővenyige mikrohullámú és enzimes kezeléseinek eredményei

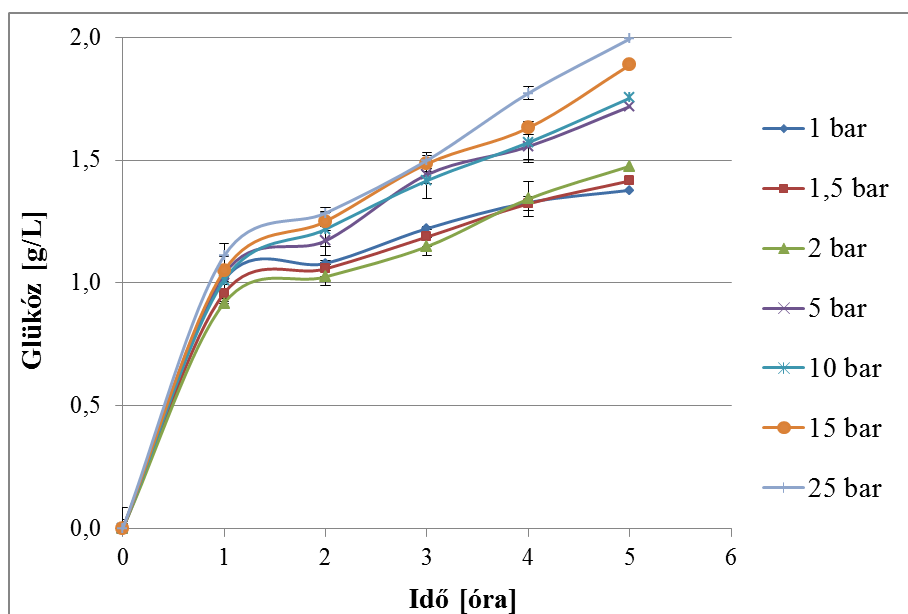
4.3.1. Előkísérletek

A szőlővenyige mikrohullámú kezelése (1600 W, 5 perc), és enzimes bontása során előkísérleteket végeztünk, ahol különböző nyomásokon történő kezelés után (1; 1,5; 2; 5; 10; 15; 25 bar) mértük (5 órán keresztül) a keletkezett glükóz mennyiségét. Eredményeinket kontroll mintához (46. ábra) is viszonyítottuk, amely nem kapott mikrohullámú kezelést csak enzimes kiegészítést. A méréseket 3 ismétléssel végeztük el.



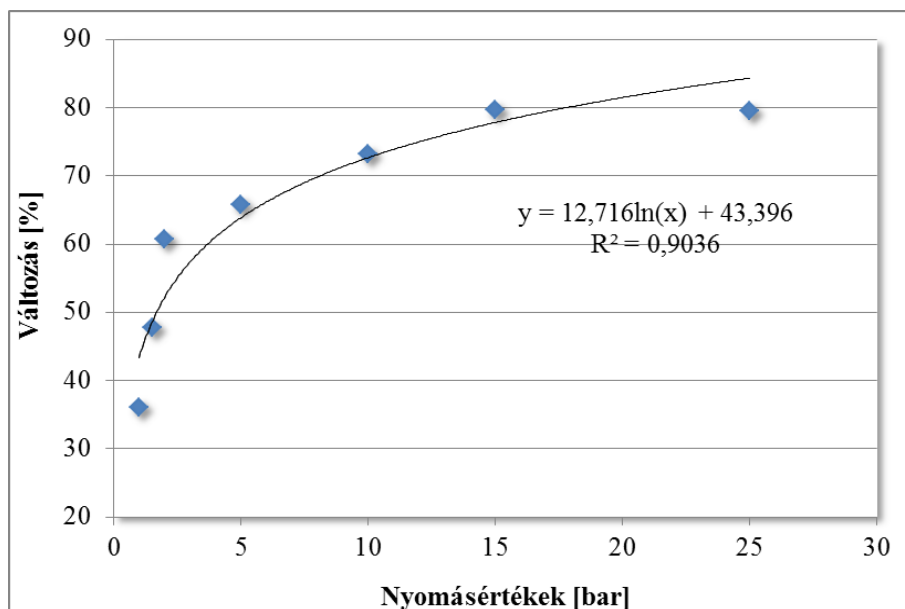
46. ábra. A kontroll minta glükóz kihozatala.

A kontroll minta (46. ábra) eredményei alapján elmondható, hogy az enzim adagolása utáni első órában intenzív glükóz termelés mutatkozott. A kísérletek 5. órájában a glükóz mennyisége 1,048 g/l-re emelkedett, ami csupán 19,3%-os növekedést jelent az 1. órához képest.



47. ábra. A különböző nyomásokon kezelt szőlővenyigéből keletkezett glükóz mennyisége.

A mikrohullámú berendezésben különböző nyomásokat alkalmazva a 47. ábra azt mutatja, hogy alapvetően 2 csoportra oszthatjuk fel eredményeinket. Az 1-, 1,5-, és 2 bar nyomás alkalmazásánál a glükózkihozatal közel azonos. Az 1 bar nyomáson kezelt minta esetén 26,4 %-os glükóz tartalom növekedés tapasztalható az 1-5. óra között. Ezek a számok a 1,5-, és 2 bar értékű kezelés hatására 32,2 és 37,7 %-ra növekedtek. Az 5-, 10-, 15- és 25 bar nyomás értékek mellett ezek az arányok folyamatosan nőnek.



48. ábra. A különböző nyomásértékek mellett kialakult glükóz koncentrációk százalékos változása (1-5. óra között).

Az összes kezelési nyomásértéket figyelembe véve (48. ábra) logaritmikus összefüggés figyelhető meg az 1-5. óra között mért glükóz értékek között. A függvényben $R^2=0,8601$ -os korrelációt figyelhetünk meg a kapott értékek között.

Az 5 bar nyomású kezelés hatására a glükóz termelés 39,7 %-ra, 10 bar mellett 42,2 %-ra, 15 bar alkalmazásánál 44,3 %-ra, míg 25 bar nyomásnál szintén 44,3 %-ra növekedett.

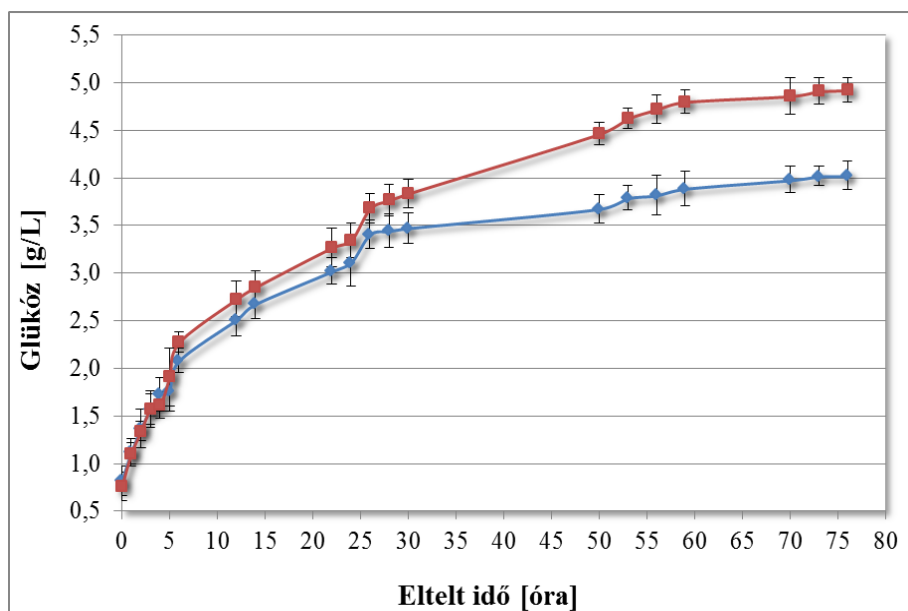
4.3.2. Hosszú idejű cellulózbontási eredmények

Az előkísérletek elvégzése után olyan kísérleteket állítottunk be, ahol a cellulózbontás folyamatát nem 5 órán, hanem addig végeztük a méréseket, amíg a glükóz termelés már nem folytatódott tovább. A mikrohullámú

előkezelések mellé autoklávos és hagyományos kezeléseket is beállítottunk. A szőlővenyige kezelésén kívül további változtatást jelentett, hogy bizonyos esetekben az enzimet is mikrohullámú kezelésnek vetettük alá. A méréseket minden esetben 3 ismétlésben végeztük el.

Az első méréssorozat során az alábbi kezeléseket végeztük:

- autokláv (430 W, 120 °C, 5 perc, 1 bar) + kezeletlen enzim
- mikrohullám (400 W, 120 °C, 5 perc, 1 bar) + kezeletlen enzim



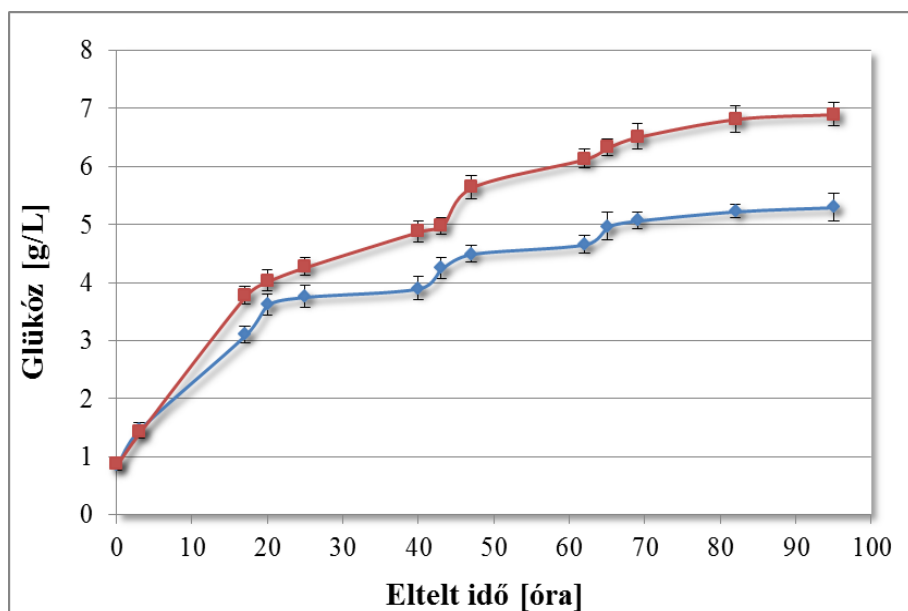
49. ábra. Az autoklávban (—●—) és mikrohullámmal (—■—) kezelt venyige enzimes bontása.

A 49. ábrán látható, hogy a mérés első 5 órájában nincs különbség a 2 minta eredményei között. Az 5. óra után, feltételezhetően a mikrohullámú kezelés hatására a cellulózbontás intenzitása megnövekedett. Az

eredményekből látszik, hogy végső különbség a mérés 55. órájában 18,1 %-ra növekedett. A statisztikai elemzést a XIII. melléklet tartalmazza.

Az eredmények alapján a kezelési idő változtatásával további kísérleteket állítottunk be.

- mikrohullám (400 W, 120 °C, 15 perc, 1 bar) + kezeletlen enzim
- mikrohullám (400 W, 120 °C, 15 perc, 1 bar) + kezelt enzim (50 W, 15 perc, 40 °C)



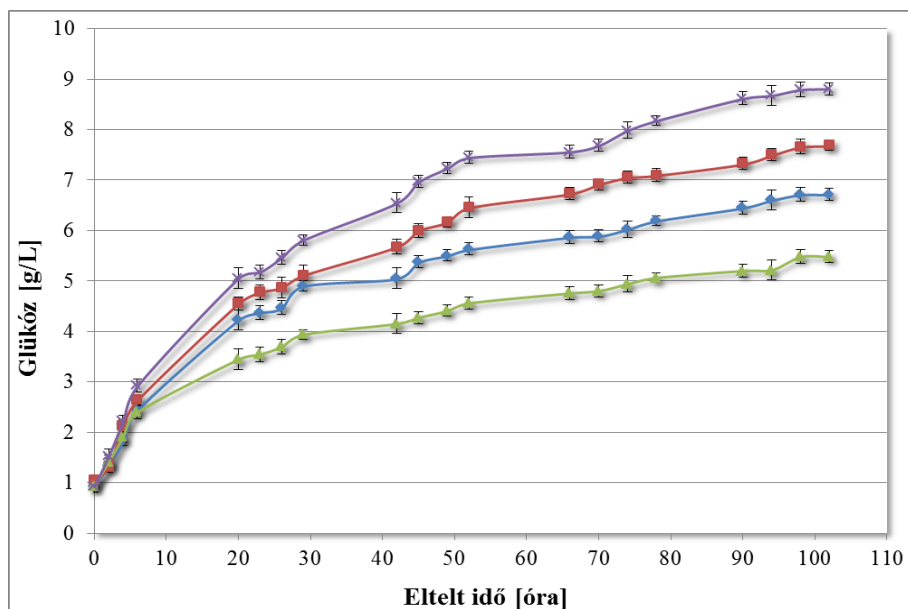
50. ábra. A venyige enzim kezelése mikrohullám+kezeletlen (—◆—)enzim és mikrohullám+kezelt (—■—) enzim esetében.

Az eredményekből látszik (50. ábra), hogy annál a mintánál, amelynél nemcsak a venyigét, hanem a cellulózbontó enzimet is kezeltük, nagyobb aktivitást értünk el. A két kezelés közötti különbség a mérések végére 22,1 %-os lett. Ebből arra következtethetünk, hogy a mikrohullámú gőzrobbantás

hatékonyabb módszer az autoklávos kezeléshez képest. A statisztikai elemzést a XIV. melléklet tartalmazza.

A mikrohullámos és hagyományos kezelések mellett különböző kezelési kombinációkat állítottunk be.

- Autokláv (430 W, 120 °C, 15 perc, 1 bar) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (1600 W, 120 °C, 15 perc, 1 bar) + kezeletlen enzim
- Hagományos (15 perc) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (1600 W, 120 °C, 15 perc, 1 bar) + kezelt enzim (50 W, 15 perc, 40 °C)



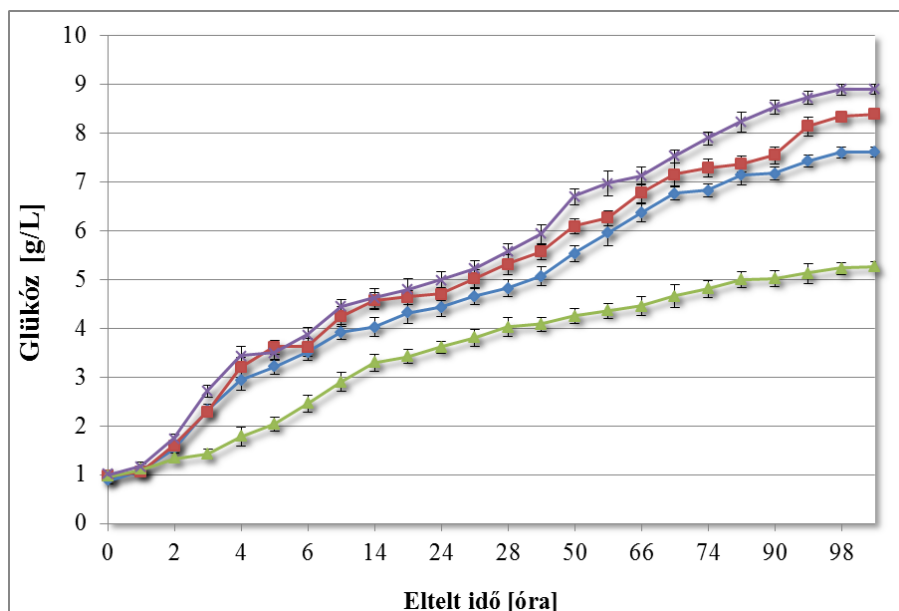
51. ábra. A venyige enzimes bontása hagyományos+kezeletlen enzim (—▲—) ; autokláv+kezeletlen enzim (—◆—); mikrohullám+kezeletlen enzim (—■—) ; mikrohullám+kezelt enzim (—✕—) esetén különböző teljesítményeken.

Az eredmények alapján megállapítható (51. ábra), hogy a hagyományos kezelést kapott minta hozta a legalacsonyabb cellulózbontási eredményeket. Ebben az esetben 38,9 %-os különbség mutatkozott a

„mikrohullám + kezelt enzim”-es mintához képest. 29,7 % volt a különbség a „mikrohullám + kezeletlen enzim”, valamint 18,5 %-os különbség jött ki az autokláv és hagyományos minták között. A hagyományos minta eredményei után az autoklávban kezelt szőlővenyige eredményei a második helyen szerepelnek. Itt az autokláv és „mikrohullám + kezeletlen enzim”, valamint autokláv és „mikrohullám + kezelt enzim” között 12,6% és 23,8 %-os különbség mutatkozott. A legjobb eredményeket pedig a két mikrohullámú kezelést kapott minta hozta. A két mikrohullámú kezelés közötti különbség 12,8 % volt. Ez a különbség bizonyítja, hogy az enzim alacsony teljesítményű előkezelése növeli annak aktivitását. Az eredmények egyértelműen azt mutatják, hogy a mikrohullám hatással van az enzim aktivitására és cellulózbontó képességére. Nem szabad azonban figyelmen kívül hagyni azt, hogy ennél a mérésnél az autokláv 430 W-on, a mikrohullám pedig 1600 W-os teljesítményen működött. A statisztikai elemzést a XV. melléklet tartalmazza.

Az előző (51. ábra) kezelésekhez képest az alábbi mérések során változtattunk a mikrohullámú teljesítményen, ugyanis az autokláv 430 W-on működik. Ehhez a teljesítményhez állítottuk be a mikrohullámú berendezésünket is. Ez alapján a következő kezelési paramétereket állítottuk be:

- Autokláv (430 W, 120 °C, 15 perc, 1 bar) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (440 W, 120 °C, 15 perc, 1 bar) + kezeletlen enzim
- Hagományos (15 perc) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (440 W, 120 °C, 15 perc, 1 bar) + kezelt enzim (50 W, 15 perc, 40 °C)

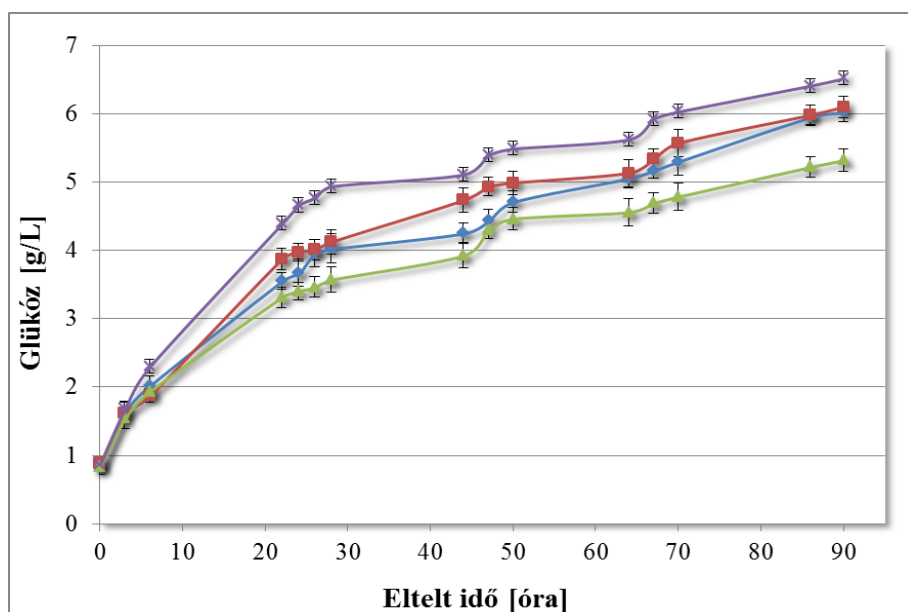


52. ábra. Négy különböző kezelést kapott venyige enzim bontása 440 W-on hagyományos+kezeletlen enzim (▲); autokláv+kezeletlen enzim (●); mikrohullám+kezeletlen enzim (■); mikrohullám+kezelt enzim (×) esetén.

A 52. ábrán látszik, hogy az azonos teljesítmény beállítása után az eredmények közötti különbség mérséklődik. A hagyományosan kezelt minta eredményei maradnak el a többi kezeléséhez képest. Az „autokláv + kezeletlen enzim” és „mikrohullám + kezeletlen enzim” közötti különbség 9,26% volt. Itt azonban a két mikrohullámú kezelés közötti különbség 5,7 %-ra csökkent, ami alapján elmondható, hogy a mikrohullámmal kezelt enzim hozta a legjobb eredményeket. Ebből arra következtethetünk, hogy a mikrohullámú kezelés növeli az enzim aktivitását. A statisztikai elemzést a XVI. melléklet tartalmazza.

A következő mérési sorozatnál (53. ábra) a kezelési idő változtatásával mértük az enzim cellulózbontó tulajdonságait.

- Autokláv (430 W, 120 °C, 30 perc, 1 bar) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (440 W, 120 °C, 30 perc, 1 bar) + kezeletlen enzim
- Hagyományos (30 perc) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (440 W, 120 °C, 30 perc, 1 bar) + kezelt enzim (50 W, 30 perc, 40 °C)

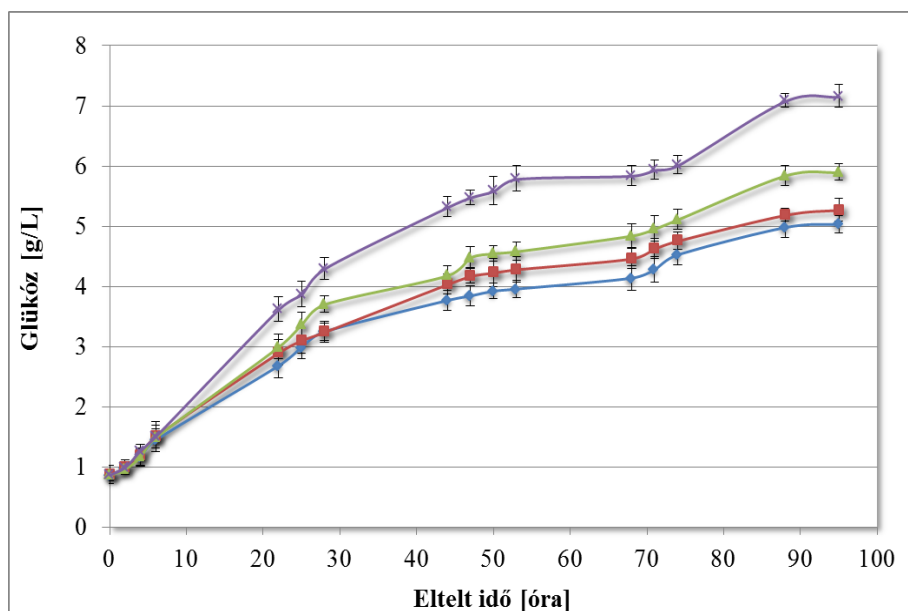


53. ábra. Négy különböző kezelést kapott venyige enzim bontása 440 W-on (hagyományos+kezeletlen enzim —▲—; autokláv+kezeletlen enzim —◆—; mikrohullám+kezeletlen enzim —■—; mikrohullám+kezelt enzim —×—)

Az 53. ábrán látszik, hogy a kezelési idő növelésével az enzim cellulózbontó képessége egyre jobban kiegyenlítődik a minták között. A legnagyobb különbség ismét a hagyományosan és a mikrohullámmal kezelt minták között mutatkozott, 12,8-18,7 %-os különbségekkel. Csökkent a különbség azonban az autokláv és a mikrohullám + kezeletlen,- és kezelt

enzimes mintái között. A különbség itt már csak 1,5 % és 7,2 %-ra csökkent. Ez valószínűleg azzal magyarázható, hogy a venyige hosszú idejű kezelése, akár autoklávbán is bizonyos idejű kezelés után jobb hozzáférhetőséget biztosítanak az enzimnek a cellulóz bontásához. A statisztikai elemzést a XVII. melléklet tartalmazza.

Az 1 bar nyomású kezelések után összehasonlítottuk a 2,- és 5 bar nyomásértéken kezelt minták eredményeit 1600 W-os besugárzási teljesítmény, 150 °C- os hőmérséklet és 10 perces kezelési idő mellett:



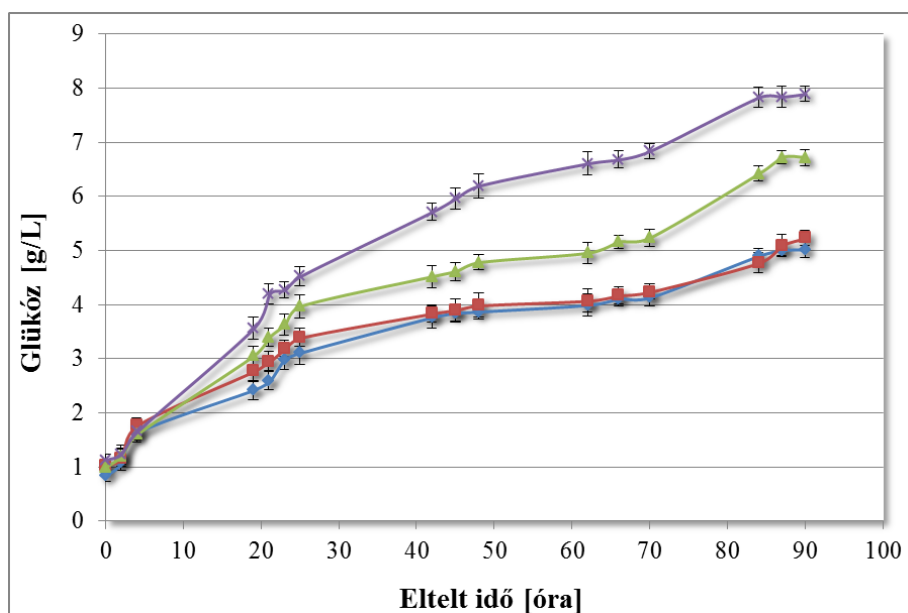
54. ábra. A 2 baron, mikrohullám+kezeletlen enzim (—◆—), mikrohullám+kezelt enzim (—■—), és az 5 baron, mikrohullám+kezeletlen enzim (—▲—) és mikrohullám+kezelt enzim (—×—) minták eredményei 150 °C-on.

A kétféle nyomáson kezelt minták közül (54. ábra) a 2 bar kezelés esetén 4,5 %-os különbség mutatkozott, míg az 5 baron kezelt minták esetén ez az arány 15,8 %-ra tehető. Ha a két nyomáson történt kezelést hasonlítjuk

össze, akkor a kezeletlen enzimet kapott minták között 16,5 %, míg a kezelt enzimet kapottak között 26,4 %-os különbség mutatkozott. A statisztikai elemzést a XVIII. melléklet tartalmazza.

Az előzőekben mért eredmények (54. ábra) alapján a hőmérséklet változtatásával újabb mérést végeztünk el:

- Mikrohullám (1600 W, 2 bar, 180 °C, 10 perc) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (1600 W, 2 bar, 180 °C, 10 perc) + kezelt enzim (50 W, 40 °C, 10 perc)
- Mikrohullám (1600 W, 5 bar, 180 °C, 10 perc) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (1600 W, 5 bar, 180 °C, 10 perc) + kezelt enzim (50 W, 40 °C, 10 perc)

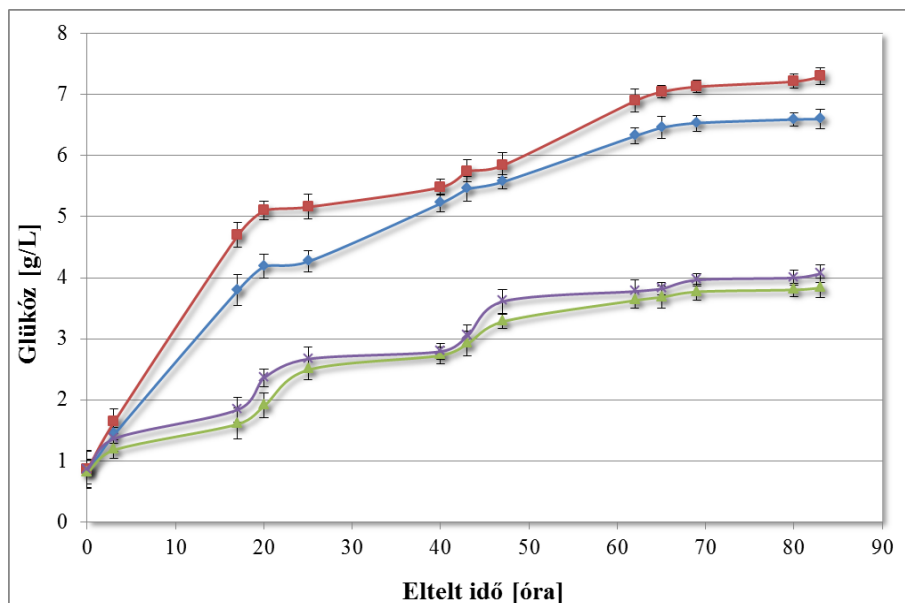


55. ábra. A 2 baron, mikrohullám+kezeletlen enzim (◆), mikrohullám+kezelt enzim (■), és az 5 baron, mikrohullám+kezeletlen enzim (▲) és mikrohullám+kezelt enzim (×) minták eredményei 180 °C-on.

Az eredményekből látszik (55. ábra), hogy a 2 bar nyomású kezelésnél szinte nincs különbség a minták eredményei között, csupán 2,9 %. Az 5 bar nyomású kezelések között 12,4 %-os különbség mutatkozott. Az eredmények itt is egyértelműen alátámasztják, hogy az enzim mikrohullámú előkezelése pozitív hatással van annak aktivitására. A statisztikai elemzést a XIX. melléklet tartalmazza.

Az előző kísérleti beállításokhoz képest (55. ábra) ezután a mikrohullámú teljesítményt 800 W-ra, a kezelési időket, pedig mint a venyige, mint az enzim esetében 10 percre állítottuk be:

- Mikrohullám (1 bar, 180 °C) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (1 bar, 180 °C,) + kezelt enzim (50 W, 40 °C, 10 perc)
- Mikrohullám (800 W, 2 bar, 180 °C, 10 perc) + kezeletlen enzim
- Mikrohullám (2 bar, 180 °C) + kezelt enzim (50 W, 40 °C, 10 perc)



56. ábra. A venyige glükóz kihozatala 1 bar (—▲—) és 2 baros mikrohullám+kezeletlen enzim (—◆—), valamint 1 bar (—×—) és 2 baros (—■—) mikrohullám+kezelt enzim kezelés esetén 180 °C-on.

Az eredmények (56. ábra) az 1 baron kezelt minták között 4%-os különbséget mutatnak, szemben az 1600 W-on kezelt 2,9 %-os különbséggel. A 2 baron kezelt minták cellulózbontási eredményei között már 8,5 %-os különbség mutatkozott, szemben az 1600 W-os kezeléssel ahol 4,5 % különbséget eredményezett a kezelés. Azoknál a kezeléseknél, ahol az enzim nem kapott kezelést 42,4%, míg ahol az enzimet is előkezeltük 44,5 %-os különbségeket kaptunk. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a 800 W-on előkezelt minták jobb eredményeket hoztak cellulózbontás szempontjából az 1600 W-os kezelésekhöz képest. A statisztikai elemzést a XX. melléklet tartalmazza.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a kezelési idő, mikrohullámú teljesítmény és hőmérséklet változtatásával jelentős különbségeket lehet produkálni glükóz kihozatal szempontjából. Ezen paraméterek változtatásával befolyásoltuk a hidrolízis hatékonyságát. Ez az arány tovább növelhető akkor, ha a hidrolízishez alkalmazott enzimet is mikrohullámú előkezelésnek vetjük alá, ami egyértelműen alátámasztja azt, hogy a sugárzással növelhető az enzim aktivitása. A kezeletlen és előkezelt enzimes kísérletek során legkevesebb 1,1 %, valamint maximum 22,1 %-os különbség mutatkozott. További összefüggésként elmondható, hogy a 30 perces kezelés már soknak mondható mind a venyige, mind az enzim kezelés során, ugyanis nem hozott olyan nagy különbségeket a minták között (kezelt-, kezeletlen enzim: 6,8 % különbség). A 2 és 5 bar nyomású kezeléseket 150-, és 180 °C-os hőmérsékleten összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy az alacsonyabb hőmérsékleten való kezelés nagyobb százalékos eltéréseket eredményezett a hidrolízis végére.

HU és WEN (2008) mikrohullámú előkezelésnek (1000 W, 30 per, 190 °C) vetette alá köles mintáit, amelynek hatására 53 %-kal nagyobb végső cukorkoncentrációt detektált a hagyományos hőkezeléshez képest. Ez esetünkben maximálisan 37,8 %-os növekedést jelentett.

MA et al. (2009) szintén igazolta, hogy a mikrohullám egy hatékony előkezelési eljárás, ugyanis 680 W-os, 24 perces kezeléssel 30,3-43,3%-kal tudtam megnövelni a rizsszalma emészthetőségét. Ez szinkronban van eredményeinkkel, ugyanis hagyományosan és a mikrohullámmal kezelt minták közti különbség esetünkben 12,6-23,2% volt.

Eredményeint összhangban állnak ZHU et al. (2006) eredményeivel is, miszerint az enzimszuspenzió mikrohullámú kezelése (300 W, 15 másodperc) megnöveli annak aktivitását. A hidrolízis sebesség növekedését és a szűrőpapír lebontó aktivitás fokozódását detektálták. Esetünkben az enzim kezelésével (50 W, 40 °C, 3-30 perc) 9,26-22,1%-os különbséget értünk el.

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVALATOK

A *Saccharomyces cerevisiae* pusztulási és szaporodási tulajdonságait vizsgálva megállapítható, hogy az alkalmazott teljesítmény és a kezelési idő nagyban befolyásolja a sejtek élettevékenységét. Az alkalmazott kezelési paraméterek helyes megválasztásával növelni lehet a szaporodási fázis állandósult szakaszára a végső sejtszámot, amit fel lehetne használni számos élelmiszeripari technológia (erjesztés, egysejtfehérje előállítás...stb) során.

A glükózbontási kísérletek eredményeit figyelembe véve megállapítható, hogy az élesztők erre vonatkozó aktivitása is növelhető mikrohullám hatására, amely elsősorban az erjesztési iparok számára jelenthet fejlődési lehetőséget.

A musterjesztési kísérletek során, miszerint mikrohullámú kezelés hatására az erjesztési idő legjobb esetben 40%-kal rövidül, valamint nagyobb alkoholkhozatal érhető el, nagy előrelépést jelenthet elsősorban a szeszgyártási technológia számára, ugyanis ennél az iparágnál a hatalmas mennyiségű termék előállítás miatt ezek előnye vitathatatlan.

A szőlővenyige mikrohullámú gőzrobbantása és enzimes bontása során elért eredmények is jelentős mértékben hasznosíthatók lennének, elsősorban a bioetanol előállító iparág számára. A mikrohullámú előkezeléssel és enzimaktivitás növelésével ugyanis jelentősen növelhető a glükóz kihozatal. Az alkalmazott kísérleti paraméterek (mikrohullámú teljesítmény, kezelési idő, hőmérséklet, nyomásérték) pontosításával, finomításával és további kísérletek elvégzésével valószínűleg még jobban optimalizálhatók lennének kezelési beállításaink.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban egyre nagyobb teret hódítanak maguknak a különböző elektromos berendezések, többek között a mikrohullámú készülékek. Ezen berendezések felhasználása egyre szélesebb körű. Használata mind a hétköznapi ember számára, mind pedig az iparba egyre jobban elterjed. Ipari felhasználása is egyre szélesebb körű, a mikrohullám hatása azonban mind máig kérdéseket vet fel.

A dolgozat legfőbb célja arra irányul, hogy a tudomány számára leginkább vitatható hatásokra találjunk válaszokat bizonyos szinten. Ez a hatás nem más, mint a mikrohullám non-termális hatása. Ezt a hatást a dolgozatban a sejtekre és az erjesztésre való hatásvizsgálatokkal próbáltuk bizonyítani.

A *Saccharomyces cerevisiae* pusztulási és szaporodási vizsgálatai során különböző mikrohullámú teljesítményeken való kezeléseket alkalmaztunk. A pusztulási- és szaporodási görbéket tenyésztési vizsgálatokkal és optikai denzitás méréssel határoztuk meg.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a *Saccharomyces cerevisiae* szakaszos szaporodási görbét mutat, ami az irodalmi hivatkozásokkal megegyező eredményeket jelent. A sejtek szaporodására jellemző lappangási-, gyorsuló-, logatrimusos-, lassulási- és az állandósult szakasz egyértelműen elkülöníthető. A szaporodási görbe meghatározása után különböző módon kezelt minták szaporodását hasonlítottuk össze. A kontroll mintához viszonyítottuk eredményeinket, emellett az élesztő tápoldatot, és a tápoldatot az élesztővel egyben kezelve mértük ki a szaporodási görbéket. A kezelések során 50- és 400 W-os teljesítményt, 60 perces besugárzási időt, és

37 °C-os hőmérsékletet alkalmaztunk. Az eredményekből arra következtethetünk, hogy a mikrohullám hatással van az élesztők szaporodására, oly módon, hogy a szaporodási görbe állandósult fázisában nagyobb végső sejtszámot értünk el.

A pusztulási vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a növekvő besugárzási teljesítmények alkalmazása a sejtek pusztulását egyre intenzívebbé teszi, ezzel szemben, ha a mikrohullámú besugárzás utáni szaporodást vizsgáljuk, akkor az közel kétszeres intenzitást mutat a kezeletlen élesztők szaporodásához viszonyítva.

Az 50 W-os és 100 W-os kezelések esetén a pusztulás intenzitása egyenletes. A pusztulási arányok a 400-, 600-, és 900 W-os eredmények esetén térnek el jelentősebben. Az élesztők pusztulási eredményeinél 50 és 100 W-os kezelések során lineáris, a 400-, 600- és 900 W-os kezeléseknél hatványos összefüggést figyelhetünk meg. A pusztulási eredmények alapján kijelenthető, hogy a növekvő besugárzási teljesítménnyel és kezelési idővel együtt növekszik a pusztulás intenzitása is.

Az élesztő szaporodási és pusztulási vizsgálatai mellett a mikrohullám erjedésre gyakorolt hatásával is foglalkoztunk. A must mikrohullámú kezelése során 50 W-os teljesítménnyel, 45 perces kezelési idővel és 37 °C-os hőmérséklettel dolgoztunk. A kezelések hatására a mustminták cukortartalma gyorsabban csökkent, az erjedési idő pedig a legjobb esetben 40%-kal megrövidült. Ezek valószínűleg az élesztős beoltásnak és a mikrohullámú kezelésnek köszönhetők. Elmondható, hogy az erjesztés előtt rövid és maximum 32 °C-ig tartó hőkezelés fajélesztő alkalmazása mellett pozitívan befolyásolja az erjedés paramétereit, az erjedési idő rövidül, míg az

alkohol kihozatal növekszik. Itt az élesztős beoltás és a mikrohullám non-termálsi hatása mellett a minimális termális hatás is érvényesül.

A kezelések erjedésre gyakorolt hatását olyan minták esetében is vizsgáltuk, ahol a must alapanyag a kezelések előtt fagyasztott állapotban volt tárolva 1 éven keresztül. Ez abból a szempontból fontos, hogy a -18 °C-on való tárolás során a mustban lévő természetes vadélesztők tartósítva lettek. Esetünkben ugyanis a must fagyasztását lassan végeztük, ami irodalmi hivatkozások szerint 50 %-os túlélést eredményez. Ebből kifolyólag a kezelések hatása jobban megfigyelhető az erjesztés során. Azon minták erjedése, amelyek nem kaptak élesztős kiegészítést sokkal lassabban indult be a többi mintához képest. Szembetűnő, hogy a mikrohullámmal kezelt minta erjedése szinte az összes mintáét felülmúlja a fermentáció végére. Kivételt képez a mikrohullám+élesztős minta, azonban a mikrohullámú hatás itt is valószínűsíthető. Ez mind azt bizonyítja, hogy a minimális termális hatás mellett nagy jelentősége van a mikrohullám atermális hatásának is. Fontos megjegyezni, hogy a mikrohullámú kezelés előnye abban rejlik a hagyományos kezeléshez képest, hogy jelentősen lerövidül a kezelési idő, ami elsősorban ipari felhasználás (szeszipar, pálinkagyártás) során lehet fontos tényező.

A mikrohullám hatását abból a szempontból is vizsgáltuk, hogy milyen hatással van a cellulózbontási folyamatokra. A szőlővenyige mikrohullámú roncsolása és a cellulóz bontásához alkalmazott *Trichoderma reesei* által termelt enzim besugárzásának vizsgálata során is érdekes eredmények születtek. Az eredmények azt mutatják, hogy a kezelési idő, mikrohullámú teljesítmény és hőmérséklet változtatásával jelentős különbségeket lehet

produkálni glükóz kihozatal szempontjából. Ezen paraméterek változtatásával befolyásoltuk a hidrolízis hatékonyságát.

A kezeletlen és előkezelt enzimes kísérletek során 9,2-22,1 %-os különbség mutatkozott a hidrolízis végére. Eredményként elmondható, hogy a 30 perces kezelés már nem hozott olyan nagy különbségeket a minták között (kezelt-, kezeletlen enzim: 6,8 % különbség). Megállapítottuk azt is, hogy az alacsonyabb hőmérsékleten való kezelés nagyobb százalékos eltéréseket eredményezett a hidrolízis végére.

A mikrohullámot eredményesen lehet használni az élesztők élettevékenységének, az erjesztési folyamatoknak, a cellulózbontási és enzimaktivitási folyamatok befolyásolására abban az esetben, ha a kezelés paramétereit pontosan beállítjuk. A mikrohullám alkalmazása során azonban minden esetben figyelembe kell venni a sugárzás termikus, valamint nem-termikus hatásait, annak érdekében, hogy céljainknak megfelelően, a legnagyobb hatékonysággal és biztonsággal alkalmazhassuk ezeket a módszereket.

7. TÉZISEK

1. Bizonyítottam, hogy 2,45 GHz-es frekvenciájú, 50-900 W-os ($0,095\text{-}0,19\text{ W/cm}^3$) mikrohullámú teljesítmény alkalmazásával a *Saccharomyces cerevisiae* pusztulási intenzitása jelentősen növekszik az idő függvényében, 30-120 perces kezelések között.
2. A maximum 37 °C-on 45-60 percig tartó, 50 W teljesítményű mikrohullámú besugárzás serkenti a *Saccharomyces cerevisiae* szaporodását, glükózfermentáló aktivitását és musterjesztő képességét, amintek következtében számottevően lerövidül a szőlőmust alkoholos erjedésének időszükséglete.
3. A szőlővenyige mikrohullámú gőzrobbantása során megnövekedett glükóz-kihozatal érhető el, ha a *Trichoderma reesei*-eredetű celluláz [1,4-(1,3;1,4)- β -D-glükán-4-glükánohidroláz] enzimet is mikrohullámú kezelésnek vetjük alá. Már 400-440 W teljesítményű, 15 percig tartó mikrohullámú besugárzás érdemlegesen megnöveli az enzimaktivitást.
4. Bizonyítottam, hogy a szőlővenyige gőzrobbantása során azonos paraméterek mellett (400-440 W, 120 °C, 5-30 perc, 1 bar) hatékonyabban végezhető el a szőlővenyige gőzrobbantással, mint autoklávós kezeléssel.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton fejezem ki köszönetemet témavezetőimnek, Prof. Dr. Neményi Miklós akadémikus úrnak és Dr. Lakatos Erika intézetigazgató, docens asszonynak doktori tanulmányaim során nyújtott szakmai segítségükért, tanácsaikért.

Köszönöm opponenseimnek, Prof. Dr. Stefanovicsné Bányai Évának és Prof. Dr. Sembery Péternek, amiért dolgozatom elkészítését értékes bírálatukkal segítették.

Valamint köszönetemet fejezem ki a Biológiai Renszerek Műszaki Intézete valamennyi dolgozójának, hogy támogatták doktori tanulmányaimat és segítették dolgozatom létrejöttét.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. **Alexio, J.A.G.; Swaminathan, B.; Jamesen, K.S.; Pratt, D.E. (1985):** Destruction of pathogenic bacteria in turkeys roasted in microwave oven. *Journal of Food Science* **50** 873-880.
2. **Allen, A.L.; Sternberg, D. (1980):** β -glucosidase production by *Aspergillus phoenicis* in stirred tank fermentors. *Biotechnology and bioengineering symposium* **10** 180-197.
3. **Almássy, Gy. (1982):** Mikrohullámú mérés és műszertechnika. Egyetemi jegyzet. Budapesti Műszaki Egyetem. Budapest. 12-25.
4. **Antonelli, M.L.; Curini, R.; Scricciolo D.; Vinci G. (2002):** Determination of free fatty acids and lipase activity in milk: quality and storage markers, *Talanta* **58** 561-568.
5. **Arnold, W. N. (1991):** Periplasmic space. In: *The Yeasts* 2nd ed., vol 4. *Yeast Organelles* (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 279-295.
6. **Ayscough, K. R.; Drubin, D. G. (1996):** Actin: general principles from studies in yeast. *Biochemistry and Biology, Annual Review of Cell and Developmental Biology* **12** 129-160.
7. **Banik, S.; Bandyopadhyay, S.; Ganguly, S. (2003):** Bioeffects of microwave – a brief review. *Nature* **87** 155-159.
8. **Barani, K.; Koleini, S.M.J.; Rezaei, B. (2011):** Magnetic properties of an iron ore sample after microwave heating, *Separation and Purification Technology*. **76** (3) 331–336.
9. **Beckwith, T.D.; Olsen, A.R. (1931):** Ultrasonic radiation and yeast cells. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine* **29** 362.
10. **Beke, J. (2000):** A vízleadási folyamat jellemzői mikrohullámú terményszárításkor. *Mezőgazdasági Technika* **41** 2-4.
11. **Békési Z.; Pándi F. (2005):** Pálinkafőzés, *Mezőgazda Kiadó*, Budapest, ISBN 978-963-286-485-3
12. **Belyaev, I. (2005):** Non-thermal biological effects of microwaves, *Microwave Review* **11** 13-29.

13. **Bender, R. (1979):** US Patent, 4 136,207.
14. **Benkő, Zs. (2012):** Első és második generációs bioetanol környezetgazdasági hatásainak összehasonlítása, Szakdolgozat, Budapesti Corvinus Egyetem, Gazdálkodástudományi Kar Környezetgazdaságtani és Technológiai Tanszék 10-13, 43.
15. **Benkő, Zs.; Réczey, I. (2008):** Lignocellulózok degradációja, A hemicellulázok, mint segítő enzimek, Magyar Kémikusok Lapja **7-8** 212-218.
16. **Berecz, L. (1999):** Élelmiszerek száradási jellemzői, különös tekintettel az élesztőkre, PhD disszertáció, Pannon Agrárutományi Egyetem, Mezőgazdaságtudományi Kar, Mosonmagyaróvár
17. **Bíró, K.; Mercz Á. (1953):** A bor készítése és kezelése, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest 211-215.
18. **Bisson, B.; Butzke, C. (2000):** Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations. American Journal of Enology and Viticulture **51** 168-177.
19. **Bisson, L.F. (2005):** Diagnosis and rectification of arrested fermentations. Journal of viticulture and enology **10** 1-11.
20. **Blanco, J.F; Dawson, L.E. (1974):** Survival of *Clostridium perfringens* on chicken cooked with microwave energy. Poultry Science **53** 1823-1830.
21. **Bollók, M.; Réczey, K.; Zacchi G. (2000):** Simultaneous saccharification and fermentation of Steam-Pretreated Spruce to ethanol. Applied Biochemistry and Biotechnology **84,86** 69-80.
22. **Böckelmann, M.; Lücke, W. (2005):** Mikrowellen zur Maistrocknung. Landtechnik **60** 4-5.
23. **Brooks, R.E. (1978):** General Electric pressurized fluidized bed power plant status. Proceeding of International Conference of Fluid Bed Combustion **5 (2)** 413-432.
24. **Brown, R.D.; Gritzali, M. (1984):** Microbial enzymes and lignocellulose utilization. Basic Life Science **28** 239-265.
25. **Caboni, P., Cabras, P. (2010):** Chapter 2 – Pesticides' influence on wine fermentation, Advances in Food and Nutrition Research **59** 43–62.

26. **Calhelha, R. C., Andrade, J. V., Ferreira, I. C., & Estevinho, L. M. (2006):** Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process. *Food Microbiology* **23** 393–398.
27. **Carpenter, R.L. (1958):** In: Proceedings of the Second Annual Tri-Service Conference on Biological Effects of Microwave Energy., US Department of Commerce, Springfield, Virginia 146–148
28. **Cheng, W.M.; Raghavan, G.S.V.; Ngadi, M.; Wung, N. (2006a):** Microwave power control strategies on the drying process I. Development and evaluation of new microwave drying system. *Journal of Food Engineering* **76** 188-194.
29. **Cinquanta, L.; Albanese, D.; Cuccurullo, G.; Di Matteo, M. (2010):** Effect on orange juice of batch pasteurization in an improved pilot-scale microwave oven. *Journal of Food Science* **75 (1)** E46–E50
30. **Coughlan, M.P (1985):** The properties of fungal and bacterial cellulases with comment on their production and application. *Biotechnology & genetic engineering reviews* **3** 39-109.
31. **Coughlan, M.P.; Mayer, F. (1992):** In the Prokaryotes: handbook on the biology of bacteria. Chapman and Hall, New York
32. **Culkin, K. A. and Fung, D. Y. C. (1975):** Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave cooked soup. *Journal of Milk and Food Technology* **38** 8-15.
33. **Dahil, C.A.; Matthews, M.E.; Marth, E.H. (1980):** Fate of *Staphylococcus aureus* in beef loaf, potatoes and frozen and canned green beans after microwave-heating in a simulated cook/chill food service system. *Journal of Food Protection*, **44** 128-133
34. **Dardanoni, L.; Toregrossa, M.V.; Zanforlin, L. (1994):** Millimeter wave effects on *Candida albicans* cells. *Journal of Bioelectricity* **4** 171–176.
35. **Datta, A.K.; Anantheswaran, R.C. (2001):** Handbook of microwave technology for food applications. Marcel Dekker, Inc., New York. 51.
36. **Deák, T. (1998):** Élesztőgombák a természetben és az iparban, Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest, ISBN 963 356 253 8

37. **Dholiya, K.; Patel, D.; Kothari, V. (2012):** Effect of low power microwave on microbial growth, enzyme activity, and aflatoxin production, *Research in Biotechnology* **3** (4) 28-34.
38. **Dienes, D. (2006):** Celluláz enzimek hatása a szekunder rostok tulajdonságaira, Doktori (PhD) értekezés. Budapesti Műszaki Egyetem, Budapest.
39. **Dreyfuss, M.S.; Chipley, J.R. (1980):** Comparison of effects of sublethal microwave radiation and conventional heating on the metabolic activity of *Staphylococcus aureus*, *Applied and Environmental Microbiology* **39** (1) 13-16
40. **Dzurec, D.J.; Baptie, P. (1989):** Rapid, intensive microwave oven method of total solids determination in fluid dairy products. *Journal of Dairy Science* **72** 2777-2781.
41. **Edelényi, M. (1978):** Borászati mikrobiológia, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest 68.
42. **Enari, T.M. (1987):** Enzymatic hydrolysis of cellulose: is the current theory of the mechanisms of hydrolysis valid? *Critical Reviews in Biotechnology* **5** 67-87.
43. **Eperjesi, I. (1959):** Korai pinceműveletek hatása az egyszerű újborokra. *Borgazdaság* **7** (2)
44. **Eperjesi, I. (2010):** Borászati technológia, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 107-109, 142-145.
45. **Eperjesi, I.; Kállay, M.; Magyar, I. (1998):** Borászat, Mezőgazda Kiadó, Budapest 17-19, 95-112.
46. **Fabian, F.W.; Graham, H.T. (1933):** *The Journal of Infectious Diseases*. 53, 76.
47. **Fan, L.T.; Lee, Y.H.; Beardmore, D.H. (1980):** Major chemical and physical features of cellulosic materials as substrate for enzymatic hydrolysis, *Advances in Biochemical Engineering* **14** 101-117.
48. **Ferreira, J.; Du Toit, M.; Du Toit, W.M. (2006):** The effects of copper and high sugar concentrations on growth, fermentation efficiency and volatile acidity production of different commercial wine yeast strains. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. **12** 50-56

49. **Flachner, B. (2003):** Enzimek a cellulóz biológiai hasznosulásában: β -glükózidáz és a 3-foszfoglicerát kináz. PhD értekezés.
50. **Fleet, G. H. (1991):** Cell walls. In: The Yeasts, 2nd ed., vol 4. Yeast Organelles (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 199-277.
51. **Fleet, G.H. (1990):** Food spoilage yeasts. In. Yeast Technology (Spencer, J.F.T. – Spencer, D.M., eds.) Springer Verlag, Berlin 124-166.
52. **Fleet, G.H., Heard, G.M., (1993):** Yeasts: growth during fermentation. In: Fleet, G.M. (Ed.), Wine Microbiology and Biotechnology. Harwood Academic Publishers, Switzerland 27– 54.
53. **Fleming, H. (1944):** Electr. Eng. (Am. Inst. Electr. Eng.) 3 18.
54. **Fuqua, C., Winans, S.C., Greenberg, E.P., (1996):** Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR–LuxI family of quorum sensing transcriptional regulators. Annual Review of Microbiology 50 727–751.
55. **Gaffner, J.; Sütz, M. (1996):** Impact of glucose-fructose-ratio on stuck fermentations: practical experiences to restart fermentations. Viticulture & Enology 51 214-218.
56. **Garkusha, O.M.; Mazurenko, R.V.; Makhno, S.N.; Gorbik, P.P. (2008):** Influence of low-intensity electromagnetic millimeter radiation on the vital activity of *Saccharomyces cerevisiae* cells, Biophysics 53 (5) 402–405.
57. **Gasztonyi, K.; Lásztity, R. (1992):** Élelmiszer-kémia 1. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
58. **Géczi, G.; Sembery, P. (2005):** Mikrohullám az élelmiszeriparban. Áram és technológia 3 19-21.
59. **Gentry, T.S.; Roberts, J.S. (2005):** Design and evaluation of a continuous flow microwave pasteurization system for apple cider. Food Science and Technology 38 (3) 227-238.
60. **Giovanelli G.; Perci, C.; Parravicini, E. (1996):** Kinetics of grape juice fermentation under aerobic and anaerobic conditions. American Journal of Enology and Viticulture 47 429-434.

61. **Goddard, M.R., (2008):** Quantifying the complexities of *Saccharomyces cerevisiae*'s ecosystem engineering via fermentation. *Ecology* **89**, 2077–2082
62. **Golant, M.B., Kuznetsov, A.P. & Bozhanova, T.P. (1994):** The mechanism of synchronizing yeast cell cultures with EHF radiation (in Russian), *Biofizika* **39**
63. **Golubev, W.I. (1991):** Capsules. In: *The Yeasts*, 2nd ed., vol 4. Yeast Organelles (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 175-198.
64. **Gong, C.S.; Ladisch, M.R.; Tsao, G.T. (1979):** Biosynthesis, purification and mode of action of cellulases of *Trichoderma reesei*. *Advances in Chemistry Series* **181** 262-287.
65. **Gray, W.D. (1941):** Studies on the alcohol tolerance of yeasts. *Journal of Bacteriology* **42** 561-574.
66. **Gregg, D.J.; Saddler, J.N. (1996):** Factors affecting cellulose hydrolysis and the potential enzyme recycle to enhance the efficiency on a combined wood to ethanol process. *Biotechnology and Bioengineering* **51** 375-383.
67. **Gritzali, M.; Brown, R.D. Jr. (1979):** The cellulase system of *Trichoderma*. Relationships between purified extracellular enzymes from induced or cellulose-grown cells. *Advances in Chemistry Series* **181** 237-260.
68. **Grundler, W., U. Jentzsch, F. Keilmann and V. Putterlik (1988):** Resonant cellular effects of low intensity microwaves. In H. Frohlich (Ed.), *Biological coherence and response to external stimuli*, 65-85 Berlin, Springer-Verlag
69. **Grundler, W.; Keilmann, F.; Frohlich, H. (1977):** Resonant growth rate response of yeast cells irradiated by weak microwaves, *Physics letters*, Volume 62A, **6** 463-466.
70. **Grundler, W.; Keilmann, F.; Strube, D. (1982):** Resonance-like dependence of yeast growth rate of microwave frequencies, *British Journal of Cancer* **45** 206.

71. **Guan, D.S.; Plotka, V.C.F.; Clark, S.; Tang, J.M. (2002):** Sensory evaluation of microwave treated macaroni and cheese. *Journal of Food Processing and Preservation* **26** (5) 307–322
72. **Guérin, B. (1991):** Mitochondria. . In: *The Yeasts* 2nd ed., vol 4. *Yeast Organelles* (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 541-600.
73. **Hagget, K.D.; Choi, W.Y.; Dunn, N.W. (1978):** Mutants of *Cellulomonas* which produce increased levels of β -glucosidase. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* **6** 189-191.
74. **Hayashi, M., Ohkuni, K., Yamashita, I., (1998):** An extracellular meiosis-promoting factor in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* **14** 617–622.
75. **Henschke, P.A.; Rose, A.H. (1991):** Plasma membranes. 2nd ed., vol 4. *Yeast Organelles* (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 297-345.
76. **Holics, L. (1992):** Fizika. Műszaki Könyvkiadó, Budapest.
77. **Hu, Z.; Wen, Z. (2008):** Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment, *Biochemical Engineering Journal* **38** 369–378.
78. **Jakucs, E.; Vajna, L. (2003):** Mikológia, Agroinform Kiadó és Nyomda Kft, Budapest
79. **Jones, E.W.; Webb, G.C.; Hiller, M.A. (1997):** Biogenesis and function of the yeast vacuole. In: *The Molecular and Cellular Biology of the Yeast Saccharomyces. Cell Cycle and cell Biology* (J. R. Pringle, J. R. Broach, E. W. Jones, eds.) Cold Spring Harbor, New York **3** 363-470.
80. **Jun, W.; Jing-ping, Z.; Jian-ping, W.; Nai-zhang, X. (1999):** Modelling simultaneous heat and mass transfer for microwave drying on apple. *Drying Technology* **17** (9) 1927-1934.
81. **Jurasek, L. (1979):** Enzymic hydrolysis of pretreated aspen wood. *Developments in Industrial Microbiology* **20** 177-183.

82. **Kádár, Zs.; Szengyel, Zs.; Réczey, K. (2004):** Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. *Industrial Crops Production* **20** 103-110.
83. **Kállay, M. (2010):** Borászati kémia, Mezőgazda Kiadó, 94-95.
84. **Kállay, M.; Rácz, L. (2012):** Bortechnológiai folyamatok és kémiai alapjaik, (felelős kiadó: dr. Czeglédi László), Eger
85. **Kazai, J. (1999):** Borászati és üdítőital-ipari technológiai gyakorlat, FVM Képzési és Szaktanácsadási Intézet, Budapest 68-72.
86. **Khalil, H.; Vilotta, R. (1988):** Comparative study on injury and recovery of *Staphylococcus aureus* using microwaves and conventional heating. *Journal of Food Protection* **51 (3)** 181-186.
87. **Killian, R.E., Ough, C.S. (1979):** Fermentation esters-formation and retention as affected by fermentation temperature. *American Journal of Enology and Viticulture* **30** 301– 305.
88. **Kiranoudis, C.T.; Tsami, E.; Maroulis, Z.B. (1997):** Microwave vacuum drying kinetics of some fruits. *Drying Technology* **15 (10)** 2421-2440.
89. **Kleerebezem, M., Quadri, L.E.N., Kuipers, O.P., de Vos, W.M., (1997):** Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in Grampositive bacteria. *Molecular Microbiology* **24** 895–904.
90. **Kostoff, R.N.; Lau, C.Y.G. (2013):** Combined biological and health effects of electromagnetic fields and other agents in the published literature, *Technological Forecasting and Social Change*, **80 (7)** 1331-1349.
91. **Koutchma, T.; Ramaswamy, H.S. (2000):** Combined effects of microwave heating and hydrogen peroxide on the destruction of *Escherichia Coli*. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* **33** 30-36
92. **Krunal, D.; Dhara, P.; Vijay, K. (2012):** Effect of low power microwave on microbial growth, enzyme activity, and aflatoxin production, *Research in Biotechnology* **3 (4)** 28-34
93. **Kunkee, R.E. (1984):** Selection and modification of yeasts and lactic acid bacteria for wine fermentation, *Food Microbiology* **1** 315-332

94. **Kurtzmann, C., Fell, J.W. (1998):** The Yeasts, a Taxonomic Study 4th ed., Elsevier, Amsterdam
95. **Lafon-Lafourcade, S., (1983):** Wine and brandy. In: Rehm, H.J., Reed, G. (Eds.), Biotechnology. Food and Feed Production with Microorganisms, vol. 5. Verlag Chemie, Weinheim 81– 163.
96. **Laguerre, J.C.; Tauzin, V.; Grenier, E. (1999):** Hot air microwave drying of onions: A comparative study. *Drying Technology* **17 (7-8)** 1471-1480.
97. **Lakatos, E. (2006):** Folyékony élelmiszerek kezelése, különös tekintettel a mikrohullám tejre gyakorolt hatására, PhD értekezés, Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár
98. **Lakatos, E. (2009):** Mikrohullámmal intenzifikált enzimvizsgálatok, BSc Szakdolgozat. Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar, Szeged
99. **Lakatos, E.; Kovács, A.J.; Kapcsándi, V., Neményi, M. (2012):** Alacsony teljesítményű mikrohullámú sugárzás hatása a cellobiáz enzim működésére, *Acta Agronomica Óváriensis* **54 (1)** 3-11.
100. **Lakatos, E.; Kovács, A.J.; Szerencs,i Á.; Neményi, M. (2009):** Non-Thermal effect of microwave treatment on enzyme suspension. Part 2.: Cellulase enzyme activity, *Rewiev of Faculty of Engineering, Analecta Technica Szegedinensina* ISSN: 1788-6392 63-68.
101. **Lark, N.; Xia, Y.; QIN, C.G.; Gong, C.S.; Tsao, G.T. (1997):** Production of ethanol from recycled paper sludge using cellulase and yeast, *Kulyveromyces marxianus*. *Biomass and Bioenergy* **12** 135-143.
102. **Larsson, S.; Reimann, A.; Nilvebrant, N.O.; Jönsson, L.J. (1999):** Comparison of different methods for the detoxification of lignocellulose hydrolyzates of spruce. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 77-79 91-103.
103. **Lau, M.H.; Tang, J. (2002):** Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves. *Journal of Food Engineering*, **51 (4)** 283-290.
104. **Lavoisier, A. (1789):** *Traité Élémentair de Chimie, présenté dans un ordre nouveau, et d'après des découvertes modernes* (1 ed.), Paris: Cuchet, Libraire, retrieved

105. **Lee, J.C. (1991):** Ribosomes. In: The Yeasts 2nd ed., vol 4. Yeast Organelles (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 489-540.
106. **Lew, D.J. (2000):** Cell-cycle checkpoints that ensure coordination between nuclear and cytoplasmic events in *Saccharomyces cerevisiae*, Current Opinion in Genetics and Development **10** 47-53.
107. **Lin, W.; Sawyer, C. (1988):** Bacterial survival and thermal responses of beef loaf after microwave processing. International Microwave Power Institute **23** 183-194.
108. **Ludányi, L.; Szilágyi, M. (1998):** A mikrohullámú technika mint a korszerű szárítástechnológia eszköze. Mezőgazdasági Technika **39** 2-4.
109. **Ma, H.; Liu, W.; Chenc, X.; Wua, Y.; Yua, Z. (2009):** Enhanced enzymatic saccharification of rice straw by microwave pretreatment, Bioresource Technology **100** (3) 1279-1284.
110. **Magyar, I. (2010):** Borászati mikrobiológia, Borászat 3., Mezőgazda Kiadó, Budapest 32.
111. **Maisonnave, P.; Sanchez, I.; Moine, V.; Dequin, S.; Galeote, V. (2013):** Stuck fermentation: Development of a synthetic stuck wine and study of a restart procedure, International Journal of Food Microbiology **163** 239–247
112. **Márkus, P. (2005):** Borászati és üdítőital-ipari technológia I-II., , FVM Képzési és Szaktanácsadási Intézet, Budapest
113. **Mátay, G.; Zombory, L. (2000):** A rádiófrekvenciás sugárzás élettani hatásai és orvosbiológiai alkalmazásai, Műegyetem Kiadó, Budapest
114. **Medina, K.; Carrau, F.M.; Gioia, O.; Bracesco, N. (1997):** Nitrogen availability of grape juice limits killer yeast growth and fermentation activity during mixed-culture fermentation with sensitive commercial yeast strains. Applied and Environmental, Microbiology **63** 2821–2825.
115. **Mercz, Á. (1978):** A borászat gépesítése és automatizálása. Szőlő-Bor Inform **8** (1)
116. **Mercz, Á. (1999):** A must és a bor egyszerű kezelése, Mezőgazda Kiadó, Budapest 84-86.

117. **Moore, T. (1998):** Cytology and ultrastructure of yeasts and yeast-like fungi. In *The Yeast, a Taxonomic Study* (C. P. Kurtzman – J. W. Fell. eds.) Elsevier, Amsterdam, 4th ed. 33-44.
118. **Navarro, S., Pérez, G., Navarro, G., Mena, L., & Vela, N. (2007):** Variability in the fermentation rate and colour of young lager beer as influenced by insecticide and herbicide residues. *Food Chemistry* **105** 1495–1503.
119. **Neményi, M.; Lőrincz, A.; Lakatos, E. (2003):** Az ultrahangszugár fizikai paramétereinek változása a besugárzott anyagban. MTA-AMB 27. Kutatási-Fejlesztési Tanácskozás, Gödöllő, 2003. 01. 21-22., Proceedings, szerk. Dr. Tóth László 3. kötet 66-70.
120. **Nemestóthy, I. (2005):** Hagyományos és nem-konvencionális közegű összetett enzimreakció kinetikai vizsgálata Doktori (PhD) értekezés, Veszprémi Egyetem, Veszprém.
121. **Nilsson, A.; Taherzadeh, M.J.; Lidén, G. (2001):** Use of dynamic step response for control of fed-batch conversion of lignocellulosic hydrolysate to ethanol. *Journal of Biotechnology* **89** 41-53.
122. **Nyrop, I.E. (1946):** *Nature* (London) **157** 51.
123. **Orlean, P. (1997):** Biogenesis of yeast cell wall and surface components. In: *The Molecular and Cellular Biology of the Yeast Saccharomyces* vol. 3. Cell Cycle and Cell Biology (Pringle, J.R.; Broach, J.R.; Jones, E.W., eds.) Cold Spring Harbor Press 229-362.
124. **Öhgren, K.; Bengtsson, O.; Gorwa-Grauslund, M.F.; Galbe, M.; Hahn-Hägerdal, B.; Zacchi, G. (2006b):** Simultaneous saccharification and co-fermentation of glucose and xylose in steam-pretreated corn stover at high fiber content with *Saccharomyces cerevisiae* TMB3400. *Journal of Biotechnology* **126** 488-498.
125. **Öhgren, K.; Bura, R.; Saddler, J.; Zacchi, G.; (2007a):** Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover. *Bioresource Technology* **98** 2503-2510.
126. **Öhgren, K.; Galbe, M.; Zacchi, G.; (2005):** Optimization of steam pretreatment of SO₂-Impregnated corn stover for fuel ethanol production. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 1055-1067.

127. **Öhgren, K.; Rudolf, A.F.; Galbe, M.; Zacchi, G. (2006a):** Fuel ethanol production from steam-pretreated corn stover using SSF at higher dry matter content. *Biomass and Bioenergy* **30** 863-869.
128. **Öhgren, K.; Vehmaanperä, J.; Siika-Aho, M.; Galbe, M.; Viikari, L.; Zacchi, G. (2007b):** High temperature enzymatic prehydrolysis prior to simultaneous saccharification and fermentation of steam pretreated corn stover for ethanol production. *Enzyme and Microbial Technology* **40** 607-613.
129. **Pakhomov, A.G.; Akyel, Y.; Pakhomova, O.N.; Stuck, B.E.; Murphy, M.R. (2001):** Current state and implications of research on biological effects of millimeter waves. *Bioelectromagnetics* **19** (7) 393-413
130. **Pálfi, Zs.; Kristóf, Z. (2013):** A sejtbiológia alapjai, Eötvös Loránd Tudományegyetem. 108-122.
131. **Panagopoulos, D.J.; Karabarbounis, A.; Margaritis, L.H. (2002):** Mechanism for action of electromagnetic fields on cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications* **298** 95-102.
132. **Panek, A.D. (1991):** Storage carbohydrates. In: *The Yeasts* 2nd ed., vol 4. Yeast organelles (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 199-277.
133. **Papagianni, M.; Moo-Young, M. (2002):** Protease secretion in glucoamylase producer *Aspergillus niger* cultures: fungal morphology and inoculum effects. *Process Biochemistry* **37** 1271–1278.
134. **Pasteur, L. (1876):** *Studies on Fermentation*, London: Macmillan
135. **Piskur, J., Rozpedowska, E., Polakova, S., (2006):** How did *Saccharomyces* evolve to become a good brewer? *Trends in Genetics* **22** 183–186.
136. **Pozar, M.D. (1993):** *Microwave Engineering*, Addison-Wesley Publishing Company. ISBN 0-201-50418-9
137. **Puri, V.P.; Mamers, H. (1983):** Explosive pretreatment of lignocellulosics residues with high pressure carbon dioxide for the production of fermentation substrates. *Biotechnology and Bioengineering* **25** 3149-3161.

138. **Raghavan, G.S.V.; Venkatachalapathy, K. (1999):** Shrinkage of strawberries during microwave drying. *Drying technology* **17 (10)** 2309-2321.
139. **Rai, S.; Singh, U.P.; Mishra, G.D.; Singh, S.P.; Samarketu, S.P. (1994a):** Effect of Waters microwaves power density memory on fungal spore germination. *Electro- and Magnetobiology* **13 (3)** 247–252.
140. **Rai, S.; Singh, U.P.; Mishra, G.D.; Singh, S.P.; Samarketu, S.P. (1994b):** Additional evidence of stable EMF-induced changes in water revealed by fungal spore germination. *Electro- and Magnetobiology* **13 (3)** 253–259.
141. **Rajkó, R.; Szabó, G.; Kovács, E.; Papp, G.; Hotya, L. (1996):** Szójabab tripszininhibitor aktivitásának csökkentése mikrohullámú kezeléssel. *Élelmiszeripari Főiskola, Tudományos Közlemények* **18** 45-57.
142. **Ramaswamy, H.; van-de Voort, F.R.; Raghavan, G.S.V.; Lightfoot, D.; Tibers, G. (1991):** Feed-back temperature control system for microwave ovens using a shielded thermocouple. *Journal of Food Science* **56 (2)** 550-552, 555.
143. **Rao, S.R., Prakasham, R.S., Prasad, K.K., Rajesham, S., Sarma, P.N., Rao, L.V. (2004):** Xylitol production by *Candida sp.*: parameter optimization using Taguchi approach, *Process Biochemistry*. **(39) 8**, 951–956.
144. **Rattanadecho, P. (2005):** The simulation of microwave heating of wood using a rectangular wave guide: Influence of frequency and sample size. *Chemical Engineering Science* **14 (61)**, 4798–4811.
145. **Reczey, K.; Szengyel, Zs.; Eklund, R.; Zacchi, G. (1996):** Cellulase production by *T. reesei*, *Bioresource Technology* **57** 25-30.
146. **Reguera, G., (2011):** When microbial conversation get physical. *Trends in Microbiology* **19** 105–113.
147. **Reh, C.T.; Gerber, A. (2003):** Total solids determination in dairy products by microwave oven technique. *Food chemistry* **82** 125-131.

148. **Richard, P.; Bakker, B.M.; Teusink, B.; van Dam, K.; Westerhoff, H., (1996):** Acetaldehyde mediates the synchronization of sustained glycolytic oscillations in populations of yeast cells. *European Journal of Biochemistry* 235, 238–241.
149. **Rose, A.H and Harrison, J.S. (1968):** The yeasts. vol. 1, Biology of yeast, Academic Press. New York
150. **Rosenberg, U.; Bogl, W. (1987):** Microwave pasteurization, sterilization, blanching, and pest control in the food industry. *Food Technology* 41 92-99.
151. **Rudolf, A.; Galbe, M.; Lidén, G. (2004):** Controlled fed-batch fermentations of dilute-acid hydrolysate in pilot development unit scale. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 113-116 601-618.
152. **Rupe, I. (2002):** Checking cell size in yeast. *Trends in Genetics*, 18 479-485
153. **Sablayrolles, J.M. (1996):** Sluggish and stuck fermentations. Effectiveness of ammonium nitrogen and oxygen addition. *Weingut Weiss* 51 147-151.
154. **Schubert, H.; Regier, M. (2005):** The microwave processing of foods. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England
155. **Schwencke, J. (1991):** Vacuoles, internal membranous systems and vesicles. In: *The Yeasts* 2nd ed., vol 4. *Yeast Organelles* (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 347-432.
156. **Severin, F.F.; Meer, M.V.; Smirnova, E.A.; Knorre, D.A.; Skulachev, V.P. (2008):** Natural causes of programmed death of yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research* 1783 1350-1353.
157. **Sieber, R.; Eberhard, P.; Gallmann, P.U. (1996):** Heat treatment of milk in domestic microwave oven. *International Dairy Journal* 6 231-246.
158. **Sinclair, D.A.; Mills, K.; Guarente, L. (1998):** Molecular mechanism of yeast aging. *TIBS* 23 131-134.
159. **Singh, R.P.; Heldman, D.R. (2001):** Introduction to Food Engineering. Academic Press London. ISBN 0-12-676757-2

160. **Sjöström, E. (1981):** Fundamentals and Applications of Wood Chemistry, Sjöström, E. (Ed): Wood Chemistry, Academic Press Inc., New York 223-245.
161. **Spite, G.T. (1984):** Microwave-inactivation of bacterial pathogens in various controlled frozen food compositions and in a commercially available frozen food product. *Journal of Food Protection* **47** 458-462.
162. **Srivastava, S.K.; Gopalkrishnan, K.S.; Ramachandran, K.B. (1987):** The production of β -glucosidase in shake-flasks by *Aspergillus wentii*. *Journal of Fermentation Technology* **65** 95-99.
163. **Stanbury, P.F.; Whitaker, A.; Hall, S.J. (1995):** Principles of fermentation technology, (2nd ed.) ISBN 0 7506 4501 6
164. **Sternberg, D.; Vijakumar, P.; Reese, E.T. (1977):** β -glucosidase: microbial production and effect of enzymatic hydrolysis of cellulose. *Canadian Journal of Microbiology* **23** 139-147.
165. **Stevens, D.J.; Worgetten, M.; Saddler, J. (2004):** Biofuels for transportation: an examination of policy and technical issues. IEA Bioenergy Task 39. Liquid Biofuels Final Report. Canada 2001-2003.
166. **Stradford, M. (1994):** Another brick in the wall? Recent developments concerning the yeast cell envelope. *Yeast* **10 (13)** 1741–1752.
167. **Strehaiano, P.; Goma G. (1983):** Effect of initial substrate concentration on two wine yeasts: relation between glucose sensitivity and ethanol inhibition. *American Journal of Enology and Viticulture*. **34** 1-5.
168. **Sun, T.; Tang, J.M.; Powers, J.R. (2007):** Antioxidant activity and quality of asparagus affected by microwave-circulated water combination and conventional sterilization. *Food Chemistry* **100 (2)** 813–819.
169. **Susskind, C.; Vogelhut, P.O. (1959):** In: Proceedings of the Third Annual TriService Conference on Biological Effects of Microwave Radiation Equipment, US Department of Commerce, Springfield, Virginia 46–53.

170. **Sutton W.S. (1992):** Microwave processing of ceramics-an overview. In: Beatty, R.L., Sutton, W.S., Iskander, M.F. (Eds.), Microwave Processing of Materials III, vol. 269. Materials Research Society, Pittsburgh 3-20.
171. **Szabó, G. (1990a):** Gyorsfagyasztott élelmiszerek mikrohullámú felengedtetése üregrezonátoros térben. *Hűtőipar* **1** 14-20.
172. **Szabó, G. (1990b):** Élelmiszer- és biotechnológiai műveletek intenzifikálása mikrohullámú energiával. IV. Vegyipari gépészeti konferencia. Budapest, május 30. – június 1. 405-419.
173. **Szabó, G. (1991):** A mikrohullámú technika alkalmazása az élelmiszeripari és biotechnológiai gyakorlatban. *Szeszipar* **4** 124-127.
174. **Szabó, G. (1993):** Intensification of food and biotechnological operations by microwave energy, *Acta Alimentaria* **22 (3)** 264.
175. **Szabó, G. (1994):** A mikrohullámú melegítés hőtranszport modelljének kidolgozása dimenzióanalízissel. *Élelmiszeripari Főiskola, Tudományos Közlemények* **17** 23-29.
176. **Szabó, G.; Dörnyei, J.; Szilágyi, J. (1987):** A mikrohullámú energia hatása vérplazma és szintelenített teljes vérpor diszperz szerkezetének alakulására az agglomerálási-szárítási folyamat során. *Élelmiszeripari Főiskola, Tudományos Közlemények* **14** 81-87.
177. **Szabó, G.; Hodúr, C.; László, Zs.; Fehér, L.; Fekete, M.; Horváthné, A. K.; Baráné, H.O. (2002a):** A termékbiztonság növelése alternatív hőkezeléssel. XXIX. ÓVÁRI Tudományos Napok, Mosonmagyaróvár, CD ROM
178. **Szabó, G.; Hodúr, C.; László, Zs.; Fehér, L.; Halászné, F.M.; Horváthné, A.K.; Baráné, H.O. (2002b):** Mikrohullámú hőkezelés hatásai húsipari termék esetében. V. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia, Szeged, CD ROM
179. **Szabó, G.; Rajkó, R. (1995):** A mikrohullámú technika alkalmazása élelmiszeripari műveletekben-eljárásokban. *Élelmiszeripari és Vegyipari Gépek a Gyakorlatban '95 Konferencia és Kiállítás c. kiadvány, Gyula, 1995. október 10-11. 76-82.*

180. Szabó, G.; Rajkó, R.; Kovács, E.; Vidal, C. (1998): Designed experiments for reducing antinutritive agents in soybean by microwave energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45** 3565-3569.
181. Szabó, S. (2012): Hogyan végezzem az alkoholos erjesztést? Erjedés- és tartósítóiipari nyersanyag-feldolgozás. Nemzeti Szakképzési és Felnőttképzési Intézet 6-11.
182. Szerencsi, Á. (2011): A mikrohullám hatása pékélesztőre, PhD disszertáció, Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár
183. Szerencsi, Á., Lakatos, E., Kovács, A. J., Neményi, M. (2009): Nonthermal effect of microwave treatment on enzyme suspensions Part 1.: Water electrolysis Review of Faculty of Engineering, *Analecta Technica Szegedinensina*, Szeged, 2009, Norma Nyomdász Kft. Kiadó és Nyomda, ISSN: 1788-6392, 58-62.
184. Tajchakavit, S.; Ramaswamy, H.S.; Fustier, P. (1998): Enhanced destruction of spoilage microorganisms in apple juice during continuous flow microwave heating. *Food Research International Food Research International* **31** (10) 713-722.
185. Tang, Z.W., Mikhaylenko, G., Liu, F., Mah, J.H., Pandit, R., Younce, F., Tang, J.M., (2008): Microwave sterilization of sliced beef in gravy in 7-oz trays. *Journal of Food Engineering* **89** (4) 375–383.
186. Tenborg, C.; Stenberg, K.; Galbe, M.; Zacchi, G.; Larsson, S.; Palmquist, E.; Hahn-Hägerdal, B. (1998): Comparison of SO₂ and H₂SO₄ impregnation of softwood prior to steam pretreatment on ethanol production, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 70-72 3-15.
187. Tkalec, M.; Malaric, K.; Pevalek-Kozlina, B. (2005): Influence of 400, 900, and 1900 MHz electromagnetic fields on *Lemna minor* growth and peroxidase activity, *Bioelectromagnetics* **26** 185-193.
188. Valero, E.; Villamiel, M.; Sanz, J.; Martínez-Castro, I. (2000): Chemical and sensorial changes in milk pasteurised by microwave and conventional systems during cold storage. *Food Chemistry* **70** (1) 77-81.

189. **Van der Rest, M.E.; Kamminga, A.H.; Nakanoi, A.; Anraku, Y.; Poolman, B.; Donings, W.N. (1995):** The plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae*: structure, function and biogenesis. *Microbiology Review* **59** 304-322.
190. **Veenhuis, M.; Harder, W. (1991):** Microbodies. . In: *The Yeasts* 2nd ed., vol 4. *Yeast Organelles* (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 601-653.
191. **Venkatesh, M.S., Raghavan, G.S.V., (2004):** An overview of microwave processing and dielectric properties of agri-food materials. *Biosystems Engineering* **88** (1) 1–18.
192. **Villamiel, M.; Del Castillo, D.; San Martin, C.; Corzo, N. (1998):** Assessment of the thermal treatment of orange juice during continuous microwave and conventional heating. *Journal of Science Food Agricultural* **78** 196-200.
193. **Vrhovac, I.; Hrascan, R.; Franekic, J. (2010):** Effect of 905 MHz microwave radiation on colony growth of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* strains FF18733, FF1481 and D7. *Radiology and Oncology* **44** (2) 131-134.
194. **Wang, Y.; Wig, T.D.; Tang, J.; Hallberg, L.M. (2003):** Dielectric properties of foods relevant to RF and microwave pasteurization and sterilization. *Journal of Food Engineering* **57** (3) 257-268.
195. **Waters, C.M.; Bassle,r B.L. (2005):** Quorum sensign: cell-to-cell communication in bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **21** 319-346.
196. **Williamson, D.H. (1991):** Nucleus, chromosomes and plasmids. . In: *The Yeasts* 2nd ed., vol 4. *Yeast Organelles* (A. H. Rose – J. S. Harrison, eds.) Academic Press, London 433-488.
197. **Wood, T.M.; Campayo, G.V. (1990):** Enzymology of cellulose degradation. *Biodegradation* **1** 147-161.
198. **Wu, Y., Yao, M. (2010):** Inactivation of bacteria and fungus aerosols using microwave irradiation. *Journal of Aerosol Science* **41** 682–693.
199. **Yen, A.C.; Lui, S. (1934):** *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **31** 1250.
200. **Zeikus J.G. (1980):** Chemical and fuel production by anaerobic bacteria. *Annual Review of Microbiology* **34** 423-464.

201. **Zhang, Q.; Damit, B.; Welch, J.; Park, H.; Wu, C.Y.; Sigmund, W. (2010):** Microwave assisted nanofibrous air filtration for disinfection of bioaerosols. *Journal of Aerosol Science* **41** 880–888.
202. **Zheng, S-W.; Qi-Lin, Huang, Q-L.; Zhao, S-M. (2014):** Effects of microwave irradiation dose and time on Yeast ZSM-001 growth and cell membrane permeability, *Food Control* 46.
203. **Zhou, L.; Puri, V.M.; Anatheswaran, R.C. (1994):** Effect of temperature gradient on moisture migration during microwave heating. *Drying technology* **12 (4)** 777-798.
204. **Zhu, S.; Wu, Y.; Yu, Z.; Zhang, X.; Li, H.; Gao, M. (2006):** The effect of microwave irradiation on enzymatic hydrolysis of rice straw. *Bioresource Technology* **97** 1964–1968
205. **URL¹:**http://hu.wikipedia.org/wiki/Elektrom%C3%A1gneses_sug%C3%A1rz%C3%A1s (2015.04.21.)
206. **URL²:**http://mkk.szie.hu/dep/aeet/tanweb/tapelet/rost_hm/index_rost.htm (Rigó János: Dietetika, Egészségügyi szakiskolások tankönyve, Medicina Könykiadó Zrt, Budapest, 2007. alapján)
207. **URL³:** <http://www.aber.ac.uk/fungi/fungi/taxonomy.htm> (2005)
208. **URL⁴:** <http://palinkafozo.superwebaruhaz.hu/category/37973>
209. **URL⁵:** <http://www.pointernet.pds.hu/ujsagok/agraragazat/2005/08/> (2009.01.03.)

JELMAGYARÁZAT

$\bar{C}$	telepszám súlyozott középértéke
b	a vizsgált bor térfogata cm^3 -ben
d	első értékelt hígítási szint hígítási foka
E	elektromos térerősség [V/cm];
ES	intermedier komplex
f	$0,1 \text{ mol/dm}^3$ NaOH oldat faktora
f	frekvenciája [$1/\text{s}$]
f'	frekvencia [Hz];
n_1	a legalacsonyabb kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma
n_2	a következő kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma
P_D	disszipált energia [W/cm^3];
PE	reakció végterméke
S	szubsztrát
T	az 1 cm^3 $0,1 \text{ mol/dm}^3$ NaOH által mért borkősav (gramm)
$\tan \delta$	veszteség tangens
V	lemezre vitt kultúra mennyisége
v	sebessége [m/s]
Σc	a számításba bevont valamennyi lemez telepeinek összege (legalacsonyabb és az azt követő kiértékelhető hígítási fokok)
ε'	dielektromos állandó;
λ	elektromágneses hullámok hullámhossza, [m]
1000	1 liter borra vonatkozó átszámítási tényező

MELLÉKLETEK

I. MELLÉKLET

A *Saccharomyces cerevisiae* szaporodási görbájének eredményei (OD)

Idő (óra)	1. ism.	2. ism.	3. ism.	ÁTLAG
0	0,19	0,19	0,21	0,197
1	0,19	0,2	0,21	0,200
2	0,21	0,2	0,22	0,210
3	0,22	0,23	0,23	0,227
4	0,25	0,26	0,24	0,250
5	0,26	0,24	0,28	0,260
6	0,29	0,28	0,27	0,280
7	0,34	0,32	0,3	0,320
8	0,36	0,31	0,38	0,350
9	0,52	0,32	0,4	0,413
10	0,49	0,47	0,47	0,477
11	0,51	0,53	0,52	0,520
12	0,59	0,54	0,56	0,563
13	0,62	0,58	0,59	0,597
14	0,67	0,63	0,6	0,633
15	0,7	0,66	0,66	0,673
16	0,73	0,69	0,7	0,707
17	0,75	0,72	0,72	0,730
18	0,74	0,76	0,74	0,747
19	0,76	0,75	0,75	0,753

II. MELLÉKLET

A *Saccharomyces cerevisiae* szaporodási görbéjének eredményei (OD) különböző kezelések hatására

Idő (óra)	Átlag		
	Kontroll	Kezelt víz	Együtt kezelt
0	1,92	1,92	1,92
1	2,26	2,12	1,96
2	2,33	2,34	2,39
3	2,42	2,84	2,38
4	2,87	3,20	2,86
5	3,28	4,17	3,49
6	4,10	4,44	4,15
7	4,77	4,86	4,75
8	5,23	5,69	5,17
9	5,66	5,94	5,60
10	6,42	6,16	5,75
11	6,54	6,45	6,18
12	6,93	7,17	7,27
13	7,22	7,54	7,69
14	7,48	7,89	7,98
15	7,63	8,07	8,49
16	7,95	8,31	8,74
17	7,98	8,40	8,85
18	8,00	8,42	8,85

III. MELLÉKLET

A *Saccharomyces cerevisiae* szaporodási görbéjének eredményei (OD) különböző kezelések hatására 50 W-os besugárzás hatására.

Idő (óra)	Konroll			Átlag
0	2,84	2,81	2,84	2,83
1	2,84	2,81	2,91	2,85
2	3,33	3,37	3,37	3,36
3	3,73	3,74	3,88	3,78
4	4,26	4,22	4,28	4,25
5	4,5	4,56	4,57	4,54
6	4,76	4,76	4,72	4,75
7	4,97	4,95	4,95	4,96
8	5,16	5,19	5,22	5,19
9	5,55	5,54	5,52	5,54
10	5,73	5,79	5,65	5,72
11	5,92	5,96	5,99	5,96
12	6,11	6,19	6,16	6,15
13	6,27	6,29	6,21	6,26
14	6,29	6,27	6,22	6,26
	Hagyományos			Átlag
0	2,84	2,81	2,84	2,83
1	2,86	2,82	2,81	2,83
2	3,1	3,14	3,13	3,12
3	3,9	3,87	3,87	3,88
4	4,36	4,4	4,39	4,38
5	4,65	4,69	4,65	4,66
6	4,99	4,86	4,89	4,91
7	5,26	5,23	5,24	5,24
8	5,4	5,39	5,37	5,39
9	5,69	5,65	5,62	5,65
10	5,72	5,71	5,71	5,71
11	5,89	5,88	5,88	5,88
12	5,96	5,97	5,99	5,97

13	6,09	6,11	6,1	6,10
14	6,12	6,16	6,13	6,14
	Mikrohullám			Átlag
0	2,84	2,81	2,84	2,83
1	2,97	2,98	2,84	2,93
2	3,24	3,2	3,22	3,22
3	4,19	4,26	4,24	4,23
4	4,56	4,51	4,48	4,52
5	4,71	4,72	4,73	4,72
6	5,06	5,02	4,97	5,02
7	5,36	5,31	5,32	5,33
8	5,48	5,49	5,47	5,48
9	5,69	5,71	5,69	5,70
10	5,91	5,9	5,89	5,90
11	6,12	6,16	6,08	6,12
12	6,2	6,29	6,18	6,22
13	6,32	6,3	6,32	6,31
14	6,38	6,4	6,39	6,39

IV. MELLÉKLET

Az élesztő erjesztési aktivitásának eredményei Minifors fermentorban

	2013. május 16.	
	Kontroll	Mikrohullám
Idő (nap)	Abszorbania	
0	2,622	2,635
	2,628	2,639
	2,631	2,628
1	2,523	2,438
	2,515	2,441
	2,496	2,446
2	1,862	1,622
	1,871	1,628
	1,879	1,635
3	0,886	0,323
	0,888	0,323
	0,89	0,324
7	0,09	0,196
	0,091	0,195
	0,093	0,192
11	0,097	0,165
	0,09	0,162
	0,091	0,169

V. MELLÉKLET

Az élesztő erjesztési aktivitásának eredményei kis és nagy fermentorban, 7 órás mikrohullámú kezelés hatására.

	Kontroll		
Idő (nap)	Abszorbancia		
0	1,856	1,860	1,865
2	1,395	1,403	1,410
3	1,401	1,404	1,409
4	1,16	1,161	1,163
7	0,807	0,81	0,814
8	0,784	0,785	0,786
9	0,731	0,731	0,733
10	0,578	0,579	0,58
11	0,47	0,471	0,471
14	0,36	0,361	0,362
	Mikrohullám		
	Abszorbancia		
0	1,953	1,958	1,961
2	1,540	1,560	1,566
3	1,339	1,343	1,346
4	1,138	1,139	1,139
7	0,923	0,931	0,94
8	0,803	0,81	0,814
9	0,801	0,802	0,801
10	0,603	0,605	0,605
11	0,47	0,471	0,471
14	0,36	0,361	0,362

VI. MELLÉKLET

Az élesztő erjesztési aktivitásának eredményei kis és nagy fermentorban összehasonlítva

Idő (nap)	Abszorbancia		
	Kontroll	Erjesztés előtt kezelt	Folyamatosan kezelt
0	2,699	2,7	2,696
	2,702	2,702	2,698
	2,701	2,691	2,703
1	2,642	2,56	2,636
	2,646	2,525	2,632
	2,664	2,519	2,625
2	2,342	2,345	2,386
	2,346	2,343	2,389
	2,346	2,314	2,401
3	2,331	2,2	2,268
	2,317	2,21	2,251
	2,312	2,241	2,25
4	2,002	1,862	1,892
	1,996	1,871	1,905
	1,995	1,868	1,899
7	1,411	1,468	1,631
	1,423	1,475	1,634
	1,436	1,483	1,638
8	0,922	0,97	1,187
	0,924	0,971	1,184
	0,925	0,972	1,187
9	0,584	0,609	0,903
	0,586	0,611	0,906
	0,587	0,612	0,908
10	0,354	0,503	0,559
	0,354	0,505	0,561
	0,356	0,507	0,563
13	0,302	0,432	0,493
	0,306	0,43	0,492
	0,312	0,441	0,496

VII. MELLÉKLET

A cukor-, alkohol- és savtartalom változása az erjedés során 1 sorozat

	Mustfok (MM °)			
Idő (nap)	Kontroll	Mikrohullám	Élesztő	Mikrohullám+élesztő
0	17	17	17	17
8	13,2	12	11	10
12	10	9	7,5	6,5
16	8,5	8	6,5	6
20	7	6,5	6	6
24	6,5	6	6	6
28	6	6	6	6
	Alkoholtartalom (v/v %)			
Idő (nap)	Kontroll	Mikrohullám	Élesztő	Mikrohullám+élesztő
0	0	0	0	0
4	5,2	6	5,8	6,5
8	6,1	6,2	6,6	6,9
12	8,9	9,8	10,2	11,1
16	11,1	11,2	12	12,3
20	11,2	11,6	12,1	12,5
24	11,6	12,1	12,2	12,6
28	11,6	12,2	12,2	12,6
	Savtartalom (g/l)			
Idő (nap)	Kontroll	Mikrohullám	Élesztő	Mikrohullám+élesztő
4	5,1	5,4	5,5	5,8
8	6,1	6,2	6,2	6,1
12	6	6,6	6,1	5,9
16	6,3	6,4	5,6	5,6
20	6,3	6,4	5,5	5,6
24	6,3	6,4	5,55	5,45
28	6,25	6,15	5,45	5,2

VIII. MELLÉKLET

A cukor-, alkohol- és savtartalom változása az erjedés során 2. sorozat

Mustfok (MM)						
Idő (nap)	Kontroll	Hagyományosan melegített	Mikrohullám	Élesztős	Hagyományos + élesztő	Mikrohullám + élesztő
0	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2
1	15,2	14	13,5	13,5	14,9	15
2	15	14	13,5	13,5	10,5	10,5
3	14	13	13	12,5	10	9,5
5	12,5	12	11,5	9,5	7	8,5
7	11	11	10	7	6	6,5
9	10,5	10,5	9,5	6,5	5,5	6
12	9	9	8	6	5,5	5,5
14	8	8,5	7	5,5	5,5	5,5
16	7	7	6,5	5,5	5,5	5,5
19	6	6	6	5,5	5,5	5,5
23	6	6	5,5	5,5	5,5	5,5
Alkoholtartalom (v/v %)						
Idő (nap)	Kontroll	Hagyományosan melegített	Mikrohullám	Élesztős	Hagyományos + élesztő	Mikrohullám + élesztő
0	0	0	0	0	0	0
1	0,1	0,2	0,25	0,1	0,25	0,2
2	0,4	1	1,2	1,1	2,3	3,1
3	1,2	1,4	2	2,6	4,6	4,8
5	3,4	6,2	4,4	7,2	9,4	8,4
7	5,6	6,4	5,8	8,6	9,6	8,8
9	5,8	6,6	6	9	10	9,6
12	7	7	7,8	9,4	10,2	10
14	7,8	7,6	8,4	9,6	10,4	10,2
16	9,2	9	9,8	10	10,4	10,2
19	9,6	9,4	9,8	10	10,4	10,2
23	9,8	10	9,8	10	10,4	10,2

Idő (nap)	Savtartalom (g/l)					
	Kontroll	Hagyományos melegített	Mikrohullá m	Élesztős	Hagyományos + élesztő	Mikrohullá m + élesztő
0	4,30	4,30	4,3	4,3	4,3	4,3
1	4.55	4.48	4,45	4,47	4,22	4,72
2	4.33	4.72	5,13	4,87	5,28	5,53
3	4.97	5.38	5,63	5,8	5,97	5,75
5	5.45	5.62	6	5,62	6,12	5,73
7	5.52	5.35	5,98	5,37	5,4	5,58
9	5.47	5.72	5,78	5,05	5,52	5,35
12	5.37	5.82	5,78	5,35	5,63	5,38
14	5.39	5.77	5,68	5,05	5,38	5,38
16	5.37	5.82	5,78	5,35	5,63	5,38
19	5.73	5.88	5,72	5,28	5,22	5,17
23	5.63	5.62	5,82	5,22	5,52	5,35

IX. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis a must erjedésére vonatkozóan az első mérőssorozat eredményei alapján, alkoholtartalom tekintetében.

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
Kontroll	7	65,7	9,3857143	7,4314286
Mikrohullám	7	69,1	9,8714286	7,2690476
Élesztő	7	68,4	9,7714286	12,522381
Mikrohullám+élesztő	7	75	10,714286	7,8447619

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	6,578571429	3	2,1928571	0,250129	0,8604379	3,0087866
Csoporton belül	210,4057143	24	8,7669048			
Összesen	216,9842857	27				

X. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis és kétmintás T-próba az erjedés 12-28. napján az első méréssorozat eredményei alapján (kontroll – mikro+élesztő), alkoholtartalom tekintetében.

Kontroll - Mikro + élesztő (12-28. nap)

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
Kontroll	5	54,4	10,88	1,277
Mikrohullám + élesztő	5	61,6	12,32	0,467

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	5,184	1	5,184	5,9449541	0,0406768	5,3176551
Csoporton belül	6,976	8	0,872			
Összesen	12,16	9				

Kétmintás t-próba egyenlő szórásnégyzeteknél

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	10,88	12,32
Variancia	1,277	0,467
Megfigyelések	5	5
Súlyozott variancia	0,872	
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	8	
t érték	-2,4382277	
P(T<=t) egyszélű	0,0203384	
t kritikus egyszélű	1,859548	
P(T<=t) kétszélű	0,0406768	
t kritikus kétszélű	2,3060041	

XI. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis és kétmintás T-próba a must erjedésére vonatkozóan a második mérssorozat eredményei alapján, alkoholtartalom tekintetében.

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
Kontroll	12	69,9	5,376923	15,41692
Hagyományos	12	74,8	6,233333	12,34788
Mikrohullám	12	75,05	6,254167	12,78975
Élesztő	12	87,6	7,3	14,16545
Hagyományos+élesztő	12	98,35	8,195833	13,25566
Mikrohullám+élesztő	12	95,9	7,991667	11,51356

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	76,80609545	5	15,36122	1,156668	0,339716	2,351658
Csoporton belül	889,7984936	67	13,28057			
Összesen	966,604589	72				

3. nap-14. nap

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
Kontroll	6	30,8	5,1333333	5,9466667
Hagyományos	6	35,2	5,8666667	5,0346667
Mikrohullám	6	34,4	5,7333333	5,4346667
Hagyományos	6	46,4	7,7333333	7,0506667
Hagyományos+élesztő	6	54,2	9,0333333	4,8546667
Mikrohullám+élesztő	6	51,8	8,6333333	4,0066667

VARIANCIANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	82,2622222	5	16,452444	3,0535346	0,024078	2,5335545
Csoporton belül	161,64	30	5,388			
Összesen	243,902222	35				

kontroll-hagyományos+élesztő

Kétmintás t-próba egyenlő szórásnégyzeteknél

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	5,13333333	9,03333333
Variancia	5,94666667	4,85466667
Megfigyelések	6	6
Súlyozott variancia	5,40066667	
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	10	
t érték	-2,9067089	
P(T<=t) egyszélű	0,00782635	
t kritikus egyszélű	1,8124611	
P(T<=t) kétszélű	0,0156527	
t kritikus kétszélű	2,22813884	

kontroll- mikro+élesztő

Kétmintás t-próba egyenlő szórásnégyzeteknél

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	5,13333333	8,63333333
Variancia	5,94666667	4,00666667
Megfigyelések	6	6
Súlyozott variancia	4,97666667	
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	10	
t érték	-2,7174364	
P(T<=t) egyszélű	0,01082771	
t kritikus egyszélű	1,8124611	
P(T<=t) kétszélű	0,02165541	
t kritikus kétszélű	2,22813884	

XII. MELLÉKLET

Magyar mustfok átszámítása g/l-be.

Magyar Mustfok átszámító táblázat				
Mustfok	Cukortartalom	Sűrűség	Cukortartalom	Várható alkoholtartalom
MM°	g/l		g/kg	V/V %
17,5 °C-on	17,5 °C-on	17,5 °C-on		20 °C-on
10,0	94,1	1,04607	90,0	5,58
10,5	100,0	1,04855	95,4	5,93
11,0	105,9	1,05104	100,8	6,28
11,5	111,8	1,05353	106,1	6,62
12,0	117,8	1,05604	111,5	6,98
12,5	123,9	1,05856	117,0	7,34
13,0	129,9	1,06108	122,4	7,68
13,1	131,1	1,06159	123,5	7,75
13,2	132,3	1,06209	124,6	7,83
13,3	133,6	1,06260	125,7	7,90
13,4	134,8	1,06310	126,8	7,98
13,5	136,0	1,06361	127,9	8,05
13,6	137,2	1,06412	129,0	8,12
13,7	138,4	1,06463	130,0	8,20
13,8	139,7	1,06514	131,1	8,27
13,9	140,9	1,06565	132,2	8,35
14,0	142,1	1,06616	133,3	8,42
14,1	143,3	1,06667	134,4	8,49
14,2	144,5	1,06718	135,4	8,56
14,3	145,8	1,06769	136,5	8,63
14,4	147,0	1,06820	137,6	8,70
14,5	148,2	1,06871	138,7	8,77
14,6	149,4	1,06922	139,7	8,84
14,7	150,6	1,06974	140,8	8,91
14,8	151,9	1,07025	141,9	8,98
14,9	153,1	1,07077	143,0	9,05
15,0	154,3	1,07128	144,0	9,12
15,1	155,5	1,07180	145,1	9,20
15,2	156,8	1,07232	146,2	9,27
15,3	158,0	1,07283	147,3	9,35
15,4	159,3	1,07335	148,4	9,42
15,5	160,5	1,07387	149,5	9,50
15,6	161,7	1,07439	150,5	9,57
15,7	163,0	1,07491	151,6	9,65

Mustfok	Cukortartalom	Sűrűség	Cukortartalom	Várható alkoholtartalom
MM°	g/l		g/kg	V/V %-ban
17,5 °C-on	17,5 °C-on	17,5 °C-on		20 °C-on
15,8	164,2	1,07542	152,7	9,72
15,9	165,5	1,07594	153,8	9,80
16,0	166,7	1,07646	154,9	9,87
16,1	167,9	1,07698	155,9	9,94
16,2	169,2	1,07750	157,0	10,01
16,3	170,4	1,07803	158,1	10,08
16,4	171,7	1,07855	159,2	10,15
16,5	172,9	1,07907	160,2	10,22
16,6	174,2	1,07959	161,3	10,30
16,7	175,4	1,08011	162,4	10,37
16,8	176,7	1,08063	163,5	10,45
16,9	177,9	1,08115	164,6	10,52
17,0	179,2	1,08167	165,7	10,60
17,1	180,5	1,08219	166,8	10,67
17,2	181,7	1,08272	167,8	10,75
17,3	183,0	1,08324	168,9	10,82
17,4	184,2	1,08377	170,0	10,89
17,5	185,5	1,08429	171,1	10,97
17,6	186,8	1,08482	172,2	11,04
17,7	188,0	1,08534	173,2	11,12
17,8	189,3	1,08587	174,3	11,19
17,9	190,5	1,08639	175,4	11,27
18,0	191,8	1,08692	176,5	11,34
18,1	193,1	1,08745	177,6	11,41
18,2	194,4	1,08798	178,6	11,49
18,3	195,6	1,08852	179,7	11,56
18,4	196,9	1,08905	180,8	11,64
18,5	198,2	1,08958	181,9	11,71
18,6	199,5	1,09011	183,0	11,78
18,7	200,7	1,09064	184,0	11,86
18,8	202,0	1,09117	185,1	11,93
18,9	203,2	1,09170	186,2	12,01
19,0	204,5	1,09223	187,2	12,08
19,1	205,8	1,09276	188,3	12,15
19,2	207,1	1,09330	189,4	12,23
19,3	208,3	1,09383	190,5	12,30
19,4	209,6	1,09437	191,5	12,38

Mustfok	Cukortartalom	Sűrűség	Cukortartalom	Várható alkoholtartalom
MM°	g/l		g/kg	V/V %-ban
17,5 °C-on	17,5 °C-on	17,5 °C-on		20 °C-on
19,5	210,9	1,09490	192,6	12,45
19,6	212,2	1,09544	193,7	12,53
19,7	213,5	1,09598	194,8	12,60
19,8	214,7	1,09651	195,8	12,68
19,9	216,0	1,09705	196,9	12,75
20,0	217,3	1,09759	198,0	12,83
20,1	218,6	1,09813	199,1	12,91
20,2	219,9	1,09866	200,2	12,98
20,3	221,2	1,09920	201,2	13,06
20,4	222,5	1,09973	202,3	13,13
20,5	223,8	1,10027	203,4	13,21
20,6	225,1	1,10081	204,5	13,29
20,7	226,4	1,10135	205,5	13,36
20,8	227,6	1,10190	206,6	13,44
20,9	228,9	1,10244	207,6	13,51
21,0	230,2	1,10298	208,7	13,59
21,1	231,5	1,10352	209,8	13,67
21,2	232,8	1,10406	210,9	13,75
21,3	234,1	1,10461	211,9	13,82
21,4	235,4	1,10515	213,0	13,90
21,5	236,7	1,10569	214,1	13,98
21,6	238,0	1,10623	215,1	14,05
21,7	239,3	1,10678	216,2	14,13
21,8	240,6	1,10732	217,3	14,20
21,9	241,9	1,10787	218,3	14,28
22,0	243,2	1,10841	219,4	14,35
22,1	244,5	1,10896	220,5	14,43
22,2	245,8	1,10951	221,5	14,51
22,3	247,1	1,11006	222,6	14,58
22,4	248,4	1,11061	223,7	14,66
22,5	249,7	1,11116	224,7	14,74
22,6	251,0	1,11171	225,8	14,82
22,7	252,3	1,11226	226,8	14,89
22,8	253,6	1,11280	227,9	14,97
22,9	254,9	1,11335	228,9	15,04
23,0	256,2	1,11390	230,0	15,12
23,5	262,7	1,11667	235,3	15,51

Mustfok	Cukortartalom	Sűrűség	Cukortartalom	Várható alkoholtartalom
MM°	g/l		g/kg	V/V %-ban
17,5 °C-on	17,5 °C-on	17,5 °C-on		20 °C-on
24,0	269,2	1,11944	240,5	15,89
24,5	275,8	1,12223	245,8	16,28
25,0	282,4	1,12502	251,0	16,66
25,5	289,1	1,12782	256,3	17,02
26,0	295,8	1,13064	261,6	17,46
26,5	302,5	1,13347	266,9	17,85
27,0	309,2	1,13633	272,1	18,23
27,5	315,9	1,13918	277,3	Több alkohol erjedés útján nem keletkezik
28,0	322,7	1,14404	282,1	
28,5	329,5	1,14492	287,8	
29,0	336,8	1,14781	293,4	
29,5	343,1	1,15072	298,2	
30,0	350,3	1,15364	303,6	

XIII. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis és kétmintás t-próba az autokláv+kezeletlen enzim” és a „mikrohullám+kezeletlen enzim” tekintetében. (49. ábra)

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
Autokláv+kezeletlen enzim	21	59,31634	2,824587	1,143405
Mikrohullám+kezeletlen enzim	21	67,35097	3,207189	1,997408

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	1,53703192	1	1,537032	0,978748	0,328455	4,084746
Csoporton belül	62,81624503	40	1,570406			
Összesen	64,35327695	41				

Kétmintás t-próba egyenlő szórásnégyzeteknél

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	2,82458748	3,20718909
Variancia	1,143404562	1,997407689
Megfigyelések	21	21
Súlyozott variancia	1,570406126	
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	40	
t érték	-0,989316957	
P(T<=t) egyszélű	0,16422755	
t kritikus egyszélű	1,683851013	
P(T<=t) kétszélű	0,328455101	
t kritikus kétszélű	2,02107539	

XIV. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis és kétmintás t-próba az „mikrohullám+kezeletlen enzim” és a „mikrohullám+kezelt enzim” tekintetében. (50. ábra)

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
Mikrohullám+kezeletlen enzim	13	50,71604	3,901234	1,931971
Mikrohullám+kezelt enzim	13	62,6194	4,816877	3,740239

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	5,449616576	1	5,449617	1,921514	0,178435	4,259677
Csoporton belül	68,06651992	24	2,836105			
Összesen	73,51613649	25				

Kétmintás t-próba egyenlő szórásnégyzeteknél

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	3,901233947	4,816877
Variancia	1,931970837	3,740239
Megfigyelések	13	13
Súlyozott variancia	2,836104997	
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	24	
t érték	-1,386186998	
P(T<=t) egyszélű	0,08921732	
t kritikus egyszélű	1,71088208	
P(T<=t) kétszélű	0,17843464	
t kritikus kétszélű	2,063898562	

XV. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis a „mikrohullám+kezeletlen enzim” és a „mikrohullám+kezelt enzim” tekintetében. (51. ábra)

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
Autokláv+kezeletlen enzim	18	15,45	0,858	0,139
Hagyományos+kezeletlen enzim	18	26,43	1,469	0,077
Mikrohullám+kezeletlen enzim	18	40,42	2,246	0,468
Mikrohullám +kezelt enzim	18	53,65	2,981	1,268

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	46,05	3	15,35	31,45	7E-13	2,74
Csoporton belül	33,19	68	0,488			
Összesen	79,24	71				

XVI. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis a „mikrohullám+kezeletlen enzim” és a „mikrohullám+kezelt enzim” tekintetében. (52. ábra)

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i> <i>m</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i> <i>a</i>
Hagyományos+kezeletlen enzim	24	115,074	4,79478	4,40767
		8	3	9
		84,3640		2,03940
Autokláv+kezeletlen enzim	24	7	3,51517	2
Mikrohullám+kezeletlen enzim	24	123,646	5,15192	5,17471
		1	1	3
		132,368		
Mikrohullám+kezelet enzim	24	6	5,51536	6,13234

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	54,57596	3	18,1919	4,09864	0,00887	2,70359
			9	8	6	4
Csoporton belül	408,3451	92	4,43853			
			3			
Összesen	462,921	95				

XVII. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis a „mikrohullám+kezeletlen enzim” és a „mikrohullám+kezelt enzim” tekintetében. (53. ábra)

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
Hagyományos+kezeletlen enzim	15	60,625	4,0417	2,3357
Autokláv+kezeletlen enzim	15	63,158	4,2105	2,5325
Mikrohullám+kezeletlen enzim	15	55,366	3,6911	1,7913
Mikrohullám+kezelet enzim	15	70,179	4,6786	2,951

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	7,5795	3	2,5265	1,0516	0,377	2,7694
Csoporton belül	134,55	56	2,4026			
Összesen	142,13	59				

Kétmintás t-próba egyenlő szórásnégyzeteknél
(mikrohullám+kezeletlen enzim, mikrohullám+kezelt enzim)

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	4,210541486	4,678597737
Variancia	2,532502361	2,950954506
Megfigyelések	15	15
Súlyozott variancia	2,741728433	
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	28	
t érték	-0,774134574	
P(T<=t) egyszélű	0,222669488	
t kritikus egyszélű	1,701130934	
P(T<=t) kétszélű	0,445338976	
t kritikus kétszélű	2,048407142	

XVIII. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis a 2-5 baron 150 °C-on kezelt minták között.
(54. ábra)

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i> <i>a</i>
2 bar, mikrohullám + kezeletlen enzim	16	51,7844	3,236	2,004196
2 bar, mikrohullám + kezelt enzim	16	54,8457	3,427	2,309772
5 bar, mikrohullám + kezeletlen enzim	16	59,0445	3,690	2,936490
5 bar, mikrohullám + kezelt enzim	16	70,6903	4,418	4,698240
	16	1	1	2

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	12,87216756	3	4,290	1,436381	0,241	2,758
Csoporton belül	179,2304938	60	2,987	4	1	1
Összesen	192,1026613	63				

XIX. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis a 2-5 baron 180 °C-on kezelt minták között.
(55. ábra)

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
2 bar, mikrohullám + kezeletlen enzim	15	48,335	3,2224	1,6592
2 bar, mikrohullám + kezelt enzim	15	50,41	3,3607	1,5136
5 bar, mikrohullám + kezeletlen enzim	15	60,274	4,0183	3,0192
5 bar, mikrohullám + kezelt enzim	15	74,297	4,9531	5,1039

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p- érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	28,09	3	9,3632	3,3156	0,0263	2,7694
Csoporton belül	158,14	56	2,824			
Összesen	186,23	59				

XX. MELLÉKLET

Egytényezős varianciaanalízis az 1-2 baron 180 °C-on kezelt minták között.
(56. ábra)

Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

<i>Csoportok</i>	<i>Darabszám</i>	<i>Összeg</i>	<i>Átlag</i>	<i>Variancia</i>
2 bar, Mikrohullám + kezeletlen enzim	13	63,273 01	4,8671 54	3,6926580 77
2 bar, Mikrohullám +kezelt enzim	13	70,186 67	5,3989 74	4,2045219 89
1 bar, Mikrohullám + kezeletlen enzim	13	35,676 27	2,7443 28	1,1241741 37
1 bar, Mikrohullám + kezelt enzim	13	38,159 54	2,9353 5	1,1601310 61

VARIANCIAANALÍZIS

<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
	70,4410		23,480	9,2247268	0,00006	2,7980
Csoportok között	7	3	36	71	31	61
	122,177		2,5453			
Csoporton belül	8	48	71			
	192,618					
Összesen	9	51				