

ΕΚ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΤΩΝ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΩΝ
ΤΗΣ ΑΝΩΤΑΤΗΣ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΑΘΗΝΩΝ
Διευθυντής: Καθηγητής ΔΗΜ. ΖΑΜΠΕΛΑΣ

ΣΥΜΒΟΛΗ ΕΙΣ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗΝ
ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΕΩΣ ΩΡΙΜΩΝ ΚΙΤΡΩΝ
ΚΑΙ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΟΣ
ΤΩΝ ΥΠΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑΣ
ΣΥΝΘΗΚΑΣ ΖΥΜΩΘΕΝΤΩΝ

Υπό

ΒΑΣΙΛΙΚΗΣ ΠΑΠΑΜΙΧΑΗΛ - ΜΠΑΛΑΤΣΟΥΡΑ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΠΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΑΣ
Υποβληθεῖσα εἰς τὴν Ἀνωτάτην
Γεωπονικὴν Σχολὴν Ἀθηνῶν

ΑΘΗΝΑΙ 1975

**Ἡ ἔγκρισις τῆς διδακτορικῆς
διατριβῆς ὑπὸ τῆς Α.Γ.Σ.Α. δὲν
ὑποδηλοῖ ἀποδοχὴν τῶν γνώμων
τοῦ συγγραφέως.
(Μ. 5343/1932 ἄρθρον 202)**

ΕΚ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΤΩΝ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΩΝ
ΤΗΣ ΑΝΩΤΑΤΗΣ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΑΘΗΝΩΝ
Διευθυντής: Καθηγητής ΔΗΜ. ΖΑΜΠΕΛΑΣ

ΣΥΜΒΟΛΗ ΕΙΣ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗΝ
ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΕΩΣ ΩΡΙΜΩΝ ΚΙΤΡΩΝ
ΚΑΙ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΟΣ
ΤΩΝ ΥΠΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑΣ
ΣΥΝΘΗΚΑΣ ΖΥΜΩΘΕΝΤΩΝ

Ἰπὸ
ΒΑΣΙΛΙΚΗΣ ΠΑΠΑΜΙΧΑΗΛ - ΜΠΑΛΑΤΣΟΥΡΑ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΠΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΑ,
Ἰποβληθεῖσα εἰς τὴν Ἄνωτάτην
Γεωπονικὴν Σχολὴν Ἀθηνῶν

ΑΘΗΝΑΙ 1975

ΠΙΝΑΞ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ.	7
I. Τόπος προελεύσεως	"	7
II. Σημασία τῆς κητροκαλλιεργείας εἰς διεθνές καὶ ἔθνικόν ἐπίπεδον	"	8
III. Ταξινόμησις	"	9
IV. Ἐπεξεργασία τῶν κίτρων ἐν Ἑλλάδι	"	11
V. Ἐπεξεργασία τῶν κίτρων εἰς ἄλλας κητροπαρα- γωγούς χώρας	"	12
VI. Σκοπὸς τῆς ἀναληφθείσης ἐρεῦνης	"	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟΝ ΠΡΩΤΟΝ		
ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΙΣ ΤΩΝ ΚΙΤΡΩΝ	"	17
1. Προσδιορισμὸς τοῦ ποσοστοῦ βάρους μεσοκαρ- πίου καὶ ἔνδοκαρπίου, ὡς πρὸς τὸ ὀλικὸν βάρ- ος τῶν κίτρων	"	18
2. Προσδιορισμὸς τῆς ξηρᾶς οὐσίας καὶ τῆς ὑγρα- σίας εἰς τὸ μεσοκάρπιον καὶ τὸ ἔνδοκάρπιον.	"	19
3. Προσδιορισμὸς τῆς περιεκτικότητος εἰς πηκτι- κὰς οὐσίας τοῦ μεσοκαρπίου καὶ τοῦ ἔνδοκαρ- πίου τῶν κίτρων	"	20
4. Προσδιορισμὸς τῆς ὀλικῆς ὀγκομετρομένης ὀ- ξύτητος εἰς τὸ μεσοκάρπιον καὶ τὸ ἔνδοκάρπιον τῶν κίτρων	"	24
5. Ποιοτικὸς προσδιορισμὸς τῶν ὀργανικῶν ὀξέων εἰς τὸ μεσοκάρπιον καὶ τὸ ἔνδοκάρπιον τῶν κί- τρων	"	25
6. Προσδιορισμὸς τῶν ἀκατεργάστων πρωτεϊνῶν ...	"	31
7. Προσδιορισμὸς τῶν ἀκατεργάστων λιπαρῶν οὐσῶν	"	33
8. Προσδιορισμὸς τῶν ἀκατεργάστων ἰνῶν	"	34
9. Προσδιορισμὸς τῆς τέφρας	"	35
10. Προσδιορισμὸς τῶν ἀναγωγικῶν σακχάρων	"	35
11. Προσδιορισμὸς τῶν ὀλικῶν σακχάρων	"	37
12. Ποιοτικὸς ἔλεγχος τῶν σακχάρων	"	39
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	"	46
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	"	47
α) Ποσοτικὴ ἀνάλυσις—Προσδιορισμὸς τῶν συστατικῶν μερῶν τοῦ κίτρου	"	47

β) Ποιοτική ανάλυσις σακχάρων καί δξέωνσελ.	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟΝ ΔΕΥΤΕΡΟΝ	
ΠΗΚΤΟΛΥΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ ΤΩΝ ΚΙΤΡΩΝ	52
Α' ΦΑΣΙΣ	60
Β' ΦΑΣΙΣ	67
Γ' ΦΑΣΙΣ	71
Δ' ΦΑΣΙΣ	79
Ε' ΦΑΣΙΣ	83
ΣΤ' ΦΑΣΙΣ	85
Ζ' ΦΑΣΙΣ	88
Η' ΦΑΣΙΣ	90
Θ' ΦΑΣΙΣ	92
Ι' ΦΑΣΙΣ	94
ΙΑ' ΦΑΣΙΣ	95
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	98
ΚΕΦΑΛΑΙΟΝ ΤΡΙΤΟΝ	
ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΣ ΤΩΝ ΚΙΤΡΩΝ	100
Α. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ	104
I. Προέλευσις τῶν καλλιεργείων	104
II. Χρησιμοποίηθέντα θρεπτικά ὑλικά	106
III. Τεχνική τῆς ἀπομονώσεως τῶν μικροβίων	107
IV. Ἐπάσις τῶν τρυβλίων τῶν πρὸς ἀπομόνωσιν καλλιεργείων	109
V. Διατήρησις τῶν καθαρῶν καλλιεργείων	109
VI. Προσδιορισμὸς καί κατάταξις τῶν καθαρῶν καλλιεργείων	109
1. Μελέτη μορφολογικῶν χαρακτήρων	110
2. Μελέτη βοτανικῶν χαρακτήρων	111
3. Μελέτη βιοχημικῶν χαρακτήρων	112
α) Ζύμωσις τῶν σακχάρων	112
β) Ἀφομοίωσις πηγῶν ἄνθρακος	114
γ) Ἀφομοίωσις νιτρικῶν ἀλάτων	117
δ) Αὔξησις ἀπουσία βιταμινῶν	118
ε) Διάσπασις ἀρβουτίνης	119
VII. Προσδιορισμὸς καί κατάταξις τῶν καθαρῶν καλλιεργείων βακτηριδίων	120
1) Σχῆμα τῆς βλαστικῆς μορφῆς	120

2) Σποριογονία	σελ. 120
3) Χρώσις κατά Gram	" 120
4) Σχηματισμός οργανικών δεξέων εις ζυμόν Pederson	" 121
B. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΕΠΙ ΤΗΣ ΤΑΞΙΝΟ- ΜΗΣΕΩΣ	" 122
I. Συνολικός αριθμός και κατηγορία απομονωθει- σών καλλιιεργειών	" 122
II. Κατάταξις των χαρακτηρισθεισών ως ζυμών καθα- ρών καλλιιεργειών	" 124
III. Περιγραφή των χαρακτηριστικών των καθ' ἕκαστα είδων ζυμών	" 124
1) Καλλιέργειαι τοῦ γένους <i>Saccharomyces</i> ...	" 124
α) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	" 124
β) <i>Saccharomyces rosei</i>	" 126
2) Καλλιέργειαι τοῦ γένους <i>Hansenula</i>	" 127
3) Καλλιέργειαι τοῦ γένους <i>Pichia</i>	" 131
4) Καλλιέργειαι τοῦ γένους <i>Kloeckera</i>	" 135
α) <i>Kloeckera apiculata</i>	" 135
5) Καλλιέργειαι τοῦ γένους <i>Candida</i>	" 136
α) <i>Candida pulcherrima</i> (<i>Metschnikowia pul-</i> <i>cherrima</i>)	" 137
β) <i>Candida membranaefaciens</i>	" 138
γ) <i>Candida guilliermondii</i>	" 142
δ) <i>Candida parapsilosis</i>	" 143
ε) <i>Candida krusei</i>	" 145
στ) <i>Candida melinii</i>	" 147
ζ) <i>Candida rhagii</i>	" 148
6) Καλλιέργειαι τοῦ γένους <i>Pullularia</i>	" 150
7) Καλλιέργειαι τοῦ γένους <i>Geotrichum</i>	" 152
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	" 154
ΚΕΦΑΛΑΙΟΝ ΤΕΤΑΡΤΟΝ	
ΠΟΡΕΙΑ ΖΥΜΩΣΕΩΣ ΤΩΝ ΚΙΤΡΩΝ	" 156
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ	" 157
I. Ευσκευασία κίτρων τῆς ἐργαστηριακῆς ζυμώσεως	" 157
II. Ευσκευασία κίτρων τῆς βιομηχανικῆς ζυμώσεως.	" 157

ΙΙΙ.Μέθοδοι ἀναλύσεως	σελ.158
1)Προσδιορισμός τοῦ pH	" 158
2)Προσδιορισμός τῆς ὀλικῆς ὀγκομετρομένης ὀξύτητος	" 158
3)Προσδιορισμός τοῦ χλωριούχου νατρίου ...	" 158
4)Προσδιορισμός τῶν ἀναγωγικῶν σακχάρων...	" 158
5)Προσδιορισμός τῆς αἰθυλικῆς ἀλκοόλης ...	" 159
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	" 161
Πίνακες α καὶ β	" 162
Πίνακες γ καὶ δ	" 163
Πίνακες ε καὶ στ	" 164
ΚΕΦΑΛΑΙΟΝ ΠΕΜΠΤΟΝ	
ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ - ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	" 166
SUMMARY	" 169
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	" 172
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΠΙΝΑΚΩΝ ΚΑΙ ΣΧΕΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ

Ἡ παροῦσα ἐρευνητική ἐργασία διεξήχθη εἰς τό Ἐργαστήριον Γεωργικῶν Βιομηχανιῶν τῆς Ἀνωτάτης Γεωπονικῆς Σχολῆς Ἀθηνῶν καί κατετέθη εἰς τήν Γραμματεῖαν τῆς Σχολῆς τήν 12-2-1975, διὰ τήν λήψιν διδακτορικοῦ διπλώματος.

Βαθεῖα εἶναι ἡ εὐγνωμοσύνη μου πρός τόν σεβαστόν Καθηγητήν μου κ. Δημ. Ζαμπέλαν, Διευθυντήν τοῦ Ἐργαστηρίου Γεωργικῶν Βιομηχανιῶν τῆς Α.Γ.Σ.Α., ὁ ὁποῖος μέ ἀμέριστον ἐνδιαφέρον ἐμελέτησεν ἐπισταμένως καί ἐπί μακρόν χρόνον τήν ἐργασίαν μου καί μέ τάς ὁρθάς ὑποδείξεις καί παρατηρήσεις του, οὐσιωδῶς συνέβαλεν εἰς τήν ἀρτίαν ἐμφάνισίν της.

Θερμαί εὐχαριστίαι ἐκφράζονται ἐκ μέρους μου καί πρός τούς σεβαστούς μου Καθηγητάς κ. κ. Βεν. Κουγέαν, Μην. Γεωργιάδην, Δημ. Παπαμιχαήλ καί Στ. Δημητριάδην διὰ τήν ἀνάγνωσιν τῆς παρούσης καί τάς ἐπενεχθείσας διορθώσεις.

Εὐχαριστίας, ἀκόμη ἐκφράζω πρός τόν Ὑφηγητήν κ. Γ. Μπαλατσούραν, ὁ ὁποῖος παρηκολούθησεν, ἀνελλιπῶς, ἐκ τοῦ πλησίον, τήν ὅλην ἐργασίαν, τόσον εἰς τό πειραματικόν τμήμα, ὅσον καί εἰς τήν ἐν γένει παρουσίᾳ ταύτης.

Τέλος, θά ἦτο σοβαρή παράλειψις ἡ μή ἔκφρασις θερμῶν εὐχαριστιῶν πρός τόν Διευθυντήν τοῦ Σταθμοῦ Γεωργικῆς Ἐρεῦνης Χανίων κ. Νικ. Ψυλλάκην καί πρός τάς Ἐνώσεις Κιτροπαραγωγῶν Χανίων καί Διακοπτοῦ, διὰ τήν βοήθειαν τήν ὅποσαν προθύμως μοῦ παρέσχον διὰ τήν ὀλοκλήρωσιν τῆς παρούσης ἐρευνητικῆς ἐργασίας μου, ὡς ἐπίσης καί πρός τήν συνάδελφον Εὐανθ. Τσιναράκη καί ὅλους ὄσους καθ' οἷονδῆποτε τρόπον μέ ἐβοήθησαν διὰ τήν εὐδῶσιν τῆς προσπάθειάς μου.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

I. Τ ό π ο ς π ρ ο ε λ ε ύ σ ε ω ς

Τά κίτρα καί τά έσπεριδοειδῆ έν γένει εἶναι, ό-
μοῦ μετά τῆς έλαίας καί τῆς άμπέλου, οἱ τυπικοί έκ-
πρόσωποι τῆς μεσογειακῆς βλαστήσεως καί γενικώτερον
τῆς βλαστήσεως τῶν χωρῶν μέ εὐκρατον καί γλυκύ κλί-
μα. Τό πράσινον καί άειθαλές φύλλωμά των , τά εὖοσμα
άνθη των καί οἱ εὐχυμοι καί άρωματικοί καρποί των
υπήρξαν τά αίτια τῆς έντατικῆς από τῶν άρχαιοτάτων
χρόνων έπεκτάσεως τῆς έσπεριδοκαλλιεργείας ανά τόν
κόσμον.

Ἡ καλλιέργεια τῶν έσπεριδοειδῶν χάνεται εἰς τά
βάθη τῶν αἰώνων καί, ώς έκ τούτου, δέν έχει διακριβω-
θῆ πέραν άμφισβητήσεως ό τόπος προελεύσεως του γέ-
νους Citrus. Τά πρώτα τεκμήρια, ώς πρόσ τόν τόπον κα-
ταγωγῆς τῶν έσπεριδοειδῶν, υπήρξαν οἱ σπόροι κίτρων
(Citrus medica Linn.), οἱ όποιοι άνευρέθησαν κατά τάς
έκσκαφάς τῶν έρειπίων τῆς άρχαίας πόλεως Nippur εἰς
τήν νότιον Βαβυλωνίαν. Ἐν τούτοις, θεωρεῖται ώς βέ-
βαιον, ότι τά έσπεριδοειδῆ έκαλλιεργήθησαν τό πρώτον
εἰς τήν Κίναν, όπου μάλιστα ἡ καλλιέργειά των εἶχε
φθάσει εἰς ύψηλόν βαθμόν τελειότητος, πρίν ἡ ταῦτα
γνωσθοῦν εἰς τούς Εὐρωπαϊκούς λαούς (Braverman, 1949).

"Αξιον ιδιαιτέρας προσοχῆς εἶναι τό γεγονός, ότι
τό πρώτον εἶδος έκ τῶν έσπεριδοειδῶν, τό όποῖον με-
φέρθη εἰς τήν Εὐρώπην, ἦτο τό εἶδος (Citrus med. Linn).
κίτρον, τό όποῖον μάλιστα αναφέρει καί ό Θεόφραστος
(372-287 πΧ). Ἐξ άλλου, ἡ ποικιλία τοῦ κίτρου Etrog
αναφέρεται καί εἰς τήν Ἁγίαν Γραφήν (LEV. 23:40) υπό
τό όνομα "Hadar", αλλά καί ό Tolkowsky (1938) εἰς τό
βιβλίον του Hesperides αναγράφει ότι ό καρπός τῆς
κιτρέας τῆς Ιουδαϊκῆς εἶχεν άποτυπωθῆ επί τῆς μιᾶς
όψεως έβραϊκοῦ νομίσματος, τό όποῖον έτέθη εἰς κυκλο-
φορίαν υπό τοῦ Σίμωνος Μακκαβαίου κατά τό τέταρτον
μετέ τήν άπολύτρωσιν τῆς Σιών έτος, ἦτοι τό έτος 136
πΧ. Ἐκτοτε οἱ Έβραῖοι χρησιμοποιοῦν τούς καρπούς κί-

τρου ποικιλίας Etrog εις θρησκευτικήν ιεροτελεσίαν κατά τήν έτησίαν πανήγυριν των Tabernacles (τελετουργία τής Σκηνοπηγίας).

Έκ τής Παλαιστίνης ή κιτρέα διεδόθη πρός τήν 'Ιταλίαν, τήν Έλλάδα καί τας άλλας μεσογειακάς μέ εϋκρατον γλυκύ κλίμα περιοχάς.

II. Σ η μ α σ ί α τ ῆ ς κ ι τ ρ ο κ α λ λ ι ε ρ γ ε ί α ς ε ί ς ὀ λ ι θ ῆ ν ἑ ς καί ἑ θ ν ι κ ὄ ν ἑ π ἶ π ε δ ο ν

Ἡ κιτροκαλλιέργεια καταλαμβάνει περιορισμένην ἔκτασιν ἀνά τήν Ὑφήλιον, κύριαί δέ κιτροπαραγωγί χῶραι εἶναι: ἡ Ἰταλία, ἡ Έλλάς, ἡ Ἰσπανία καί ἡ Γαλλία. Μικροτέρας σημασίας εἶναι ἡ κιτροκαλλιέργεια διά τήν Κίναν καί τας άλλας Ἀσιατικάς μέ εϋκρατον κλίμα χώρας.

Συγκεκριμένως, εἰς τήν Ἰταλίαν καταλαμβάνει ἡ κιτρέα ἔκτασιν 500 περίπου ἑκταρίων καί καλλιεργεῖται κυρίως εἰς τήν περιοχὴν τής Σικελίας, Σαλέρνου, Ποτέντζας μέ ἔτησίαν ἀπόδοσιν 2.500-4.500 τόννων. Εἰς τήν Γαλλίαν ἡ κιτρέα καλλιεργεῖται κυρίως εἰς τήν νῆσον Κορσικήν, ἡ παραγωγή τής ὁποίας ὑπολογίζεται εἰς 3.000 τόννους ἔτησίως.

Ἡ καλλιέργεια τής κιτρέας εἰς τόν Νέον Κόσμον δέν κατάρθωσε νά συγκεντρώσῃ οἰκονομικόν ἐνδιαφέρον παρά τό γεγονός ὅτι ἔχει εἰσαχθῆ ἐκεῖ πρό ἑκατοντάδων ἔτων. Γενικῶς, δύναται νά λεχθῆ ὅτι ἡ κιτρέα εἰς τόν Νέον Κόσμον εὑρίσκεται εἰς συλλογὰς ποικιλιῶν ἐσπεριδοειδῶν, ἀποτελεῖ ἀντικείμενον ἐρασιτεχνικῆς ἐκμεταλλεύσεως ἢ κοσμεῖ τοὺς πρό τῶν εἰσόδων τῶν ἀγροικιῶν χώρους.

Ἡ χώρα μας εἶναι μία ἀπό τας σπουδαιοτέρας κιτροπαραγωγούς χώρας, παράγουσα ἔτησίως 2.500-2.700 τόννους κίτρων, ἐπὶ συνολικῆς Παγκοσμίου παραγωγῆς 12.000 τόννων (περίπου τό 1/4).

Συστηματικῶς καλλιεργεῖται ἡ κιτρέα εἰς τήν Κρήτην (τοὺς νομοὺς Ρεθύμνης καί Ἡρακλείου), τήν Δίγιαλείαν (Αἴγιον καί Διακοπτόν), τήν Μεσσηνίαν, τας Πάτρας, τήν Νάξον, τήν Πάργαν, τήν Κέρκυραν καί, δευτερευόντως, ὑπό μορφὴν μεμονωμένων δένδρων ἢ κιτρεῶνων, εἰς άλλα διαμερίσματα τής χώρας.

Τό έτος 1967 ό συνολικός άριθμός κιτρεών εις τήν χώραν μας άνήλθεν εις 209.300 δένδρα καί ή παραγωγή εις 2.397 τόννους, ένώ κατά τό 1968 οί ίδιοι άριθμοί ύπελογίσθησαν εις 194.300 δένδρα καί 2.368 τόννους άντιστοιχως. Κατά τήν γεωργικήν στατιστικήν του έτους 1971 ό άριθμός των κιτρεών, περγαμινεών καί φραπών ύπελογίσθη εις 213.694, μέ άντίστοιχον παραγωγήν 3207 τόννους έτησίως. Ούτως, δύναται νά λεχθῆ ότι ό άριθμός των κιτρεών παραμένει πρακτικώς σταθερός καί κυμαίνεται μέ μεγίστην προσέγγισιν μεταξύ 200.000-210.000 δένδρων, ή δέ παραγωγή κυμαίνεται μεταξύ 2.500 καί 3.000 τόννων έτησίως. Αί κιτρέαι άντιπροσωπεύουν τό 0,7 ο/ο του συνολικού άριθμου των δένδρων έσπεριδοειδών τής χώρας μας καί τό 0,5 ο/ο του συνόλου τής έτησίας παραγωγής τούτων εις τόννους.

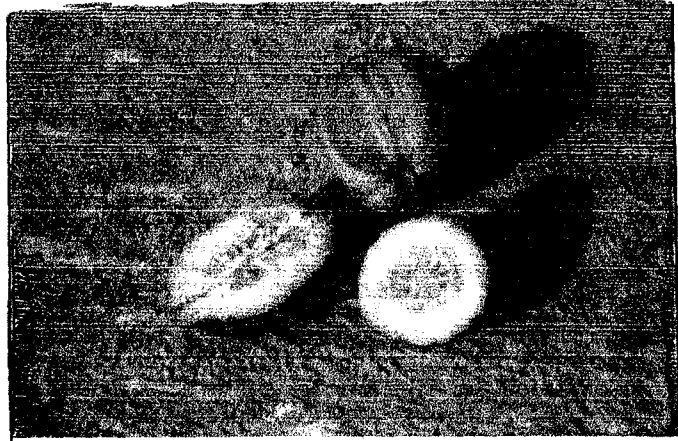
Έκ του συνόλου τής παγκοσμίου κιτροπαραγωγής μικρόν μόνον ποσοστόν καταναλίσκεται έπιτοπίως, ένώ τό μεγαλύτερον άποτελεί άντικείμενον έξαγωγικού έμπορίου. Η Έλλάς έξάγει κίτρα εις τήν Γερμανίαν, τήν Γιουγκοσλαβίαν, τήν Βραζιλίαν, τήν Αμερικήν καί άλλας χώρας. Η διακίνησις γίνεται, είτε υπό μορφήν ζυμωμένων ήμισέων έν άλμη, είτε υπό μορφήν σακχαροπήκτων. Κύριαι είσαγωγικαί διά τά κίτρα χωραί είναι: ή Αμερική, ή Αγγλία, ή Γερμανία, ή Γιουγκοσλαβία, ή Βραζιλία κ.ά. Ίδιαιτέρως, ή Αμερική καταναλίσκει, έτησίως, 2.000 τόννους κίτρων, τά όποια εισάγει κατά κύριον λόγον έκ των Μεσογειακών χωρών καί δευτερευόντως έκ του Πόρτο-Ρίκο, των Βερμούδων καί τής Κίνας. Τά εισαγόμενα κίτρα είναι φλοιοί έν άλμη ή έτοιμα σακχαρόπηκτα.

III. Τ α ξ ι ν ό μ η σ ι ς

Τό είδος *Citrus medica* Linn. (κιτρέα) άνήκει εις τήν διαίρεσιν των *δικοπύλων*, τό άθροισμα των *χωριστοπετάλων*, τήν τάξιν των *Geraniales*, τήν οικόγένειαν των *Rutaceae*, τήν ύποοικογένειαν *Aurantioideae* καί τό γένος *Citrus*. Εις τό ίδιον γένος τάσσονται τά είδη: 1) *C. limonum* 2) *C. aurantifolia* 3) *C. aurantium* 4) *C. sinensis* 5) *C. medica* 6) *C. nobilis* 7) *C. maxima* 8) *C. bergamia* 9) *C. grandis*.

Ἐκ τούτων τὰ εἴδη *C. limonum* (λεμονέα) καὶ *C. sinensis* (πορτοκαλέα) συγκεντρώνουσι ἰδιαίτερον ἐνδιαφέρον διὰ τὴν οἰκονομίαν πολλῶν χωρῶν (Μεσογειακὰ ἠὲ χῶρα, Φλώριδα, Καλιφόρνια κτλ.), κυρίως λόγω χρησιμοποίησεως τῶν καρπῶν τῶν ὡς πρώτης ὕλης ὑπὸ τῆς βιομηχανίας διὰ παραγωγὴν χυμοῦ.

Ὁ καρπὸς τοῦ εἴδους *C. medica* εἶναι ράξ ἐλλειψοειδῆς, ἀνωμίλου ἐπιφανείας καὶ χρώματος πρασίνου ἀρχικῶς καὶ κιτρίνου κατὰ τὴν ὠρίμασιν. Ὁ φλοιὸς του (ἐπι- κάρπιον καὶ μεσοκάρπιον) εἶναι μεγάλου πάχους, λευκός καὶ σπογγώδης τὴν ὕφην καὶ γεύσεως γλυκείας, ἐνῶ τὸ ἐνδοκάρπιον (πούλπα) εἶναι συμπαγές, πλούσιον εἰς σπέρματα, γλυκὺ καὶ μικρᾶς περιεκτικότητος εἰς χυμόν (βλ. εἰκόνα 1).



Εἰκ. 1. Καρπὸς κίτρου ὀλόκληρος καὶ ἐν ἐγκαρσίᾳ καὶ ὀριζοντίᾳ τομῇ.

IV. Έπεξεργασία των κίτρων εν

Έλλάδι

Είς τήν χώραν μας ή συλλογή τῶν κίτρων γίνεται "είς πολλά χέρια" καθ'όλην τήν περίοδον μεταξύ Αύ - γούστου καί Μαρτίου, ήτοι όταν ταῦτα εὐρίσκονται εἰς τό στάδιον τῆς ἐμπορικῆς των ὠριμάσεως. Τά συγκομιζόμενα ἐκάστοτε κίτρα παραδίδονται εἰς τά κέντρα παραλαβῆς καί συσκευασίας, τά ὁποῖα λειτουργοῦν εἰς κάθε κιτροπαραγωγικήν περιφέρειαν.

Τό βάρος τῶν συλλεγομένων κίτρων κυμαίνεται μεταξύ 100 καί 500 γραμμάρων, ή καί μέχρι 14,5 κιλῶν (Κριάρης, 1958), ἀναλόγως τῆς ποικιλίας καί τῶν καλλιεργητικῶν φροντίδων. Ἡ κατάταξις εἰς ἐμπορικούς τύπους, ἀναλόγως τοῦ βάρους των, εἶναι ή ἀκόλουθος:

- 1) LARGE , όταν τό βάρος κατά κίτρον εἶναι: 500 γραμμάρια καί ἄνω.
- 2) MEDIUM, όταν τό βάρος κατά κίτρον εἶναι : 320-500 γραμμάρια.
- 3) SMALL, όταν τό βάρος κατά κίτρον εἶναι : 160-320 γραμμάρια καί
- 4) VERY SMALL όταν τό βάρος κατά κίτρον εἶναι: 160 γραμμάρια.

Εἰς τά ἐργοστάσια ἐπεξεργασίας τά κίτρα συσκευάζονται ὀλόκληρα ἐντός βαρελίων ἀπογεμιζομένων διά θαλασσίου ὕδατος, ἐντός τοῦ ὁποῖου διοχετεύεται καί διοξειδίου τοῦ θείου. Κατ'αὐτόν τόν τρόπον συσκευασμένα τά κίτρα παραμένουν ἐπί 10 περίπου ἡμέρας, καθιστάμενα τελικῶς κιτρινόχροα, προφανῶς τῆ ἐπενεργεία τοῦ διοξειδίου τοῦ θείου. Μετά τήν πάροδον τῶν 10 ἡμερῶν ἐξάγονται ἐκ τῆς ἄλμης, κόπτονται εἰς δύο ἡμίση καί συσκευάζονται ἐκ νέου εἰς βαρέλια ἀπογεμιζόμενα δι' ἄλμης 28 Be, ἐντός τῶν ὁποίων παραμένουν ἐπί 3-4 μῆνας, μέ -

χρι συμπληρώσεως τῆς ζυμώσεώς των. Μεταβολαί ἐπέρχονται ὡς πρός τό χρῶμα, τήν ὑφήν καί τό ἄρωμα, μέ ἀποτέλεσμα νά ἀποικτοῦν τά κίτρα καταλλήλους ἰδιότητος, διά νά χρησι-
μοποιηθοῦν ἀπό τήν βιομηχανίαν σακχαροπήκτων. Ἰδιαιτέ-
ρας σημασίας εἶναι ἡ αὐξήσις τοῦ βάρους τῶν φλοιῶν κα-
τά 5 ο/ο καί τό ἐλαιῶδες χρῶμα τό ὁποῖον οὔτοι ἀποκωῦν.

Μία ἀνάσυσκευασία δύναται νά γίνεται εἰς τό τελευ-
ταῖον στάδιον τῆς ζυμώσεως, ἐπιλεγομένων τῶν ὑγιῶν μόνον
ἡμισέων ἐντός καινουργῶν βαρελίων ἀπογεμιζομένων δι' ἄλ-
μης 14 Be. Ἡ ποιότης, ἀλλά καί ἡ τιμή τούτων, καθορίζονται
καί πάλιν βάσει τοῦ μεγέθους των, ὡς ἀκολουθῶς:

A. EXTRA LARGE	(μέ βάρος ἡμισέων	500 γραμμάρια)
B. LARGE	(" " "	250-500 ")
Γ. MEDIUM	(" " "	150-250 ")
Δ. SMALL	(" " "	100-150 ")

Τά ἡμίση συσκευασμένα ὡς περιεγράφη ἄνωτέρω, ἐξά-
γονται εἰς τό ἐξωτερικόν, ἐξαιρέσει μιᾶς μικρᾶς ποσό-
τητος, ἡ ὁποία χρησιμοποιεῖται ἀπό τό ἐργοστάσιον σακχα-
ροπήκτων εἰς τό Ἡράκλειον Κρήτης.

V. Ἐπεξεργασία τῶν κίτρων εἰς
ἄλλας κίτρο παραγωγούς χώρας

Ἡ ἐπεξεργασία τῶν κίτρων εἰς τὰς ἄλλας κίτρο παρα-
γωγούς χώρας γίνεται, βασικῶς, κατὰ τόν ἴδιον τρόπον. Οὕ-
τως, εἰς τήν Ἰταλίαν τά κίτρα προσκομίζονται εἰς τά πα-
ραλιακά κέντρα ὅπου διχοτομοῦνται κατὰ μήκος καί , ὡς
ἡμίση πλέον, συσκευάζονται ἐντός βαρελίων. Ἀκολουθεῖ ἀπο-
γέμισμα τῶν βαρελίων διά θαλασσίου ὕδατος καί ἄφεις
τούτων εἰς τό ὑπαιθρον, τοποθετημένων κατὰ τήν ἔννοιαν
τῆς ὀριζοντίου καί μέ ἀνοικτόν τό πλευρικόν των ἀνοι-
γμα.

Ἡ ζύμωσις, κατὰ κανόνα, ἀρχίζει ἀμέσως, συμπληροῦνται δέ ἐντός 8-10 ἡμερῶν, ὅποτε τὰ ἡμίση, μετὰ διαλογὴν, συσκευάζονται ἐκ νέου ἐντός καινουργῶν βαρελίων χωρητικότητος 840 λιβρῶν ζυμωμένου προϊόντος (380Kgs).

Ἀκολουθεῖ ἀπογέμισμα μὲ νέον θαλάσσιον ὕδωρ ἐντός τοῦ ὁποίου, ὅμως, διαλύεται ποσότης 35-40 λιβρῶν (16 ἕως 18Kgs) ξηροῦ ἁλατος κατὰ βαρέλιον καὶ ὑπ' αὐτὴν τὴν κατάστασιν εἶναι ἕτοιμα δι' ἐξαγωγήν.

Εἰς τὴν νῆσον Κορσικὴν τὸ θαλάσσιον ὕδωρ ἀντικαθίσταται μετὰ πάροδον 15 ἡμερῶν διὰ νέου μὲ ἠύξημένην τὴν ἀλατοπεριεκτικότητα, ἡ ὅλη δέ διαδικασία τῆς ζυμώσεως διαρκεῖ 30-40 ἡμέρας. Οἱ φλοιοὶ τῶν κίτρων, μετὰ τὴν ἐπεξεργασίαν των ἐν ἄλμῃ, γίνονται περισσότερο εὐπλαστοὶ καὶ προσλαμβάνουν χρομα ἐλαιῶδες. Ἐν συνεχείᾳ συσκευάζονται ἐκ νέου ἐντός ἁλμῆς 7-10 ο/ο καὶ ἀποστέλλονται εἰς τὰ ἐργοστάσια παρασκευῆς σακχαροπήκτων.

Ἐκεῖ, τὰ τεμάχια φλοιοῦ τῶν κίτρων ἐκπλύνονται εἰς ρεῦμα ῥέοντος ὕδατος καὶ κατόπιν θερμαίνονται μέχρι βρασμοῦ ἐμβαπτισμένα ἐντός ὕδατος, ἵνα καταστῶσιν περισσότερο τρυφερά, ἀποβάλλουν τὸ περισσότερο ἅλας καὶ ἐπιπλέον τὰς οὐσίας πικρᾶς καὶ στυφῆς γεύσεως.

Μετὰ ταῦτα, ἀφίενται ἐντός ψυχροῦ ὕδατος διὰ χρονικὸν διάστημα 24 ὥρῶν, ἵνα καταστῶσιν τραγανά, καὶ ἀκροσύθως ἐμβαπτίζονται διαδοχικῶς ἀπὸ 18° Brix εἰς τὴν ἀρχὴν, μέχρι 70-74° Brix εἰς τὸ τέλος τῆς ἐπεξεργασίας.

Τὰ σιρόπια διαφόρου περιεκτικότητος παρασκευάζονται διὰ διαλύσεως ἐντός ὕδατος ἴσων ποσοτήτων ἱμπερτοσακχάρου καὶ σακχαρόζης ἢ ἴσων ποσοτήτων γλυκόζης καὶ σακχαρόζης. Ἡ ὅλη διαδικασία τῆς διαδοχικῆς ἐμβαπτίσεως ἐντός σιροπίων, ἀραιωτέρων τοῦ τελικοῦ, διαρκεῖ δέκα περίπου ἡμέρας. Καὶ μόνον ἐντός τοῦ τελευταίου σιροπίου (70-74° Brix) παραμένουν τὰ σακχαρό-

πηκτα επί αρκετάς εβδομάδας μέχρι πλήρους είσχωρήςσεως εντός τῆς σαρκός των τῶν σακχάρων. Ἀκολούθως, ἐξάγονται ἐκ τοῦ σιροπίου, στραγγίζονται καί ἀπαλλάσσονται ἐκ τοῦ εὐρισκομένου ἐπί τῆς ἐπιφανείας των σιροπίου διά σπογγίσματος, τῆ βοήθεια ὑφάσματος διαβεβρεγμένου δι' ὕδατος καί ἡ ὅλη διαδικασία συμπληροῦται δι' ἐμβαπτίσεως τῶν ἐτοίμων σακχαροπῆκτων ἐντός θερμοῦ κεκορεσμένου σιροπίου, ὅπερ ξηραίνόμενον ἀργότερον σχηματίζει μίαν συνεχῆ ἐπικάλυψιν ἐκ κρυσταλλοπῆκτου σακχάρου.

Τά σακχαρόπηκτα ξηραίνονται δι' ἐκθέσεως εἰς τόν ἀτμοσφαιρικόν ἀέρα καί ὑπό τήν μορφήν αὐτήν δύνανται νά συντηρηθοῦν ἐπί μακρόν, ὡς περιέχοντα ηὐξημένα ποσοστά διαλυτῶν στερεῶν.

VI. Σ κ ο π ὄ ς τ ῆ ς ἀ ν α λ η φ θ ε ἰ σ η ς ἐ ρ ε ὕ ν η ς

Ἡ τεχνολογία τῶν κίτρων, ὡς ἐξάγεται ἐκ τῶν ἀναγραφομένων εἰς τὰς προηγουμένας σελίδας στοιχείων, δέν ἀπετέλεσεν ἀντικείμενον ἐκτεταμένης ἐρεῦνης, προφανῶς λόγω τῆς μικρᾶς ἐξαπλώσεως τῆς κιτρέας ἀνά τόν Κόσμον. Εἶναι, μάλιστα, ἰδιαιτέρας σημασίας τό γεγονός, ὅτι οὐδεμία ἐρευνητική ἐργασία -βάσει τῶν ὄσων ἡμεῖς γνωρίζομεν- ἐγένετο κατά τὰ τελευταῖα ἔτη. Ἡ παλαιά βιβλιογραφία ἀναφέρει, ἀπλῶς, ὅτι λαμβάνει χώραν ζύμωσις ὀφειλομένη εἰς μίαν ζύμην καί ἓν βακτηρίδιον, καθ' ὃν χρόνον τὰ κίτρα εἶναι συσκευασμένα ἐντός ἄλμης. Ἐν τούτοις οὐδεμία πληροφορία δίδεται εἰς ὅτι ἀφορᾷ εἰς τό εἶδος τῆς ζύμωσεως καί εἰς τὰς τυχόν ἐξ αὐτῆς ἐπιπτώσεις ἐπί τῆς ποιότητος τοῦ τελικοῦ προϊόντος. Ἐπιπλέον, τὰ ἀναφερόμενα ἐν αὐτῇ νέα εἶδη μικροβίων, ὑπεύθυνα διά τήν ζύμωσιν τῶν κίτρων, δέν ἐγένοντο ἀποδεκτά εἰς τὰς ἐν ἰσχύει κλεῖδας ταξινομήσεως. Ἀκόμη θά πρέπει νά σημειωθῆ ὅτι ὑπό ὠρισμένας συνθήκας συσκευασίας τῶν κίτρων, εἶναι ἀμφίβολον ἂν λαμβάνη χώραν καί ζύμωσις, λόγω τῆς ηὐξημένης περιεκτικότητος της ἄλμης (15 ο/ο καί περισσότερον) εἰς ἄλας καί διοξειδίον του

του θείου.

Πέραν τῶν ἀνωτέρω ἡ βιοτεχνία ζυμώσεως τῶν κίτρων, γενικῶς, ἀντιμετωπίζει σοβαρόν πρόβλημα συνυφασμένον μέ τό "μαλάκωμα" τῆς ὑφῆς. Ἡ ἀλλοίωσις αὕτη εἶναι σοβαρωτέρα, ὡςάκις ἡ περιεκτικότης τῆς ἄλμης εἰς χλωριούχον νάτριον εἶναι κάτω τοῦ 15 ο/ο καί ἀσυνήθης ὅταν ἡ περιεκτικότης εἰς χλωριούχον νάτριον εἶναι λίαν ὑψηλή. Οὐδέν, ὅμως, ἀναφέρεται σχετικῶς μέ τό προκαλοῦν τήν ἀλλοίωσιν αἴτιον, ὀφειλομένην πιθανῶς εἰς πηκτολυτικά ἔνζυμα ἐνδογενῆ ἢ μικροβιακῆς προελεύσεως, πιθανῶς, ὅμως, καί εἰς ἀπλῆν διάσπασιν τῶν πηκτικῶν οὐσιῶν συνεπεῖα τῆς λίαν χαμηλῆς τιμῆς τοῦ pH. Τέλος, θά πρέπει νά σημειωθῇ ὅτι οὐδεμία ἔρευνα ἔχει προσφάτως ἀναληφθῆ πρός τήν κατεύθυνσιν προσδιορισμοῦ τῶν χημικῶν συστατικῶν τῶν κίτρων.

Ἐν ὄψει ὅλων τῶν ἀνωτέρω ἡ παροῦσα ἐρευνητική ἐργασία ἐπρογραμματίσθη κατά τοιοῦτον τρόπον, ὥστε νά συμπεριλάβῃ:

- 1) Τήν μελέτην τῆς χημικῆς συστάσεως τῶν κίτρων.
- 2) Τήν μελέτην τῶν πηκτολυτικῶν ἐνζύμων τῶν κίτρων εἰς ὅσον ἀφορᾷ εἰς τόν χαρακτηρισμόν των καί εἰς τήν τυχόν συμμετοχῆν των εἰς τήν πολτοποίησιν τοῦ ζυμωμένου προϊόντος.
- 3) Τήν μελέτην τῆς φυσικῆς μικροχλωρίδος τῶν ἑλληνικῶν κίτρων καί τήν διακρίβωσιν τοῦ ρόλου τόν ὁποῖον διαδραματίζει αὕτη κατά τά διάφορα στάδια ἐπεξεργασίας αὐτῶν. Συγκεκριμένως, ἐνδιέφερε νά διακριβωθῇ ποῖα εἶδη μικροβίων ἀπαντῶσιν ἐπί τῶν κίτρων καί ἐάν λαμβάνωσι ταῦτα μέρος εἰς ζύμωσιν, ἀλκοολικήν ἢ γαλακτικήν, τῶν σακχάρων τῆς ἄλμης τῶν κίτρων.

Τό ὅλον θέμα -ὡς ἐτέθη ἐνώπιον ἡμῶν πρός ἔρευναν- ἦτο πολύπλοκον καί εὐρύτατον εἰς ἔκτασιν καί δέν ἦτο δυνατόν νά ἐξαντληθῇ ἐφ' ἅπαξ. Ἐπιπλέον

τῶν ἄνωτέρω αἱ δυσκολίαι τάς ὁποίας συνηντήσαμεν ἦσαν μεγαλύτεραι τῶν ὄσων προεβλέψαμεν, λόγῳ:

- 1) Δυσχερίας εἰς τήν προμήθειαν δειγμάτων κίτρων.
- 2) Παντελοῦς ἐλλείψεως βιβλιογραφικῶν δεδομένων.
- 3) Ἀγαθεωρήσεως τῆς κλειδῶς ταξινομήσεως τῶν ζυμῶν κατά τό ἔτος 1970 καί τῆς συνεπεία ταύτης κατά τάξεως τῶν ζυμῶν εἰς γένη καί εἶδη βάσει καί τῶν δύο κλειδῶν.

Τά μέχρι τοῦδε ἀποτελέσματα μας καί εἰς τούς τρεῖς ὡς ἄνω, τομεῖς ἐρεύνης, ἤτοι τῆς χημικῆς συστάσεως, τῆς ἐνζυμολογίας καί τῆς μικροβιολογίας τῶν κίτρων, παρατίθενται εἰς τρία διακεκριμένα κεφάλαια. Ἐπιπλέον, εἰς ἰδιαίτερα κεφάλαια, παρατίθενται ἀφ' ἑνός αἱ παρατηρήσεις μας καί τά συμπεράσματα ἐπί τῆς πορείας ζυμώσεως τῶν κίτρων καί ἀφ' ἑτέρου, τά γενικά συμπεράσματα τῆς ἐρεύνης μας -θεωρητικῆς καί πρακτικῆς σημασίας- εἰς τό τέλος τῆς μελέτης.

Ἐν τούτοις, τό ὅλον θέμα τῆς χημικῆς συστάσεως, τῆς ἐνζυμολογίας καί τῆς μικροχλωρίδος τῶν κίτρων, τό ὁποῖον συγκεντρώνει θεωρητικόν καί πρακτικόν ἐνδιαφέρον, οὐδόλως θά πρέπει νά θεωρηθῇ ἐξηντλημένον καί θά πρέπει νά ἀποτελέσῃ ἀντικείμενον περαιτέρω ἐρεύνης.

Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο Ν Π Ρ Ω Τ Ο Ν
ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΙΣ ΤΩΝ ΚΙΤΡΩΝ

Ὁ προσδιορισμὸς τῶν χημικῶν συστατικῶν τοῦ κίτρου δὲν ἀπετέλεσεν ἀντικείμενον ἐκτεταμένης ἐρεύνης οὔτε κατὰ τὸ παρελθόν οὔτε προσφάτως.

Οὕτως, ὁ Braverman εἰς τὴν μονογραφίαν του περί τῶν ἐσπεριδοειδῶν καὶ τῶν προϊόντων των (1949) οὐδὲν ἀναφέρει περί τῆς χημικῆς συστάσεως τῶν κίτρων.

Περισσότερον προσφάτως οἱ Ting and Attaway (1971) εἰς ἀνασκόπησιν τῆς βιβλιογραφίας, τῆς σχετικῆς μέ τῆς ἐσπεριδοειδῆ, ὁμοίως, δὲν ἀναφέρονται εἰς τὴν χημικὴν σύστασιν τῶν κίτρων. Ὡς ἐξαίρεσις θά πρέπει νά θεωρηθῆ ἡ ἐρευνητικὴ ἐργασία τῶν Fellers and Smith (1936) σχετικὴ μέ τὴν ζύμωσιν τῶν κίτρων, εἰς τὴν ὁποίαν παραθέτουν τὰ ἀκόλουθα στοιχεῖα ἀναλύσεως τοῦ μεσοκαρπίου τῶν κίτρων: Ὑγρασία 88,56 ο/ο - τέφρα 0,44 ο/ο - πρωτεΐνη (NX6,25) 0,15 ο/ο - ἐκχύλισμα αἰθέρος 0,32 ο/ο - ἀκατέργαστος κυτταρίνη 1,09 ο/ο - ὀλικὰ σάκχαρα (λιμπερτοσάκχαρα) 1,55 ο/ο - ὀλικοὶ ὕδατάνθρακες (μεῖον κυτταρίνη) 9,41 τοῖς ἑκατόν - βιταμῖναι A(0,8-1) διεθνεῖς μονάδες καὶ βιταμίνη C 6 διεθνεῖς μονάδες.

Ἐκ τῶν λοιπῶν ἐσπεριδοειδῶν τὰ πορτοκάλια, τὰ λεμόνια καὶ τελευταίως τὸ Pergamoto ἔχουν ἀποτελέσει ἀντικείμενον ἀναλύσεως, τόσον εἰς τὸ στάδιον τῆς πρῆτης ὕλης, ὅσον καὶ εἰς τὸ στάδιον τοῦ χυμοῦ. Σκοπὸς τῶν ἀναλύσεων αὐτῶν ὑπῆρξεν ἡ ἀναγνώρισις τῶν προϊόντων ἀπὸ τῆς χημικῆς των συστάσεως καὶ ὁ προσδιορισμὸς τοῦ εὔρους ἐντός τοῦ ὁποίου ἕκαστον ἐξ αὐτῶν κυμαίνεται προκειμένου περί τῶν χυμῶν (Ludin and Samish, 1963-Coussin and Samish, 1965 καὶ 1966-Rushing and Senn, 1965-Vandercook καὶ ἄλλοι, 1966 - Κατσούρας, 1971α καὶ 1971β-A. Di Giacomo, 1974).

Ἐν ὄψει τοῦ κενοῦ τῆς διεθνοῦς βιβλιογραφίας ἀνελάβομεν πλήρη ἀνάλυσιν τόσον τοῦ μεσοκαρπίου (albedo), ὅσον καὶ τοῦ ἐνδοκαρπίου (σάρξ) τῶν κίτρων. Ὡς πρῶτην ὕλην ἐχρησιμοποιήσαμεν κίτρα ὕγιη, κανονικοῦ μεγέθους,

ἐκ διαφόρων περιοχῶν, ἤτοι ἐκ Κρήτης, Διακοπτοῦ, Μεσσηνίας, Βοτανικοῦ κτλ. μὲ διαφόρους ἐποχὰς κοπῆς ἐκ τῶν δένδρων. Οὕτω, τὰ στοιχεῖα, τὰ ὁποῖα παρατίθενται, εἶναι μέσοι ὄροι πολλῶν ἐπαναλήψεων, εἰς τρόπον ὥστε νά δύναται νά λεχθῆ, ὅτι ἀνταποκρίνονται πρὸς μίαν μέσην κατάστασιν χημικῆς συστάσεως τοῦ καρποῦ τοῦ *Citrus medica var. vulgaris* (κιντρέα ἢ κοινή).

Κατά τὸν προσδιορισμὸν τῶν συστατικῶν ἐφηρμόσαμεν τὰς συγχρόνους μεθόδους ἀναλύσεως, περὶ τῶν ὁποίων θὰ ἀναφερθῶμεν λεπτομερῶς εἰς τὰς ἐπομένους σελίδας τῆς παρούσης ἐργασίας. Τὰ συστατικά, τὰ ὁποῖα προσδιωρίσθησαν, εἶναι τὰ ἀκόλουθα: α) Ξηρά οὐσία - Ὑγρασία, β) Πηκτικαὶ ὕλαι, γ) Ὀλικὴ ὀγκομετρουμένη δξύτης, δ) Ἀκατέργαστοι πρωτεῖναι, ε) Ἀκατέργαστα λίπη, στ) Ἀκατέργαστοι ἴνες, ζ) Τέφρα καὶ η) Ὀλικά σάκχαρα (ἀνάγοντα καὶ μὴ ἀνάγοντα).

Ἡ ἀνάλυσις ὅλων τῶν ὡς ἄνω συστατικῶν ἦτο ποσοτική, ἐξαιρέσει τῶν ὀργανικῶν ὀξέων καὶ τῶν σακχάρων, εἰς τὰ ὁποῖα ἐγένετο καὶ ποιοτικὴ ἀνάλυσις διὰ τῶν μεθόδων τῆς χρωματογραφίας εἰς λεπτὴν στοιβάδα καὶ τῆς χρωματογραφίας ἐπὶ χάρτου.

Τὰ στοιχεῖα τῶν ἀναλύσεων παρατίθενται εἰς πίνακα καὶ ὠρισμένα, εἰς σχεδιαγράμματα (βλ. παράρτημα πινάκων καὶ σχεδιαγραμμάτων).

Π Ε Ι Ρ Α Μ Α Τ Ι Σ Μ Ο Σ

1. Προσδιορισμὸς τοῦ ποσοστοῦ βάρους μεσοκαρπίου καὶ ἐνδοκαρπίου, ὡς πρὸς τὸ ὀλικὸν βᾶρος τῶν κίτρων

Τὸ μεσοκάρπιον τῶν κίτρων εἶναι τὸ μόνον τμῆμα τοῦ καρποῦ, τὸ ὁποῖον ἀποτελεῖ ἀντικείμενον ἐπεξεργασίας, καθ' ὅσον τὸ ἐνδοκάρπιον ἀπορρίπτεται εἴτε πρὸ τῆς ζυμώσεως εἴτε μετὰ τὸ πέρας αὐτῆς (Hollande καὶ Chadeveau, 1924). Εἶναι δέ τὰ κύτταρα τοῦ μεσοκαρπίου τῶν κίτρων, ἀλλὰ καὶ τῶν ἄλλων ἐσπεριδοειδῶν, χαρακτηριστικὰ, ἤτοι σπογγώδη γωνιακά, παρεγχυματικά ἀκανονίστου σχήματος, εὐκόλως διακρινόμενα ἀπὸ κύτταρα ἄλλων καρπῶν. Ἐνίοτε μάλιστα τὰ κύτταρα αὐτά, ἐκφραζόμενα ὡς ποσοστὸν τοῦ συνόλου, δίδουν τὴν ἑκατοστιαίαν ἀναλογίαν τῆς πούλπας τῶν

έσπεριδοειδών επί μαρμελάδων και ζελέδων τής βιομηχα -
νίας έσπεριδοειδών (Samish and Feigenbaum, 1951).

Διά τόν προσδιορισμόν του̃ ποσοστου̃ συμμετοχής τών
τριών τμημάτων του̃ κίτρου επί του̃ συνολικου̃ βάρους έ-
ζυγίζετο τό κίτρον όλόκληρον, έν συνεχεία άφηρείτο διά
κοπτερου̃ μαχαιριδίου, προσεκτικώς, ό φλοιός και, τέλος,
διεχωρίζετο τό ένδοκάρπιον από τό μεσοκάρπιον. Τά τρία
τμήματα έζυγίζοντο κεχωρισμένως, τό δέ βάρος ένός έκά -
στου ένεφανίζετο ως εκατοστιαίον ποσοστόν επί του̃ συνο-
λικου̃. Τά άποτελέσματα τών προσδιορισμών έμφαίνονται εις
τόν πίνακα (1). Οϊκοθεν νοεϊται ότι τό ηύξημένον μεσο -
κάρπιον εις βάρος του̃ ένδοκαρπίου ει̃ναι δείκτης καλής
ποιότητας διά τό κίτρον.

2. Προσδιορισμός τής ξηράς ούσίας και τής ύγρασίας εις τό μεσοκάρπιον και τό ένδοκάρπιον

Έγένετο κατά τήν έπίσημον άμερικανικήν μέθοδον
(Official Methods of Analysis, 1963), ήτοι:

α) Διά ξηράνσεως δειγμάτων ώρισμένου βάρους εις ξηρόν
κλίβανον θας 102-105°C μέχρι σταθεροποιήσεως του̃ βάρους
(ύπό κανονικής συνθήκας άτμοσφαιρικής πιέσεως).

Τά πρόσ ξήρανσιν δείγματα, όταν μέν προήρχοντο έκ
του̃ μεσοκαρπίου έθρυμματίζοντο προηγουμένως τη βοήθεια
μεταλλικου̃ τρίπτου, όταν δέ προήρχοντο έκ του̃ ένδοκαρ-
πίου έτεμαχίζοντο διά μαχαιριδίου μέ ταυτόχρονον άφαί-
ρεσιν τών σπερμάτων. Σημειωτέον ότι τά άποτελέσματα έκ
τής έφαρμογής τής ως άνω τεχνικής δέν άφίσταντο τών άπο-
τελεσμάτων ξηράνσεως δειγμάτων μεσοκαρπίου και ένδοκαρ-
πίου μετά προηγούμενον θρυμματισμόν και όμοιογενοποίη-
σιν εις ήλεκτρικόν αναμίκτην.

β) Διά ξηράνσεως δειγμάτων ώρισμένου βάρους εις ξηρόν
κλίβανον ύπό κενόν.

Η προετοιμασία τών δειγμάτων ήτο ή αύτή, ως και εις
τήν περίπτωσιν (α), ή ξήρανσις, όμως, έγένετο εις θαν κυ-
μαινομένην μεταξύ 60 και 70°C και ύπό ήλαττωμένην πί -

εσιν $0,2-0,3 \text{ Kg/cm}^2$ (ή τιμή του κενού έκυμαίνεται μεταξύ $-0,7$ έως $-0,8 \text{ Kg/cm}^2$).

Η ξήρανσις υπό κενόν εφηρμόζετο προκειμένου να αποφευχθούν αι αλλοιώσεις των συστατικών της ξηράς ουσίας κατά την διάρκειαν της ξηράσεως (κυρίως ή καραμελλοποιήσις τών σακχάρων) εις περίπτωσιν χρησιμοποίησεως της ξηράς ουσίας εις την περαιτέρω ανάλυσιν προς προσδιορισμόν τών πρωτεϊνών και πηκτικῶν ουσιῶν. Τά αποτελέσματα μετρήσεων της ξηράς ουσίας εμφαίνονται εις τόν πίνακα (2).

3. Προσδιορισμός της περιεκτικότητος εις πηκτικὰς οὐσίας τοῦ μεσοκαρπίου καὶ τοῦ ἔνδοκαρπίου

Ὁ προσδιορισμός τών πηκτικῶν οὐσιῶν εις τὰ ἔσπεριδοειδῆ συνεκέντρωσε τό ἐνδιαφέρον τών ἐρευνητῶν ἀπό πολλῶν ἑτῶν, ἐπειδή τὰ ὑπολείμματα ἐκ της χυμοποιήσεως, τόσον τών ἔσπεριδοειδῶν, ὅσον καὶ τών μήλων, ἀποτελοῦν πρώτην ὕλην διά παραλαβήν "πηκτίνης" εις βιομηχανικήν κλίμακα. Ὑπολογίζεται ὅτι "πηκτίνη" 10.000 τόννων ἐκχυλίζεται ἀπό τόν πλακοῦντα της βιομηχανίας ἔσπεριδοειδῶν καὶ μήλων ἑτησίως (Pilnik and Voragen, 1970), προκειμένου νά χρησιμοποιηθῆ κατά κύριον λόγον εις τήν βιομηχανίαν ζελέδων καὶ μαρμελάδων. Πέραν τούτου ἡ ἐν ἑναιωρήσει πηκτικῆ οὐσία βοηθᾷ εις τήν δημιουργίαν τοῦ ἐπιθυμητοῦ θολώματος ὅλων τών χυμῶν ἔσπεριδοειδῶν (πορποκαλίθου, λεμονίου, γκρέιπ-φρούτ κτλ.).

Αἱ μέθοδοι ποσοτικοῦ προσδιορισμοῦ τών πηκτικῶν ὕλων, ἰδίᾳ εις τὰ ἔσπεριδοειδῆ, αἱ ὁποῖαι ἔχουν κατά καιρούς προταθῆ καὶ ἐφαρμοσθῆ ἀπό διαφόρους ἐρευνητάς, εἶναι πολλαί.

Οὕτως, οἱ McCready καὶ McComb (1952) διά τήν παραλαβήν τών πηκτικῶν οὐσιῶν συνιστοῦν ἐκχύλισιν τών φυτικών ἰστῶν, ἀρχικῶς μέ θερμόν ὕδωρ, ἐν συνεχείᾳ μέ ἀραιόγ διάλυμα ὑδροχλωρικοῦ ὀξεῖος pH 2, (πρός διαλυτοποίησιν της πρωτοπηκτίνης) καὶ τελικῶς μέ ψυχρόν διάλυμα ἀλάλεως ἢ ὀξαλικοῦ ἀμμωνίου (πρός διαλυτοποίησιν "πηκτίνης" χαμηλοῦ βαθμοῦ μεθοξυλίων). Κατά τούς ἰδίους ἐρευ-

νητάς ή χρησιμοποίησις Versene (Ethylene-diamine-tetra-acetic acid-tetrasodium salt) διευκολύνει τήν έκχύλιν δια δεσμεύσεως τών δισθενών κατιόντων. Οί Ίδιοι συνιστοῦν ἀρχικήν έκχύλιν του δειγματος δια ζεύσεως ἀλκοόλης 75 ο/ο πρός ἀδρανοποίησιν τών ένζύμων, ἄλλοι δέ έρευνηταί προτιμοῦν, δια τόν Ίδιον σκοπόν, ὕδατικόν διάλυμα ἀλκοόλης έλαφρώς ὠξιτισμένον, προκειμένου νά έκχυλισθοῦν τά σάκχαρα, τά διαλυτά ὀργανικά ὀξέα, τά ἄλατα καί έπιπλέον νά ἀδρανοποιηθοῦν τά ένζυμα καί νά μετατραποῦν τά πηκτικά ἄλατα πρός τά αντίστοιχά των ὀξέα (Gee, McComb and McCready, 1958; Owens, McCready et al., 1952).

Αί πηκτικά οὔσια, μετά τήν έκχύλιν των από τας φυτικούς ιστούς, είναι δυνατόν νά προσδιορισθοῦν, ποσοτικῶς, κατά διαφόρους τρόπους, ήτοι:

α) Διά καθιζήσεως των μέ προσθήκην αίθανόλης (Kertesz , 1951; Official Methods of Analysis Ass. of Agr. Chem. 1965,

β) Δι' ἀποκαρβοξυλιώσεως, τῆ προσθήκη πυκνοῦ ἀνοργάνου ὀξέος καί θερμάνσεως (McComb and McCready, 1952).

γ) Διά προσθήκης καρβαζολίου εις διάλυμα πολυγαλακτουρονικοῦ ὀξέος καί έν συνεχεία μετρήσεως του χρώματος εις μήκος κύματος 520 mμ (McComb and McCready, 1952).

δ) Διά προσθήκης εις διάλυμα πηκτικοῦ ὀξέος ὕδροξυλαμίνης, ήτις ἀντιδρᾷ μετά τών μεθοξυλίων (έστερική ὀμάς) πρός ὕδροξαμικόν ὀξύ (-CO-ONH₂). Ἡ ποσότης του τελευταίου προσδιορίζεται χρωματομετρικῶς, δια τῆς μεθόδου δέ αὐτῆς προσδιορίζεται ὁ βαθμός μεθοξυλιώσεως τών πηκτικῶν οὔσιων (Gee, Reeve and McCready, 1959).

ε) Διά διασπάσεως του μορίου τῆς πηκτικῆς οὔσιας πρός γαλακτουρονικόν ὀξύ καί προσδιορισμοῦ του : τελευταίου δια χρωματογραφίας επί χάρτου (Gee and McCready, 1957).

Ἐξ ὄλων τών ὡς ἄνω μεθόδων προεκρίθη ή μέθοδος τῆς έκχυλίσεως πηκτικῶν οὔσιων, καί τῆς έν συνεχεία καθιζήσεως δι' αίθανόλης καί έχρησιμοποίηθη εις τήν παροῦσαν έργασίαν πρός ποσοτικόν προσδιορισμόν τῆς πηκτικῆς οὔσιας του μεσοκαρπίου καί του ένδοκαρπίου τών κίτρων.

Ἡ μέθοδος αὐτή προετάθη πό πρῶτον ὑπό του Kertesz (1951), τροποποιηθεῖσα ἀποτελεῖ τήν επίσημον μέθοδον προσ-

διορισμοῦ πηκτικῶν οὐσιῶν ἐν Ἀμερικῇ (Official Methods of Analysis, Ass. of Agr. Chemists, 1965).

Διὰ τόν προσδιορισμόν ἐλαμβάνετο ὠρισμένον βάρος μεσοκαρπίου ἢ ἐνδοκαρπίου, τό ὁποῖον ἐτεμαγίζετο καί ὀμέσως ἐνεβαπτίζετο ἐντός ζεούσης ἀλκοόλης 95 ο/ο πρὸς ἀδρανοποίησιν τῶν πηκτολυτικῶν ἐνζύμων.

Ἡ ἀναλογία μεσοκαρπίου-αἰθυλικῆς ἀλκοόλης ἢ ἐνδοκαρπίου-αἰθυλικῆς ἀλκοόλης ἐπελέγετο κατὰ τοιοῦτον τρόπον, ὥστε ἡ τελική συγκέντρωσις τῆς αἰθυλικῆς ἀλκοόλης νά μὴν εἶναι κατωτέρα τοῦ 70 ο/ο. Τό μῖγμα ἐφέρετο πάλιν εἰς τὴν θερμοκρασίαν βρασμοῦ καί ἐν συνεχείᾳ ἐψύχετο, προκειμένου, οὕτω, νά ἐκχυλισθοῦν τὰ σάκχαρα καί τὰ ὀξέα. Τό δείγμα, μετὰ παραμονήν καθ' ὅλην τὴν νύκτα εἰς θαν περιβάλλοντος, ἐστραγγίζετο μέσω μεταξωτοῦ ὑφάσματος, συνεπιέζετο μέχρι στεγνώματος καί ἐναιωρεῖτο ἐκ νέου ἐντός αἰθυλικῆς ἀλκοόλης 95 ο/ο καί ὑπό τὴν μορφὴν αὐτὴν παρέμενε τοῦλάχιστον ἐπὶ 24 ὥρας. Κατόπιν δηθεῖτο μέσω μεταξωτοῦ ὑφάσματος, συνεπιέζετο μέχρις ὅτου στραγγίση καλῶς καί ἐν συνεχείᾳ ἐποποθετεῖτο ἐντός ξηροῦ κλιβάνου εἰς θαν 105°C μέχρι σταθεροποιήσεως τοῦ βάρους.

Παραλλήλως, ἐγένετο κατ' εὐθειᾶν ξήρανσις ἐτέρων δειγμάτων μεσοκαρπίου καί ἐνδοκαρπίου εἰς ξηρόν κλίβανον ὑπό κενόν εἰς θερμοκρασίαν 70°C καί πίεσιν 0,3 ἕως 0,2 Kg/cm², τὰ ὁποῖα εἶχον ὑποστῆ ἐκχύλισιν δι' ἀλκοόλης.

Τὰ ἀποτελέσματα καί εἰς τὰς δύο περιπτώσεις δέν ἐνεφάνισαν αἰσθητάς διαφοράς.

Μετὰ τὴν πλήρη ξήρανσιν ἠκολούθει ἄλεσις τοῦ δειγματος εἰς λεπτὴν κόνιν, διότι, οὕτω, διηυκολύνετο ἡ ἐπακολουθοῦσα ἐκχύλισις. Ὁ ἀλεσμένος ἰστός ἐξεχυλίζετο μέ διαδοχικὰς ποσότητας διαλύματος 0,05 N ὑδροχλωρικοῦ ὀξέος εἰς 80°C ἐπὶ 30 λεπτά διὰ κάθε ἐκχύλισιν. Μετὰ 3 ἕως 5 ἐκχυλίσεις, μέ χρῆσιν ἐκάστοτε 50 κυβικῶν ἑκατοστών ὀξέος κατὰ γραμμάριον ξηρᾶς οὐσίας, τό πλεῖστον τῶν πηκτικῶν οὐσιῶν ἐξεχυλίζετο, ἡ δέ τελειότης τῆς ἐκχυλίσεως ἐπεβεβαιούτο ἐκάστοτε δι' ἀναμίξεως μιᾶς ποσότητος ἐκ τοῦ ψυχροῦ ἐκχυλίσματος μέ αἰθυλικὴν ἀλκοόλην ὑπό

αναλογίαν 1:2. Εάν ή έκχύλισις δέν ήτο τελεία, έπιπτεν ίζημα, όποτε συνεχίζετο ή έκχύλισις.

Είς 100 κυβικά έκατοστά, λαμβανόμενα έκ του όλου μίγματος των προηγηθεισών έκχυλίσεων, προσετίθεντο 4 έως 8 γραμμάρια σακχαρόζης πρός διευκόλυνσιν τής διασποράς τής πηκτικής ούσίης, και τό όλον έξητμίζετο μέχρις όγκου 20 έως 25 κυβικών έκατοστών. Εάν άπεχωρίζετο ύλικόν άδιάλυτον είς τήν ύγράν φάσιν, κατά τήν ώραν τής έξατμίσεως, τότε προσετίθετο και άλλη ποσότης σακχαρόζης. Τό διάλυμα έψύχετο μέχρι θας δωματίου και, άκολούθως, προσετίθετο είς αυτό όγκος 200 κυβικών έκατοστών αίθυλικής άλκοόλης 95 τοίς έκατόν, βραδέως και ύπό συνεχή ανάδευσιν. Τό μίγμα έμεινεν έν ήρεμία τουλάχιστον επί μίαν ώραν, έν συνεχεία δέ διηθείτο μέσω διηθητικού χάρτου ποσοτικής αναλύσεως και τό ίζημα έπλύνετο δι' αίθυλικής άλκοόλης.

Κατόπιν, τό ίζημα μετεφέρετο έκ νέου άπό τόν χάρτην είς τό άρχικόν ποτήριον ζέσεως μέ θερμόν ύδωρ. Η μεταφορά δέ του ίζήματος έκ του διηθητικού χάρτου έγένετο μετά σχολαστικότητος, άποφευγομένης είς όλας τάς περιπτώσεις τής ξηράνσεώς του επί του χάρτου διηθήσεως ή τής ξηράνσεώς του επί του ήθμου.

Τό διήθημα έξητμίζετο μέχρις όγκου 20 κυβικών έκατοστών περίπου και τότε προσετίθεντο 5 κυβικά έκατοστά πυκνού ύδροχλωρικού όξέος ήραιωμένου 1:2,5. Εάν διεχωρίζετο ύλικόν άδιάλυτον είς ύδωρ, τό διάλυμα άνεταράσσετο καλώς ή έθερμαίνετο έλαφρώς. Προσετίθεντο και πάλιν 200 κυβικά έκατοστά αίθυλικής άλκοόλης, τό μίγμα άφίετο έν ήρεμία επί μίαν ώραν, έν συνεχεία δέ, διηθείτο μέσω διηθητικού χάρτου. Τό ίζημα και ό χάρτης έξεπλύνοντο σχολαστικώς μέ αίθυλικήν άλκοόλην πρός άπομάκρυνσιν του ύδροχλωρικού όξέος.

Η ποσότης των πηκτικών ούσιών ύπελογίζετο:

α) Διά προζυγίσεως του διηθητικού χάρτου και έν συνεχεία ξηράνσεως αυτού είς 105°C είς ξηροκλίβανον, μέχρι σταθεροποιήσεως του βάρους, όποτε έκ τής διαφοράς βάρους μεταξύ χάρτου και μικτού βάρους χάρτου και πηκτικών ού-

σιών προσδιωρίζετο τό βάρος τῶν πηκτικῶν ούσιῶν, τῶν ὑπαρχουσῶν εἰς τά λαμβανόμενα 100 κυβικά ἑκατοστά τοῦ ὑγροῦ ἐκχυλίσεως.

β) Διά μεταφορᾶς τοῦ ἰζήματος, σχολαστικῶς, ἀπό τόν χέρτην μέ θερμόν ὕδωρ εἰς προζυγισμένην κάψαν ἐκ πλατίνης, ἔξατμίσεως εἰς ὑδρόλουτρον καί ἐν συνεχείᾳ εἰς κλίβανον 105°C, μέχρι σταθεροποιήσεως τοῦ βάρους, ὁπότε καί πάλιν ἐκ τῆς διαφορᾶς βάρους μεταξύ τῆς κάψης, καί τοῦ μικτοῦ βάρους κάψης καί πηκτικῶν ούσιῶν ἐγένετο ὁ προσδιορισμός τοῦ βάρους τῶν πηκτικῶν ούσιῶν, τῶν ὑπαρχουσῶν εἰς τά λαμβανόμενα 100 κυβικά ἑκατοστά τοῦ ὑγροῦ ἐκχυλίσεως.

Τά ἀποτελέσματα τῶν προσδιορισμῶν τῆς πηκτικῆς ούσίας ἐμφαίνονται εἰς τόν πίνακα (3).

4. Προσδιορισμός τῆς ὀλικῆς ὀγκομετρούμενης ὀξύτητος εἰς τό μεσοκάρπιον καί τό ἐνδοκάρπιον τῶν κίτρων

Διά τόν ποσοτικόν προσδιορισμόν τῶν ὀξέων ἐλαμβάνετο ὠρισμένον βάρος ἐκ τοῦ μεσοκαρπίου καί τοῦ ἐνδοκαρπίου, τό ὁποῖον ἐπολτοποιεῖτο εἰς ἠλεκτρικόν ἀναμίκτην. Τό προϊόν τῆς ὀμοιογενοποιήσεως μετεφέρετο εἰς φιάλην ζέσεως, δι' ἀπεσταγμένου ὕδατος, τοῦλάχιστον ὀκταπλασίου βάρους, ἐζέετο ἐπί μίαν ὥραν ὑπό ἐπαναρρέοντα φυκτῆρα, ἀκολούθως μετεφέρετο εἰς φιάλην τοῦ λίτρου, ἐψύχετο καί τότε συνεπληροῦτο εἰς τόν ὀγκον. Ἠκολούθει διήθησις μέσω ἡθμοῦ ἐκ διηθητικοῦ χάρτου.

Διά τῆς ὡς ἄνω διαδικασίας ἐπεδιώχθη ἡ πλήρης, κατέ τό δυνατόν, ἐκχύλισις τῶν ὀξέων ἐκ τῶν ἰστών τοῦ κίτρου.

Ὁ προσδιορισμός τῆς ὀλικῆς ὀξύτητος ἐγένετο εἰς τό διήθημα κατὰ δύο τρόπους, ἦτοι:

α) Διά λήψεως 50 ἢ 100 κυβικῶν ἑκατοστῶν διηθήματος ἐντός κωνικῆς φιάλης καί βαθμιαίας προσθήκης εἰκοστοκανονικοῦ ἢ δεκατοκανονικοῦ διαλύματος καυστικοῦ νατρίου, παρουσία φαινολοφθαλεΐνης, μέχρις ἐμφανίσεως ῥοδίνης χροίας.

β) Διά λήψεως 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ἐκ τοῦ ἰδίου ὡς ἔνω διηθήματος ἐντός ποτηρίου ζέσεως, συμπυκνώσεως διά βρασμοῦ μέχρις ὄγκου 20-25 κυβικῶν ἑκατοστῶν καί ὀξινίσεως διά προσθήκης 3 κυβικῶν ἑκατοστῶν διαλύματος N/1 H₂SO₄. Ἐκολούθει προσθήκη 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν αἰθυλικῆς ἀλκοόλης 95 ο/ο ὑπὸ συνεχῆ ἀνάδευσιν, ἄφεςις ἐν ἡρεμίᾳ ἐπὶ μίαν ὥραν πρὸς διαχωρισμὸν τοῦ ἰζήματος τῆς πηκτικῆς οὐσίας, τὸ ὁποῖον τελικῶς διεχωρίζετο διά διηθήσεως μέσω ἡθμοῦ ἐκ διηθητικοῦ χάρτου, συνοδευομένης ὑπὸ ἐκπλύσεως τοῦ ἰζήματος ἐπὶ δύο ἕως τρεῖς φορές μέ αἰθυλικήν ἀλκοόλην.

Ἡ ὀγκομέτρησις ἐγένετο εἰς ὠρισμένον ὄγκον τοῦ διαυγοῦς διηθήματος διά προσθήκης καί πάλιν εἰκοστοκανονικοῦ ἢ δεκατοκανονικοῦ διαλύματος καυστικοῦ νατρίου παρουσία φαινολοφθαλεΐνης, ὡς δείκτου. Εἰς τούς ὑπολογισμοὺς τῆς ὀξύτητος ἐλαμβάνετο ὑπ' ὄψιν ὁ ὄγκος τῶν τριῶν κυβικῶν ἑκατοστῶν τοῦ N/1 H₂SO₄ (Kertes, 1951).

Εἰς ὅλας τὰς μετρήσεις ὀξύτητος μεσοκαρπίου καί ἐνδοκαρπίου ἠλέγχετο ἡ τελειότης τῆς ἐκχύλισεως δι' ἐπανέκχυλισεως μέρους τῆς ὑποστάθμης δι' ἀπεσταγμένου ὕδατος ὠρισμένου ὄγκου, ὡς καί εἰς τὴν πρώτην φάσιν.

Τὰ ἀποτελέσματα προσδιορισμοῦ τῆς ὀξύτητος κατὰ τὰς δύο μεθόδους ἐμφαίνονται εἰς τὸν πίνακα (4) καί δέν παρουσιάζουν οὐσιώδεις διαφοράς.

5. Ποιοτικὸς προσδιορισμὸς τῶν ὀργανικῶν ὀξέων εἰς τὸ μεσοκάρπιον καί τὸ ἐνδοκάρπιον τῶν κίτρων

Ὁ ποιοτικὸς προσδιορισμὸς τῶν ὀργανικῶν -μῆ πτη-
τικῶν- ὀξέων τοῦ μεσοκαρπίου καί ἐνδοκαρπίου τῶν κίτρων ἐγένετο διά χρωματογραφίας εἰς λεπτήν στοιβάδα μέ ἐφαρμογὴν μεθόδου περιγραφείσης ὑπὸ τοῦ Chan καί τῶν συνεργατῶν του (1971).

Ἡ ἀκολουθηθεῖσα τεχνικὴ ἦτο ἡ ἀκόλουθος κατὰ φάσεις.

α) Ἐκχύλισις τῶν ὀργανικῶν ὀξέων

Διά τὴν ἐκχύλισιν ἐζυγίζετο ὠρισμένον βάρος μεσο-

καρπίου ή ένδοκαρπίου, άνεμειγνύετο μέ αΐθυλικήν άλκοόλην 95 ο/ο ύπό άναλογίαν 1:10 (β/ο) καί έπολτοποιείτο εις ήλεκτρικόν άναμίκτην. Έντός του πολτού προσετίθετο καί μικρά ποσότης γής διατόμων (selite), καθώς καί ένεργού άνθρακος πρός προσρόφησιν των χρωστικών. Τό όλον άφίετο έντός του φυγείου επί 24 ωρον, προκειμένου νά έκχυλισθούν πληρέστερον τά όξέα καί νά μεταφερθούν εις τήν ύγράν φάσιν. Ηκολούθει διήθησις μέσω ήθμου εκ διηθητικού χάρτου Whatman No 2 ύπό κενόν καί συμπύκνωσις του διηθήματος εις συσκευήν Rotary flash evaporator ύπό θερμοκρασίαν 40 °C μέχρι τελείας άπομακρύνσεως τής αΐθυλικής άλκοόλης. Τό συμπύκνωμα τουτο των έκχυλισθέντων όξέων διηθείτο μέσω διηθητικού χάρτου καί ήτο έτοιμον διά περαιτέρω καθαρισμόν καί χρωματογράφησιν.

β) Έτοιμασία των στηλών ρητίνης άνταλλαγής ιόντων—Έκ λουσις δειγμάτων

Έχρησιμοποιήθησαν δύο στηλαιο, ύψους 100 εκατ. καί διαμέτρου 2,2 εκατ. έκάστη. Έπιπλέον έχρησιμοποιήθησαν: 1) Ρητίνη Amberlite IR 120 (μορφής H⁺) κατιονική, καί 2) Ρητίνη Amberlite IRA 400 (μορφής μυρμηκικού όξέος), άνιονική του οΐκου Mallinckrodt.

Αί ρητίναι, πρό τής τοποθετήσεώς των έντός των στηλών, έτοποθετούντο έντός άπεσταγμένου ύδατος, τό όποιον ήλάσσετο δι' έπανειλημμένων άποχύσεων, μέχρις ότου αύται παύσουν νά άποβάλουν χρωστικήν.

Ηκολούθει πλήρωσις των στηλών διά των ρητινών καί "πέρασμα" του δείγματος μέσω τής πρώτης ρητίνης πρός άπαλλαγήν εκ των κατιόντων καί, έν συνεχεία, μέσω τής δευτέρας (άνιονικής) πρός δέσμευσιν των όξέων.

Τής έκλούσεως προηγείτο έντονος έκπλυσις τής ρητίνης δι' άπεσταγμένου ύδατος, μέχρις ότου τό έκλουσμα ήτο άρνητικόν, ως πρός άναγωγικάς ούσίαις (σάκχαρα). Η ποιοτική δοκιμή έγένετο δι' άντιδραστηρίου Soxhlet, τό δέ έκλουσμα συνελέγετο, διά νά χρησιμοποιηθῆ εις τόν μετέπειτα ποιοτικόν προσδιορισμόν των σακχάρων.

Τά όξέα έξελοφονται άπό τήν άνιονικήν ρητίνην διά διόδου μέσω αύτης 225 κυβικών έκατοστών διαλύματος 6N μυρμηκικού όξέος καί άκολούθως άπεσταγμένου ύδατος μέχρι λήφews 300 έν συνόλω κυβικών έκατοστών έκλούσματος. Τό τελευταίον συνεπυκνοφτο υπό κενόν εις συσκευήν Rotary flash evaporator υπό θαν ίσην ή κατωτέρα των 59 0C μέχρις όγκου 10 κυβικών έκατοστών. Είς τό σημείον τουτο προσετίθετο βενζένιον εις ποσότητα 3 κυβικών έκατοστών, προκειμένου, οφτω, να άπομακρυνθή τό υπό άζεοτροπικήν αναλογία κατακρατούμενον μυρμηκικόν όξύ, ή δέ συμπύκνωσις συνεχίζετο μέχρι παραλαβής σχεδόν υποστάθμης. Τότε προσετίθεντο επί δύο έως τρεις φορές ανά 50 - 60 κυβικά έκατοστά άπεσταγμένου ύδατος καί ή συμπύκνωσις συνεχίζετο μέχρι παραλαβής όλίγων κυβικών έκατοστών συμπυκνώματος, έτοιμου διά χρωματογράφειν.

γ) Χρησιμοποιηθεΐσα συσκευή καί χρησιμοποιηθέντα ύλικά

Διά τήν χρωματογράφειν έχρησιμοποιήθησαν:

- 1) Χρωματογραφικός θάλαμος διαστάσεων 25X24X10 έκατοστών.
- 2) Πλάκες ύάλινοι διαστάσεων 19,5X19,5 έκατοστών, ή έπίστρωσις των οποίων έγένηετο εις τό έργαστήριον με Silica Gel G.
- 3) Έπιστρωμένα διά κυτταρίνης πλάκες των ίδιων ως άνω διαστάσεων (Eastman chromatograph sheet 6064).
- 4) Άνυδρος αιθυλαιθήρ, μυρμηκικόν όξύ, βενζολική άλκοόλη, τριτοταγής βουτυλική άλκοόλη, ίσοπροπυλική άλκοόλη, πράσινον βρωμοκρεζόλης, όξεικόν νάτριον καί κυανούν της βρωμοφαινόλης.

δ) Προετοιμασία των προσροφητικων στρωμάτων

Διά τήν παρασκευήν των προσροφητικων στρωμάτων άνεμινφτε Silica Gel G καί άπεσταγμένο ύδωρ υπό αναλογίαν 30 γραμμαρίων προς 70 κυβικά έκατοστά καί τό έναιώρημα ώμοιογενοποιεΐτο εις ήλεκτρικόν αναμίκτην. Ηκολούθει ώμοιόμορφος κατανομή του προΐόντος ώμοιογενοποιήσεως επί της έπιφανείας των πλακών, τή βοήθεια της ειδικής συσκευής στρώσεως πλακών χρωματογραφίας. Τά προσροφητικά στρώματα, τά οποία έπετυγνάνοντο, ήσαν ώμοιά -

μορφα, πάχους 300 μ, τά όποία άρχικώς έξηραίνοντο εις τόν άέρα και κατόπιν ένηργοποιούντο διά τοποθετήσεώς των έντός ξηροϋ κλιβάνου θερμοκρασίας 110°C επί μίαν ώραν. Αί ώς άνω πλάκες μετά τήν ψύξιν των εις ξηραντήρα ήσαν έτοιμαι νά δεχθούν τό πρόσ χρωματογράφησιν ύλικόν.

ε) Έπίθεσις τών κηλίδων

Αί πλάκες χρωματογραφήσεως παρενεβάλλοντο εις τό άδικόν έξάρτημα της συσκευής χρωματογραφήσεως και έπ'αύτων, εις άπόστασιν 2-5 εκατοστών περίπου από της βάσεως, έτοποθετούντο αί κηλίδες έκ γνωστών και άγνωστων διαλυμάτων όξέων, διά μικροπιπέττας, εις ποσότητα 5 έως 25 χιλιοστών του κυβ. έκ., αναλόγως της συγκεντρώσεως.

στ) Διαλύται-Ανάπτυξις χρωματογραφημάτων

Δύο συστήματα διαλυτών άπεδείχθησαν κατάλληλα διά τήν ανάπτυξιν και τόν διαχωρισμόν τών όξέων.

α) Άνυδρος αίθυλ-αίθέρ, μυρμηκικόν όξύ, ύδωρ (EFW) υπό αναλογίαν 20:5:5 (ο/ο) διά τά έτοιμα στρώματα κυτταρίνης
β) Βενζυλαλκοόλη, τριτοταγής βουτυλική άλκοόλη (μεθυλοπροπανόλη-2), ισοπροπυλική άλκοόλη, μυρμηκικόν όξύ, ύδωρ (BBIFW) υπό αναλογίαν 24:8:8:1:8 (ο/ο) διά τά άπορροφητικά στρώματα Silica Gel G.

Καλύτερος διαχωρισμός τών όξέων έπετυγχάνετο μέ τήν χρήσιν τών έτοιμών στρωμάτων κυτταρίνης. Τά στρώματα, όμως, Silica Gel G έχρησιμοποιήθησαν έπιβοηθητικώς και έδωσαν ικανοποιητικά άποτελέσματα εις τόν διαχωρισμόν τών δύο ζευγών όξέων, ήτοι:

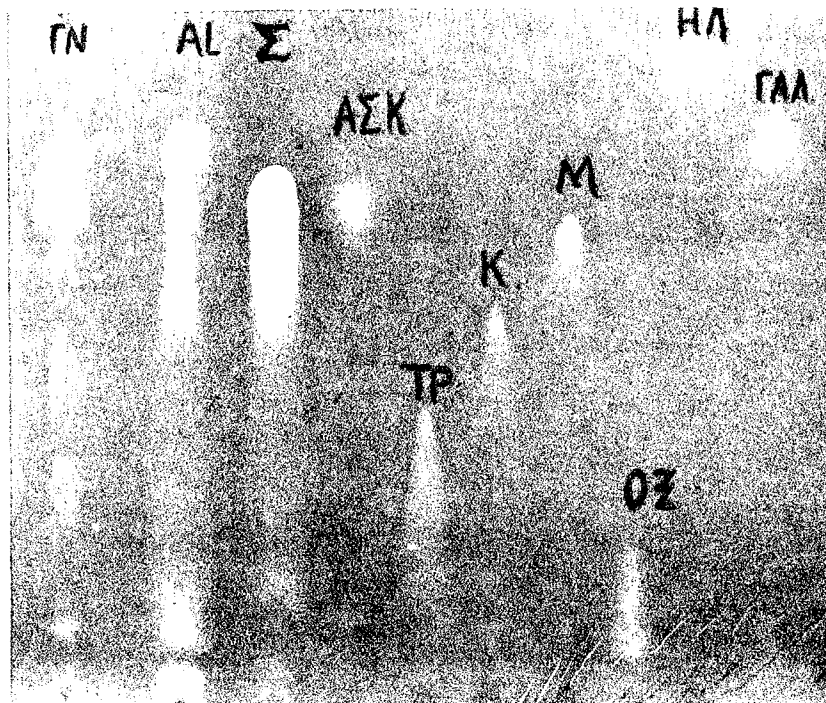
α) Άσκορβικου-τρυγικου και β) Γαλακτικού-ήλεκτρικου.

Εις τά έτοιμα στρώματα κυτταρίνης, τά προαναφερθέντα όξέα, ώς έχοντα ανά δύο τήν ίδίαν τιμήν R_F, συνέπιπτον, ένώ εις τά στρώματα Silica Gel G, ώς έχοντα διάφορον τιμήν R_F, διεχωρίζοντο υπό μορφήν διακεκριμένων κηλίδων, ώς έμφαίνεται εις τάς εικόνας 2 και 3 τών χρωματογραφημάτων (βλ. σελ. 29 και 30).



Εικ. 2. Χρωματογράφημα οργανικών οξέων επί λεπτής
στοιβάδος εκ κυτταρίνης

- ΓΝ : Μίγμα γνωστών οξέων
- ΑΛ : Όξέα μεσοκαρπίου
- Σ : Όξέα ένδοκαρπίου
- ΑΣΚ : Άσκορβικόν οξύ
- ΤΡΥΓ : Τρυγικόν οξύ
- ΚΙΤΡ : Κιτρικόν οξύ
- ΜΗΛ : Μηλικόν οξύ
- ΟΞ : Όξαλικόν οξύ
- ΗΛ : Ηλεκτρικόν οξύ
- ΓΑΛ : Γαλακτικόν οξύ



Είκ. 3. Χρωματογράφημα οργανικών οξέων επί λεπτής
στοιβάδος επί Silica Gel G

ΓΝ : Μίγμα γνωστών οξέων

ΑΙ : Όξέα μεσοκαρπού

Σ : Όξέα ένδοκαρπού

ΑΣΚ : Άσκορβικό οξύ

ΤΡ : Τρυγικό οξύ

Κ : Κιτρικό οξύ

Μ : Μηλικό οξύ

ΟΞ : Όξαλικό οξύ

ΗΛ : Ηλεκτρικό οξύ

ΓΑΛ : Γαλακτικό οξύ

ζ) Έμφάνισις

Διά τήν έμφάνισιν έχρησιμοποιήθησαν διαλύματα βρωμοκρεζόλης καί βρωμοφαινόλης εις αίθυλικήν άλκοόλην, τά όποια παρεσκευάσθησαν:

α) Διά διαλύσεως 400 χιλιοστῶν τοῦ γραμμαρίου πρασίνου τῆς βρωμοκρεζόλης έντός 100 κυβικῶν έκατοστῶν αίθυλικῆς άλκοόλης 95 ο/ο καί προσαρμογῆς τοῦ pH εις τήν τιμήν 5,5 διά πυκνοῦ διαλύματος καυστικου νατρίου.

β) Διά διαλύσεως 400 χιλιοστῶν τοῦ γραμμαρίου κυανοῦ τῆς βρωμοφαινόλης καί 50 χιλιοστῶν τοῦ γραμμαρίου όξεικου νατρίου εις 100 κυβικά έκατοστά αίθυλικῆς άλκοόλης 95ο/ο καί προσαρμογῆς τοῦ pH εις τήν τιμήν 10,4 διά πυκνοῦ διαλύματος καυστικου νατρίου.

Τά διά τοῦ πρώτου συστήματος διαλυτῶν άναπτυχθέντα χρωματογραφήματα (έπί στρωμάτων κυτταρίνης) έμενον κατά όλην τήν νύκτα υπό θερμοκρασίαν δωματίου, διά νά στεγνώσουν. Τήν έπομένην έφεκάζοντο κατ'άρχήν διά τοῦ αντιδραστηρίου έμφανίσεως β, όποτε τά όξέα ένεφανίζοντο ως κίτριναι κηλίδες εις κυανοπράσινον υπόβαθρον, άκολούθως δέ, διά τοῦ αντιδραστηρίου α, όποτε τό χρώμα τῶν κηλίδων καθίστατο ζωηρότερον.

Όμοίως, τά διά τοῦ δευτέρου συστήματος διαλυτῶν άναπτυχθέντα χρωματογραφήματα, επί πλακῶν έπιστρωμένων μέ Silica Gel G, έμενον καθ'όλην τήν νύκτα υπό θερμοκρασίαν περιβάλλοντος, καί τήν έπομένην, στεγνά πλέον, έφεκάζοντο διά τοῦ αντιδραστηρίου έμφανίσεως α. Τά όξέα ένεφανίζοντο καί εις τήν περίπτωσιν αύτήν ως κίτριναι κηλίδες εις κυανοπράσινον υπόβαθρον.

Τά διαχωρισθέντα έκ τῶν ιστῶν τοῦ κίτρου, μή πτητικά όξέα, ως καί τά χρησιμοποιηθέντα, ως μάρτυρες, έμφαινόνται εις τάς εικόνας 2 καί 3.

β) Προσδιορισμός τῶν άκατεργάστων πρωτεϊνῶν

Ό προσδιορισμός τούτων έγένετο κατά τήν μέθοδον Microkjeldahl, ως αύτη περιγράφεται εις τό έγχειρίδιον "Official Methods of Analysis - A.O.A.C. " .

Ἡ ξήρανσις τῶν δειγμάτων ἐγένετο ὑπὸ κενόν κατὰ τὸν ἴδιον τρόπον, ὅπως καὶ εἰς τὴν περίπτωσιν τοῦ προσδιορισμοῦ τῆς ξηρᾶς οὐσίας.

Α) Χρησιμοποιηθέντα ἀντιδραστήρια

- α) Θεικόν ὄξύ, ἐλεύθερον ἀζώτου, πυκνότητος 1,84.
- β) Οξειδίου τοῦ Hg, ἐλεύθερον ἀζώτου.
- γ) Θεικόν κάλιον, ἐλεύθερον ἀζώτου.
- δ) Διάλυμα καυστικοῦ νατρίου-θειοθειικοῦ νατρίου παρασκευασθέν διὰ διαλύσεως ἐντός ἀπεσταγμένου ὕδατος 60 γραμμαρίων NaOH καὶ 5 γραμμαρίων $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ καὶ τῆς ἐν συνεχείᾳ συμπληρώσεως εἰς 100 κυβικά ἑκατοστά.
- ε) Διάλυμα δεικτοῦ παρασκευασθέν δι' ἀναμίξεως ἐρυθροῦ τοῦ μεθυλίου καὶ κυανοῦ τοῦ μεθυλενίου ὑπὸ ἀναλογίαν δύο μερῶν ἀλκοολικοῦ διαλύματος ἐρυθροῦ τοῦ μεθυλίου περιεκτικότητος 0,2 ο/ο μεθ' ἐνός μέρους ἀλκοολικοῦ διαλύματος κυανοῦ τοῦ μεθυλενίου, ὁμοίως, περιεκτικότητος 0,2 ο/ο.
- στ) Διάλυμα ὑδροχλωρικοῦ ὀξέος 0,01 N.
- ζ) Κεκορεσμένον διάλυμα βορικοῦ ὀξέος.

Β) Στάδια προσδιορισμοῦ

- α) Ἐζυγίζοντο ἐντός φιάλης πέψεως Microkjeldahl, 80-200 χιλιοστά τοῦ γραμμαρίου ξηροῦ κωνιοποιημένου δείγματος.
- β) Προσετίθεντο $1,9 \pm 0,1$ γραμμάρια K_2SO_4 , 40 ± 10 χιλιοστά τοῦ γραμμαρίου HgO καὶ 2 κυβικά ἑκατοστά πυκνοῦ θειικοῦ ὀξέος.
- γ) Ἐτοποθετεῖτο ἡ φιάλη εἰς τὴν ἐστίαν καύσεως Microkjeldahl καὶ ἐθερμαίνετο, ἀρχικῶς μὲν, ἐλαφρῶς, μέχρις ἐκλύσεως ἀτμῶν, ἐν συνεχείᾳ δέ, ἐντόνως, μέχρις ὅτου τὸ δείγμα καθίστατο διαυγές. Ἡ καύσις τοῦ δείγματος διήρκει ἐπὶ 30 λεπτά τῆς ὥρας τοῦλάχιστον.

Γ) Ἀπόσταξις δειγμάτων

- α) Ἐξεπλύνετο ἡ συσκευή ἀποστάξεως δι' ἀτμῶν, με ἀπομάκρυνσιν τῶν ὑδάτων ἐκπλύσεως.
- β) Ἐψύχετο τὸ πεφθέν δείγμα εἰς τὸν ἀέρα ἢ ἐντός θρυμμάτων πάγου καὶ προσετίθεντο ὀλίγα κυβ. ἐκ. ἀπεσταγμένου ὕδατος, πρὸς διάλυσιν τυχόν ἰζήματος.

γ) Μετεφερέται τό δείγμα έντός του είδικου υποδοχέως της συσκευής άποστάξεως δι' έπανελλημμένων μέ άπεσταγμένον ύδωρ έκπλύσεων της φιάλης καύσεως του δείγματος (5- 6 τόν άριθμόν).

δ) Έτοποθετείτο ό υποδοχέας του άποστάγματος είς τό κάτω άκρον του ψυκτήρος κατά τοιούτον τρόπον, ώστε τό άκρον αυτού ήτο πάντοτε βυθισμένον έντός 5 κυβικών έκατοστών κεκορεσμένου διαλύματος βορικού όξεός φέροντος καί 2-4 σταγόνας δείκτου.

ε) Προσετίθεντο έντός του δείγματος, εύρισκομένου ήδη έντός του αντίστοιχου υποδοχέως της συσκευής, μέσω είδικής χοάνης, 8-10 κυβικά έκατοστά διαλύματος NaOH καί $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$.

στ) Έτίθετο είς λειτουργίαν ή συσκευή άποστάξεως καί ή άπόσταξις συνεχίζετο μέχρι συλλογής 15-25 κυβικών έκατοστών άποστάγματος.

ζ) Όγκο μετρείτο έκάστοτε άπόσταγμα διά προσθήκης διαλύματος 0,01 N HCl, μέχρις έμφανίσεως ιώδους χροιάς.

η) Έξεπλύνετο ή συσκευή άποστάξεως καί έν συνεχεία έξετελείτο λευκός προσδιορισμός.

Τά άποτελέσματα των μετρήσεων άζώτου, ως καί πρωτεϊνικών ούσιων, τόσον είς τό μεσοκάρπιον, όσον καί είς τό ένδοκάρπιον, έμφαίνονται είς τούς πίνακας (5) καί (6).

7) Προσδιορισμός των άκατεργάστων λιπαρών ούσιων

Έγένετο κατά την έπίσημον άμερικανικήν μέθοδον διά έκχυλίσεως τελείως άπεξηραμένου δείγματος (ξηρανσις υπό κενόν) είς συσκευήν Soxhlet μέχρι της πλήρους άπολιπάνσεως (Official Methods of Analysis - A.O.A.C.).

Η έκχύλισις έγένετο δι' άνύδρου διαιθυλαιθέρος, χημικώς καθαρού, καί διήρκει δώδεκα ώρας. Αί λιπαρά ούσια προσδιωρίζοντο άμέσως διά ζυγίσεως του αίθερού χου έκχυλίσματος, ως καί διά της διαφοράς μεταξύ του βάρους του άπεξηραμένου δείγματος καί της υποστάθμης έκχυλίσεως. Η δευτέρα τιμή ήτο πάντοτε κατά πολύ άνωτέρα της πρώτης, προφανώς λόγω άπομακρύνσεως καί των τελευταίων ίχνων ύγρασίας ή διαφόρων άλλων πτητικών ού-

σιών, τόσον κατά τήν διάρκειαν τῆς ἀπολιπάνσεως, ὅσον καί κατά τήν ἐπακολουθοῦσαν ἐκάστοτε ξήρανσιν τοῦ ὑπολείματος ἐκχυλίσεως τῆς φύσιγγος εἰς τόν ξηρόν κλίβανον, ὑπό θερμοκρασίαν 105°C , μέχρι σταθεροποιήσεως τοῦ βάρους του.

Ὡς περιεκτικότης εἰς ἀκατεργάστους λιπαράς οὐσίας ἐλαμβάνετο μόνον τό προσδιοριζόμενον ἀμέσως αἰθεροῦχον ἐκχύλισμα.

Τό ὑπόλειμμα τῆς ἐκχυλίσεως, μετά τήν ξήρανσιν εἰς τό ὑδρόλουτρον καί ἐν συνεχείᾳ εἰς ξηρόν κλίβανον, ὑπό θερμοκρασίαν 105°C , μέχρις ἀπομακρύνσεως τῶν τελευταίων ἰχνῶν αἰθέρος καί ὑγρασίας, ἐφυλάσσετο ἐντός ξηραντήρος εἰς τόν μετέπειτα προσδιορισμόν τῶν ἀκατεργάστων ἰνῶν.

Τά ἀποτελέσματα τῶν μετρήσεων τῶν λιπαρῶν οὐσιῶν, τόσον εἰς τό μεσοκάρπιον, ὅσον καί εἰς τό ἐνδοκάρπιον, ἐμφαίνονται εἰς τόν πίνακα (7).

8) Προσδιορισμός τῶν ἀκατεργάστων ἰνῶν

Ἐγένετο, κατά τήν μέθοδον, ὡς αὕτη περιγράφεται εἰς τό ἐγχειρίδιον (Official Methods of Analysis—A.O.A.C.), ἐπί δείγματος δύο περιπου γραμμαρίων ἐκ τοῦ ὑπολείματος τῆς διά διαιθυλαιθέρος ἐκχυλίσεως. Τό δείγμα ἐπέπετο ἐπί ἡμίσειαν ὥραν, ὁμοῦ μετά 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν διαλύματος θειικοῦ ὀξεῖος 1,25 ο/ο, διηθεῖτο μέσω ἡθμοῦ ἐξ ἀμιάντου καί ἐπέπετο ἐκ νέου μετά 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν διαλύματος καυστικοῦ νατρίου 1,25 ο/ο ἐπί ἴσον χρονικόν διάστημα. Κατόπιν διηθεῖτο ἐκ νέου εἰς ἡθμόν ἀμιάντου καί ἀπηλλάσσετο τῆς ὑγρασίας διά τοποθετήσεώς του εἰς ξηρόν κλίβανον θερμοκρασίας 105°C , μέχρι σταθεροῦ βάρους. Ἠκολούθει ἀποτέφρωσις, διά τοποθετήσεως εἰς φούρνον πυρακτώσεως θερμοκρασίας $550-600^{\circ}\text{C}$ ἐπί 20 λεπτά, τῶν ἀκατεργάστων ἰνῶν προσδιοριζομένων διά διαφορᾶς ζυγίσεως.

Τά ἀποτελέσματα τῶν μετρήσεων, τόσον εἰς τό μεσοκάρπιον, ὅσον καί εἰς τό ἐνδοκάρπιον, ἐμφαίνονται εἰς τόν πίνακα (8).

9) Προσδιορισμός τής τέφρας

Διά τόν προσδιορισμόν τής τέφρας έζυγίζετο ώρισμέ-
νον βάρος μεσοκαρπίου ή ένδοκαρπίου έντός προζυγισθέν -
τος χωνευτηρίου έκ πορσελάνης καί έτοποθετείτο έντός
φούρνου πυρακτώσεως θερμοκρασίας 525°C. Η άνοδος τής θερ-
μοκρασίας έγένετο βαθμιαίως πρός άποφυγήν έκτινάξεως τῶν
δείγματος έξω τοῦ χωνευτηρίου καί ή τεφροποίησης συνε-
χίζετο μέχρις άποκτήσεως φαιᾶς τέφρας σταθεροῦ βάρους.

Ακολούθως, έφύχετο αύτη έντός ξηραντήρος καί έζυ-
γίζετο, όταν άπέκτα τήν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου.

Διά τής διαφορᾶς τῶν ζυγίσεων ύπελογίζετο ή τέφρα.

Τά άποτελέσματα τῶν μετρήσεων, τόσον εἰς τό μεσο -
κάρπιον, ὅσον καί εἰς τό ένδοκάρπιον, έμφαίνονται εἰς τόν
πίνακα (9).

10) Προσδιορισμός τῶν άναγωγικῶν σακχάρων

Ο προσδιορισμός τούτων έγένετο κατά τήν μέθοδον La-
ne καί Eynon, κατ' αὐτόν δέ, άπητήθησαν τά κάτωθι άντι-
δραστήρια:

α) Διάλυμα θειικοῦ χαλκοῦ, παρασκευασθέν διά διαλύσεως
34,639 γραμμαρίων $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ εἰς άπεσταγμένον ὕδωρ,
συμπληρώσεως μέχρι 500 κυβικῶν έκατοστῶν εἰς ὄγκομε -
τρικήν φιάλην καί διηθήσεως, μέσω ήθμοῦ έκ διηθητικοῦ
χάρτου ή ύαλοβάμβακος (φελίγγειον Α).

β) Άλκαλικόν διάλυμα τρυγικοῦ καλιονατρίου, παρασκευα -
σθέν διά διαλύσεως 173 γραμμαρίων τρυγικοῦ καλιονατρί-
ου καί 50 γραμμαρίων $NaOH$ εἰς άπεσταγμένον ὕδωρ καί συμ-
πληρώσεως εἰς 500 κυβικά έκατοστά εἰς ὄγκομετρικήν φι-
άλην pyrex ή άνθισταμένην εἰς τά άλκάλια. Τό διάλυμα ά-
φίετο, επί δύο ήμέρας, μετά τήν πάροδον τῶν ὁποίων διη -
θείτο, μέσω στρώματος έξ άμιάντου (φελίγγειον Β).

γ) Διάλυμα 2,5 ο/οο χημικῶς καθαράς γλυκόζης, τό ὁποῖον
έχρησιμοποιεῖτο διά τόν έλεγχόν τής ὀξειδωτικῆς ικανό-
τητος τῶν 10 ή 25 κυβικῶν έκατοστῶν διαλύματος Soxlet
(μῖγμα φελιγγείου Α καί Β εἰς άναλογίαν ἴσων ὀγκων).

δ) Διάλυμα κυανοῦ τοῦ μεθυλενίου 1 ο/ο εἰς ὕδωρ.

- ε) Κεκορεσμένον διάλυμα ούδετέρου όξεικου̃ μολύβδου.
στ) Κεκορεσμένον διάλυμα άνθρακιου̃ νατρίου.
ζ) Διθυλική άλκοόλη 70 ο/ο.

Έκχύλισις τών σακχάρων

Διά τήν έκχύλισιν έξυγίζετο έπακριβώς ώρισμένη ποσότης μεσοκαρπίου ή ένδοκαρπίου, έτεμαχίζετο ταχέως πρός άποφυγήν άλλοιώσεων, κυρίως συνεπεία δράσεως ένζύμων, καί έν συνεχεία έρρίπτετο έντός ζερούσης άλκοόλης 70 ο/ο. Μετά βρασμόν 5 λεπτών ώμοιογενοποιείτο εις ήλεκτρικόν άναμίκτην.

Η άλκοόλη έξεδιώκετο έκ του̃ δειγματος διά τοποθετήσεως εις ύδρόλουτρον καί τότε τό δειγμα μετεφέρετο έντός όγκομετρικής φιάλης τών 500 κυβικών έκατοστών καί διηγάζετο τή βοηθεία κεκορεσμένων διαλυμάτων α) ούδετέρου όξεικου̃ μολύβδου καί β) άνθρακιου̃ νατρίου.

Τό όλον άφίετο επί 24 ώρας καί τότε συνεπληρούτο εις τόν όγκον τών 500 κυβικών έκατοστών μέσω ήθμου̃ έκ κοινοϋ διηθητικου̃ χάρτου.

Επί του̃ διαυγοϋς τούτου διαλύματος έγένητο ό προσδιορισμός τών αναγωγικων̃ σακχάρων, συμφώνως πρός τήν έπίσημον μέθοδον τήν περιγραφομένην εις τό έγχειρίδιον τών έπισήμων αναλύσεων της Α.Ο.Α.Ο. κατά τόν ακόλουθον τρόπον:

Έκ του̃ διαυγοϋς διηθήματος έπληρούτο προχοΐς τών 50 κυβικων̃ έκατοστών. Παραλλήλως, παρελαμβάνοντο εις δύο ποτήρια ζέσεως μικράς ποσότητες φελιγγείου Α καί φελιγγείου Β, κεχωρισμένως. Εις τρίτον ποτήριο ζέσεως μετεφέροντο διά σιφωνίων έπακριβώς 25 κυβικά έκατοστά έξ έκάστου φελιγγείου. Άνεδεύοντο καλώς καί έκ του̃ μίγματος Α καί Β διά τρίτου σιφωνίου τών 10 κυβικων̃ έκατοστών μετεφέροντο ανά 10 κυβικά έκατοστά εις 3-4 κωνικάς φιάλας χωρητικότητος 250 ή 300 κυβικων̃ έκατοστών.

Εις τήν πρώτην φιάλην προσετίθεντο έκ τής προχοΐδας 15 κυβικά έκατοστά διαλύματος καί έθερμαίνοντο μέχρι βρασμού διά τοποθετήσεως της φιάλης εις άσθενή φλόγα λύχνου

υπεράνω πλέγματος. Ο βρασμός συνεχίζεται επί 15 δευτερόλεπτα και τότε συνεχίζεται ή προσθήκη, κατά διαστήματα, μικρών ποσοτήτων σακχαρούχου διαλύματος, μέχρις ότου τό κυανού χρώμα έξησθένει πλήρως. Είς τό σημειον τουτο προσετίθεντο 2-5 σταγόνες κυανού του μεθυλενίου, όποτε τό χρωμα του διαλύματος καθίστατο έντονώτερον. Συνεχίζεται στάγδην ή προσθήκη σακχαρούχου διαλύματος έκ τής προχολίδος, μέχρις έξαφανίσεως τής κυανής χροιάς και έμφανίσεως κεραμοχρόου τοιαύτης.

Τό σακχαρούχον διάλυμα ήραιούτο δι' άπεσταγμένου ύδατος, τόσον ώστε ό καταναλισκόμενος όγκος αυτού, διά τήν ανάγωγήν των 10 κυβικών εκατοστών μίγματος φελιγγείου Α και φελιγγείου Β, ένυμαίνετο μεταξύ 15-50 κυβικών εκατοστών.

Ο άκριβής προσδιορισμός των σακχάρων έπετυγχάνετο είς τήν δευτέραν μέτρησιν. Κατ' αυτήν προσετίθετο άπ' άρχης όγκος έκ του σακχαρούχου διαλύματος, τόσος, ώστε γά απέχωμεν κατά 0,5 κυβικόν εκατοστόν άπό τό τέλος τής αντίδράσεως, βάσει των δεδομένων τής πρώτης δοκιμαστικής μετρήσεως. Ηκολούθει θέρμανσις, είς άσθενή φλόγα, μέχρι βρασμού. Από του σημείου ένάρξεως του βρασμού έμετρείτο ό χρόνος και, άκριβώς μετά παρέλευσιν 2 λεπτών, προσετίθεντο 2-5 σταγόνες κυανού του μεθυλενίου. Έν συνεχεία, προσετίθετο στάγδην ή ύπολειπομένη ποσότης του 0,5 - 1 κυβικού εκατοστού σακχαρούχου διαλύματος έντός του τρίτου λεπτού και μέχρις έξαφανίσεως τής κυανής αποχρώσεως, και έμφανίσεως κεραμοχρόου τοιαύτης.

Τά άποτελέσματα των μετρήσεων των αναγωγικών σακχάρων, τόσον είς τό μεσοκάρπιον, όσον και είς τό ένδοκάρπιον, έμφαίνονται είς τόν πίνακα (10).

11) Προσδιορισμός των όλικων σακχάρων

Του προσδιορισμού προηγείτο ίμβερτοποίησης τυχόν καλαμοσακχάρου, ή όποία έγένετο κατά δύο τρόπους:

α) Ίμβερτοποίησης δι' όξινίσεως και θερμάνσεως

Η ίμβερτοποίησης έγένετο κατά τήν έπίσημον άμερι-

κανικὴν μέθοδον, ὡς ἀκολουθῶς:

Παρελαμβάνετο ὠρισμένος ὄγκος ἐκ τοῦ τελικοῦ διαλύματος, τοῦ περιέχοντος τὰ σάκχαρα, ἐντός ὀγκομετρικῆς φιάλης διπλάσιας χωρητικότητος ἀπὸ ὃ, τι ὁ ὄγκος τοῦ πρὸς ἱμβερτοποίησιν διαλύματος. Προσετίθεντο ἐν συνεχείᾳ 5 κυβικὰ ἑκατοστὰ πυκνοῦ ὑδροχλωρικοῦ ὀξεύος, καὶ ἀμέσως ἡ φιάλη ἐνεβαπτίζετο εἰς ὑδρόλουτρον ρυθμιζομένης θερμοκρασίας.

Ἐντός τοῦ περιεχομένου τῆς φιάλης ἀνηρτᾶτο θερμομετρον πρὸς παρακολούθησιν τῆς θερμοκρασίας τοῦ διαλύματος. Ἐντός 2,5 ἕως 3 λεπτῶν, ἡ θερμοκρασία τοῦ διαλύματος ἔφθανεν εἰς τοὺς 67 ± 2 °C. Εἰς τὴν θερμοκρασίαν ταύτην παρέμενε τὸ διάλυμα ἐπὶ 5 λεπτά καὶ κατόπιν ἡ φιάλη ἐνεβαπτίζετο ἐντός μίγματος πάγου καὶ ὕδατος, μέχρις ὅτου ἡ θερμοκρασία τοῦ διαλύματος κατήρχετο εἰς τοὺς 20-25 °C. Ἠκολούθει ἐξουδετέρωσις τῶν προστεθέντων 5 κυβικῶν ἑκατοστῶν τοῦ πυκνοῦ ὑδροχλωρικοῦ ὀξεύος διὰ προσθήκης πυκνοῦ διαλύματος καυστικοῦ νατρίου, παρουσία 2-4 σταγόνων δείκτου φαινολοφθαλεΐνης, μέχρις ἐμφανίσεως ἐλαφρῶς ροδίνης χροιάς.

Τέλος, ἐγένετο συμπλήρωσις εἰς τὸν ὄγκον, διήθησις μέσω ἡθμοῦ ἐκ κοινοῦ διηθητικοῦ χάρτου καὶ, ἐν συνεχείᾳ, σκυρομέτρησις τῶν ἀναγωγικῶν σακχάρων τοῦ διαλύματος.

β) Ἰμβερτοποίησις διὰ τοῦ ἐνζύμου "ἱμβερτάση"

Διὰ τὴν ἱμβερτοποίησιν ἐλαμβάνετο ἐντός ποτηρίου ζέσεως ὠρισμένος ὄγκος ἐκ τοῦ τελικοῦ διαυγοῦς διηθήματος, τοῦ περιέχοντος τὰ σάκχαρα. Ἐντός τούτου προσετίθετο ἐκχύλισμα ἱμβερτάσης διὰ τολουολίου ἐκ κυτταρῶν *Saccharomyces cerevisiae* εἰς ἀναλογίαν 1-2 κυβικῶν ἑκατοστῶν ἀκατεργάστου ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος πρὸς 100 κυβικὰ ἑκατοστὰ σακχαρούχου διαλύματος. Προηγουμένως, ἡ τιμὴ τοῦ pH τοῦ διηθήματος ἐρυθμίζετο εἰς 4,9 διὰ προσθήκης σταγόνων διαλύματος ὀξεικοῦ ὀξεύος 100/o. (Τὸ ἐνζυμικόν παρασκεύασμα ἐπρομηθεύθημεν ἀπὸ τὸ Ἔργαστήριον Μορφολογίας καὶ Φυσιολογίας Φυτῶν).

Ήκολούθει επώασις επί 5-6 ώρας υπό θαν 28°C προς υδρόλυσιν τής σακχαρόζης, εν συνεχεία δε, διήθησις μέσω κοινού διηθητικού χάρτου και, τελικώς, σακχαρομέτρησις διά διαλύματος Soxhlet κατά τόν ίδιον τρόπον, ως και κατά τόν προσδιορισμόν τών αναγωγικών σακχάρων.

Τά εκ τής εφαρμογής τών δύο μεθόδων λιβερτοποιήσεως επιτευχθέντα αποτελέσματα ήσαν παραπλήσια, εϋρεθειών ελαφρώς χαμηλοτέρων τιμών εις τήν περίπτωσιν χρησιμο - ποιήσεως του ένζυμου.

Τά αποτελέσματα τών μετρήσεων εμφαίνονται εις τόν πίνακα (10) και άφορούν εις τά μή αναγωγικά σάκχαρα, τά αναγωγικά και τά όλικά. Ειδικώς, αι τιμαί τών αναγωγικών σακχάρων είναι οι μέσοι όροι μετρήσεών των μέ λιβερτο - ποιήσιν κατά τούς δύο τρόπους, ένω αι τιμαί τών μή ανα - γωγικών σακχάρων υπελογίζοντο εκ τής διαφοράς μεταξύ ό - λικών και μή αναγωγικών σακχάρων δι' έν έκαστον δείγμα.

12) Ποιοτικός έλεγχος τών σακχάρων

Διά τόν ποιοτικόν έλεγχον τών σακχάρων έφηρμόσθη ή τεχνική τής χρωματογραφίας επί χάρτου και επί λεπτής στοιβάδος.

A) Χρωματογραφία επί χάρτου

1) Έκχύλισις τών σακχάρων-Δείγματα προς χρωματογράφησιν.

Η εκχύλισις τών σακχάρων έγένετο, ως και εις τήν πε - ρίπτωσιν του προσδιορισμού τών αναγωγικων σακχάρων.

Δείγματα προς χρωματογράφησιν έλαμβάνοντο:

- α) Έκ του εκχυλίματος τών σακχάρων
- β) Έκ του λιβερτοποιηθέντος, τή επιδράσει τής λιβερτά - σης, διηθήματος
- γ) Έκ του χυμού μεσοκαρπίου και ένδοκαρπίου τών κίτρων άνευ ούδεμιάς επεξεργασίας αυτού κατά τήν μέθοδον του Tanner (1963).

2) Έργαστηριακός έξοπλισμός-Διαλύτης αναπτύξεως-Άντι -

δραστήρια-Έργαστηριακός έξοπλισμός

- α) Χρωματογραφική συσκευή ύαλίνη, πλάτους 25 εκατοστών ,

μήκους 50 εκατοστῶν καί ὕφους 50 εκατοστῶν, ἀεροστεγῶς κλείουσα.

β) Μικροπιπέττα τῶν 20,25 καί 50 χιλιοστῶν τοῦ κυβ.έκ.

γ) Ψεκαστικόν ἐξάρτημα

δ) Χάρτης χρωματογραφίας Whatman No 1.

Διαλύτης ἀναπτύξεως

Πυριδίνη-Ὄξεικος αἰθυλεστήρ-Ὑδωρ, ὑπὸ ἀναλογίαν ὄγκων 20:80:10.

Ἀντιδραστήρια ἐμφάνισης

α) Διάλυμα HF, παρασκευασθὲν δι' ἀναμίξεως 2 ὄγκων HF 48 ο/ο μετὰ 40 ὄγκων ἀκετόνης.

β) Διάλυμα AgNO₃ μετὰ 200 κυβικῶν εκατοστῶν ἀκετόνης. Πρὸς καλυτέραν ἀνάμιξιν τὸ μίγμα ἐθερμαίνεται μετὰ προηγούμενην προσθήκην ὀλίγων σταγόνων ἀπεσταγμένου ὕδατος.

γ) Ἀλκοολικόν διάλυμα NaOH, παρασκευασθὲν διὰ διαλύσεως 20 γραμμαρίων NaOH εἰς μικράν ποσότητα ὕδατος καί, ἐν συνεχείᾳ, συμπληρώσεως δι' αἰθυλικῆς ἀλκοόλης εἰς τὸ λίτρον.

δ) Διάλυμα 5N NH₃.

3) Ἐπίθεσις σταγόνων-Ἐμφάνισις χρωματογραφημάτων

Ἐκ τῶν ἀναφερθέντων δειγμάτων ἐλαμβάνετο διὰ μικροπιπέττας ὠρισμένος ὄγκος καί μετεφέρετο ἐπὶ τῶν κηλίδων τοῦ χάρτου. Μετὰ ἀπὸ ἐκάστην ἐπίθεσιν τῆς κηλίδος τὸ διαβραχέν μέρος ἐστεγνοῦτο εἰς ρεῦμα θερμοῦ ἀέρος. Καί μόνον εἰς ἅς περιπτώσεις ἐπεζητεῖτο μικρά κηλὶς, αὕτη ἐξηραίνετο διὰ ρεύματος θερμοῦ ἀέρος καί κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς τοποθετήσεώς της ἐπὶ τοῦ χάρτου.

Καθ' ὅμοιον τρόπον μετεφέροντο ἐπὶ τοῦ χάρτου αἱ κηλίδες τῶν γνωστῶν διαλυμάτων σακχάρων.

Ἡ ἀνάπτυξις ἐγένετο κατὰ κατερχόμενον μέτωπον, ὃ δὲ χρόνος ἀναπτύξεως διὰ τὸ χρησιμοποιηθὲν μίγμα διαλυτῶν ἦτο 48 ὥραι.

Διὰ τὴν ἐμφάνισιν τῶν κηλίδων τὸ χρωματόγραμμα

ἐξήγετο ἐκ τῆς συσκευῆς χρωματογραφῆσεως καὶ ἀφίετο ἐκτεθειμένον εἰς τὴν ἀτμοσφαῖραν ἐπ' ἀρκετόν, ὥστε νὰ ἀπαλλαγῆ τελείως τῆς πυριδίνης. Ἀκολουθῶς, ἐνεβαπτίζετο ἐντὸς τοῦ διαλύματος ὑδροφθορίου καὶ, ἀφοῦ ἐστέγνωεν, ἐνεβαπτίζετο ἐκ νέου ἐντὸς τοῦ διαλύματος τοῦ νιτρικοῦ ἀργύρου. Μετὰ ταῦτα, ἐξετίθετο εἰς τὸν ἀέρα ἐπὶ 15 λεπτά περίπου, ἦτοι μέχρις ὅτου στεγνώσῃ πλήρως, καὶ ἀκολουθῶς ἐφεκάζετο μετὰ τοῦ ἀλκοολικοῦ διαλύματος καυστικοῦ νατρίου, ὁπότε ἐνεφανίζοντο αἱ κηλίδες τῶν σακχάρων. Εἰς τὴν τελευταίαν φάσιν τὸ στεγνὸν χρωματογράφημα, ἐνεβαπτίζετο διαδοχικῶς ἐντὸς τοῦ διαλύματος ἀμμωνίας καὶ ἀπεσταγμένου ὕδατος, διὰ τῆς διαδικασίας δέ αὐτῆς αἱ κηλίδες καθίσταντο εὐκρινέστεραι. Ὁ προσδιορισμὸς ἐγένετο διὰ συγκρίσεως τῆς τιμῆς Rf γνωστῶν καὶ ἀγνώστων σακχάρων.

Εἰς τὰς εἰκόνας 4 καὶ 5 τῶν σελίδων 43 καὶ 44 ἐμφαίνονται λεπτομερῶς αἱ κηλίδες τῶν γνωστῶν σακχάρων, ὡς καὶ τῶν σακχάρων ἐκ τοῦ μεσοκαρπίου καὶ τοῦ ἐνδοκαρπίου.

B) Χρωματογραφία ἐπὶ λεπτῆς στοιβάδος

Ἡ χρωματογράφησις τῶν σακχάρων ἐπὶ λεπτῆς στοιβάδος ἐγένετο συμφώνως πρὸς τὴν προταθεῖσαν ὑπὸ τοῦ Rifi - ferri (1965) τεχνικὴν, τὰ διάφορα στάδια τῆς ὁποίας ἦσαν τὰ ἀκόλουθα:

1) Ἐκχύλισις τῶν σακχάρων

Ἡ ἐκχύλισις τῶν σακχάρων ἐγένετο ὁμοῦ μετὰ τῶν ὀξεῶν (βλέπε ἐκχύλισιν ὀξεῶν σελίς 25).

2) Ἐτοιμασία τῶν στηλῶν ρητίνης ἀνταλλαγῆς ιόντων--Ἐκλύσεις δειγμάτων

Ἐγένετο κατὰ τὸν ἴδιον, ὡς προκειμένου καὶ περὶ τοῦ ποιοτικοῦ προσδιορισμοῦ τῶν ὀξεῶν, τρόπον (βλέπε σελ. 26).

3) Καθαρισμὸς τοῦ δείγματος

Ὡς ἤδη ἀνεφέρθη εἰς τὰς προηγουμένας σελίδας, κατὰ τὸν ποιοτικὸν προσδιορισμὸν τῶν ὀξεῶν, τὸ ἐκχύλισμα τῶν κίτρων, μετὰ τὸ διαδοχικὸν "πέρασμα" μέσω τῆς ρητίνης ἀνταλλαγῆς κατιόντων καὶ ἐν συνεχείᾳ μέσω ρητίνης ἀνταλ -

λαγής ανιόντων, άπηλλάσσετε τών κατιόντων και τών όξεών του. Κατά συνέπειαν δι' άπλής έκπλύσεως τής ρητίνης άνταλλαγής κατιόντων δι' άπεσταγμένου ύδατος παρελαμβάνοντο τά σάκχαρα διά τόν έν συνεχεία ποιοτικόν προσδιορισμόν. Ή έκπλυσις τής στήλης συνεχίζετο μέχρι παραλαβής έκπλύματος άρνητικοϋ ως προς άναγωγικάς ούσίας. Είς τήν τελευταίαν φάσιν τό σύνολον τών έκπλυμάτων μετεφέρετο είς τόν ύποδοχέα τής συσκευής συμπυκνώσεως ύπό κενόν (Rotary flash evaporator) και συνεπυκνούτο ύπό θαν 50°C ή κατωτέραν μέχρι παραλαβής όλίγων κυβικών έκατοστών.

Έκ τοϋ συμπυκνωθέντος δείγματος έλαμβάνετο ώρισμένος όγκος προς χρωματογράφησιν.

4) Χρησιμοποιηθείσα συσκευή και χρησιμοποιηθέντα ύλικά

α) Χρωματογραφικός θάλαμος (ό αυτός, ως και κατά τόν προσδιορισμόν τών όξεών).

β) Πλάκες ύάλιναι (αί αύται, αί όποΐαι έχρησιμοποιήθησαν και διά τόν προσδιορισμόν τών όξεών).

γ) Silica gel G.

δ) Διάλυμα όξεικοϋ νατρίου 0,02 M.

ε) Διφαινυλαμίνη, άνιλίνη, όρθοφωσφορικόν όξύ 80 ο/ο, άκετόνη, χλωροφόρμιον και μεθανόλη.

5) Παρασκευή τών προσροφητικών στρωμάτων

Διά τήν παρασκευήν τών προσροφητικών στρωμάτων, 30 γραμμάρια Silica gel G και 75 κυβικά έκατοστά διαλύματος όξεικοϋ νατρίου 0,02M άνεμιγνύοντο καλώς έντός ποτηρίου ζέσεως μέχρι τελείας όμοιογενοποίησεως. Ή κολλούθει έπίστρωσις τών πλακών κατά τόν ίδιον τρόπον, ως και είς τήν περίπτωσιν τών όξεών.

6) Έτοιμασία τών χρωματογραφημάτων

Έγένετο κατά τόν ίδιον τρόπον, ως και κατά τόν ποιοτικόν προσδιορισμόν τών όξεών (βλέπε σελίδα 27).

7) Διαλύται-Άνάπτυξις τών χρωματογραφημάτων

Έχρησιμοποιεΐτο έν μόνον σύστημα διαλυτών κατάλληλον διά τήν άνάπτυξιν και τόν διαχωρισμόν τών σακχάρων, χλωροφόρμιου-μεθανόλης, ύπό άναλογίαν 6:4 (0/0).

8) Αντιδραστήρια έμφανίσεως

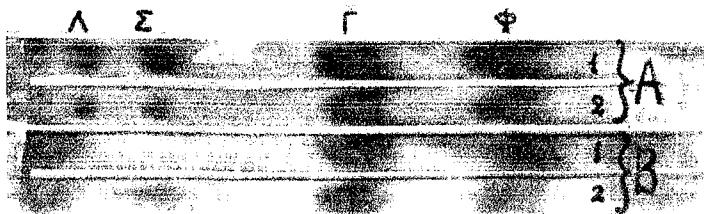
Τό κατάλληλότερον σύστημα έμφανίσεως άπεδείχθη τό προταθέν υπό τών Bailey καί Boume (1960), διά τήν παρασκευήν του οποίου άνεμιγνύοντο:

- α) 4 γραμμάρια διφαινυλαμίνης
- β) 4 κυβικά έκατοστά άνιλίνης
- γ) 20 κυβικά έκατοστά όρθοφωσφορικού όξέος 80 ο/ο, καί
- δ) 200 κυβικά έκατοστά άκετόνης.

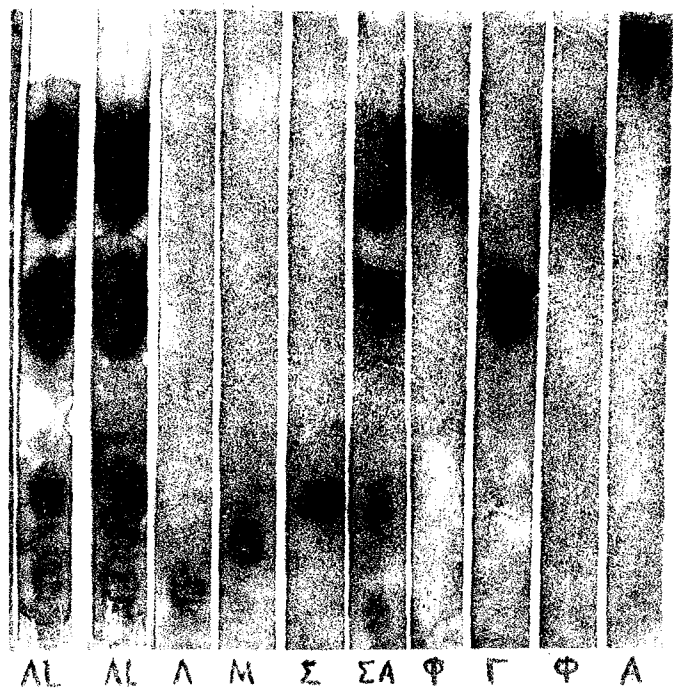
9) Έμφάνισις

Μετά τό πέρας τής άναπτύξεως τά χρωματογραφήματα άπεμακρύνοντο έκ του θαλάμου, άφίεντο επί 10 λεπτά, διά τήν έπαλλαγήν των από τόν διαλύτην τής άναπτύξεως, καί έν συνεχεία έφεκάζοντο διά του άναφερθέντος συστήματος έμφανίσεως.

Μετά τόν φεκασμόν έτοποθετοῦντο τά χρωματογραφήματα έντός ξηρού κλιβάνου θερμοκρασίας 85°C επί 10 λεπτά, όπότε έκαμνον τήν έμφάνισίν των αί κηλίδες τών σακχάρων μέ τά χαρακτηρίζοντα έκάστην χρώματα (βλ. εικ. 6, σελ. 45).



Εικ.4. Χρωματογράφημα σακχάρων επί χάρτου
Α: Δείγμα, πρό τής επίδράσεως ίμβερτάσης
Β: Δείγμα, μετά τήν επίδρασιν ίμβερτάσης
1: Σάκχαρα ένδοκαρπίου
2: Σάκχαρα μεσοκαρπίου
Φ: Φρουκτόζη, Γ: Γλυκόζη, Σ: Σακχαρόζη, Α: Λακτόζη



Εικ. 5. Χρωματογράφημα σακχάρων επί χάρτου

AL : Σάκχαρα μεσοκαρπίου

Λ : Λακτόζη

Μ : Μαλτόζη

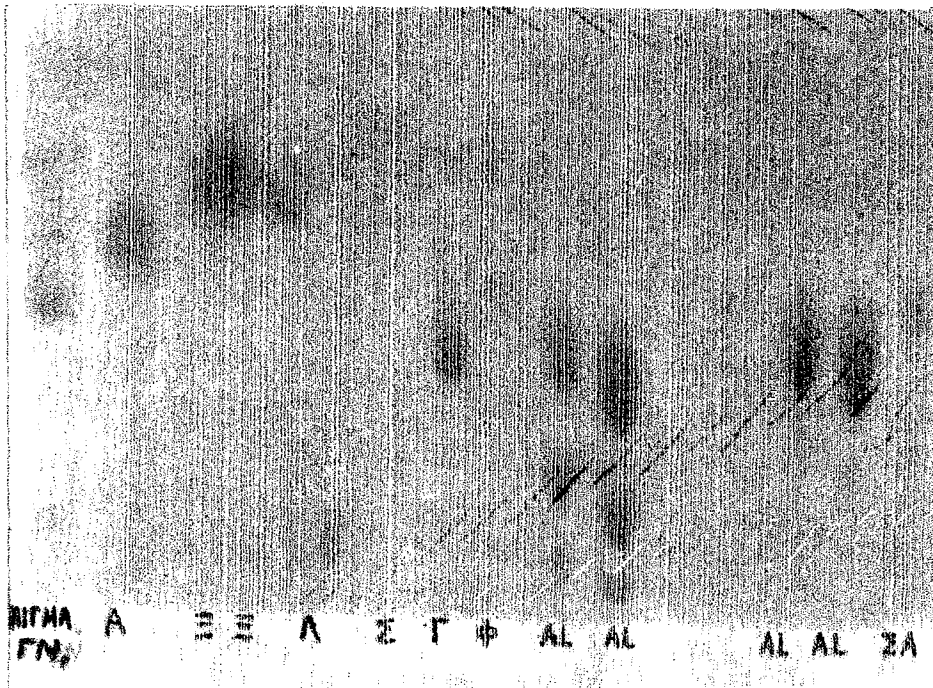
Σ : Σακχαρόζη

ΣΑ : Σάκχαρα ένδοκαρπίου

Φ : Φρουκτόζη

Γ : Γλυκόζη

Α : Άραβινόζη



Εικ. 6. Χρωματογράφημα σακχάρων επί λεπτής
στοιβάδος ἐν Silica Gel G
ΓΝ : Μίγμα γνωστών σακχάρων
Ε : Ευλόζη
Λ : Λακτόζη
Σ : Σακχαρόζη
Γ : Γλυκόζη
Φ : Φρουκτόζη
ΑΛ : Σάκχαρα μεσοκαρπίου
ΣΑ : Σάκχαρα ένδοκαρπίου

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Έκ πληθυσμοῦ 200 κίτρων, συλλεγέντων κατὰ καιροῦς ἐξ ὅλων τῶν κίτροπαραγωγῶν περιοχῶν τῆς Ἑλλάδος, ἐλήφθη τυχαῖον δείγμα, τῇ βοήθειᾳ πίνακος τυχαίων ἀριθμῶν, μεγέθους 49 κίτρων (δείγμα ἄνευ ἐπανατοποθετήσεως).

Ὁ χωρισμὸς τῶν 49 κίτρων εἰς 6 δμάδας (ὡς ἐμφανίζεται εἰς τὸν πίνακα 1) ἐγένετο, διὰ νὰ ἀποδειχθῇ ὅτι τὸ δείγμα καὶ ὡς πρὸς τὰ τρία μέρη τοῦ κίτρου (ἐπυάριον, μεσοκάρπιον καὶ ἐνδοκάρπιον) προέρχεται ἀπὸ κανονικὴν κατανομήν. Τοῦτο ἀπεδείχθη ὅτι ἰσχύει.

Ὁ προσδιορισμὸς τῶν ὀρίων μεταξὺ τῶν ὀποιῶν κυμαίνεται μὲ πιθανότητα 95 ο/ο τὸ ποσοστὸν ἐπὶ τοῖς ἐκατὸν τῶν τριῶν ὡς ἄνω συστατικῶν μερῶν τοῦ κίτρου, ἐγένετο μὲ ἐφαρμογὴν τοῦ τύπου:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{s}{\sqrt{n}}$$

ὅπου \bar{x} = ὁ ἀριθμητικὸς μέσος τῶν τιμῶν τοῦ δείγματος ἐκάστου μέρους,
 " s = ἡ τυπικὴ ἀπόκλισις καὶ
 " n = ὁ ἀριθμὸς τῶν κίτρων τοῦ δείγματος.

Αἱ ἀνευρεθεῖσαι τιμαὶ ἔχουν ὡς ἀκολούθως:

α) Διὰ τὸ ἐπικάρπιον : $\bar{x} = 18,286$ ο/ο καὶ $s = 1,765$

$$\text{"Αρα } \mu = 18,286 \pm \frac{1,765}{\sqrt{49}}, \text{ ἥτοι } 17,782 < \mu < 18,790$$

β) Διὰ τὸ μεσοκάρπιον : $\bar{x} = 56,466$ ο/ο καὶ $s = 4,345$

$$\text{"Αρα } \mu = 56,466 \pm \frac{4,345}{\sqrt{49}}, \text{ ἥτοι } 55,225 < \mu < 57,707$$

γ) Διὰ τὸ ἐνδοκάρπιον : $\bar{x} = 25,247$ ο/ο καὶ $s = 2,629$

$$\text{"Αρα } \mu = 25,247 \pm \frac{2,629}{\sqrt{49}}, \text{ ἥτοι } 24,496 < \mu < 25,998$$

Κατόπιν, δι' ἐφαρμογῆς τῆς μηδενικῆς ὑποθέσεως ἀπεδείχθη ὅτι μὲ πιθανότητα 95 ο/ο τὰ ποσοστά τῶν τριῶν συστατικῶν μερῶν τοῦ κίτρου, ἥτοι τοῦ ἐπικαρπίου, τοῦ μεσοκαρπίου καὶ τοῦ ἐνδοκαρπίου, εἶναι 18 ο/ο, 57 ο/ο καὶ 25 ο/ο ἀντιστοίχως.

Αί τιμαί τῶν καθ' ἕκαστα χημικῶν συστατικῶν τῶν ἀναλυθέντων κίτρων, ὡς αὐταί ἐμφανίζονται εἰς τοὺς πίνακας 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 καὶ 10, ἔτυχον τῆς ἰδίας στατιστικῆς ἐπεξεργασίας, μέ μοναδικήν διαφοράν ὅτι εἰς τόν τύπον προσδιορισμοῦ τῆς μέσης ἀποκλίσεως παρενεβλήθη καὶ ὁ παράγων τοῦ διά τόν λόγον ὅτι ὁ ἀριθμός τῶν ἀναλυθέντων εἰς ἐκάστην περίπτωσιν, ἦτο μικρός ($n < 30$).

Ὁ ἐφαρμοσθεὶς τύπος εἶναι $\mu = \bar{x} \pm \frac{s}{\sqrt{n}}$ το, ὅπου το ἡ τιμή τῶν πινάκων t (Student), ἡ ὁποία ἀντιστοιχεῖ εἰς πιθανότητα 95 ο/ο καὶ εἰς $(n-1)$ βαθμούς ἐλευθερίας.

Τό εὖρος διακυμάνσεως τῆς τιμῆς τοῦ μ (τῆς τιμῆς τῆς μαθηματικῆς ἐλπίδος, ἡ ὁποία ἐκφράζει τό μέσον τοῦ πληθυσμοῦ) ἐμφαίνεται εἰς τοὺς ἀντιστοίχους πίνακας.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

α) Ποσοτική ἀνάλυσις - Προσδιορισμός τῶν συστατικῶν μερῶν τοῦ κίτρου

Τά ἀποτελέσματα τῶν προσδιορισμῶν τῶν συνιστῶντων τό κίτρον μερῶν, ὡς καὶ τῶν ἀναλύσεων διά τῶν ὁποίων προσδιωρίσθησαν: ἡ ξηρά οὐσία, αἱ πηκτικαί οὐσαί, ἡ ὀλική ὀγκομετρουμένη ὀξύτης, αἱ ἀκατέργαστοι πρωτεῖναι, αἱ ἀκατέργαστοι λιπαραί οὐσαί, αἱ ἀκατέργαστοι ἴνες, ἡ τέφρα καὶ τέλος, ἡ ὀλική ποσότης τῶν σακχάρων (ἀναγωγικῶν καὶ μὴ ἀναγωγικῶν) ἐμφαίνονται εἰς τοὺς εἰδικούς κατά περίπτωσιν πίνακας τοῦ παραρτήματος τῆς παρούσης ἐργασίας (ὡς ἐκατοστιαῖα ποσοστά).

Τά στοιχεῖα ταῦτα, διά στατιστικῆς ἐπεξεργασίας ἔδωσαν τάς κάτωθι διακυμάνσεις τιμῶν διά τά συνιστῶντα τό κίτρον μέρη καὶ τά διάφορα χημικά αὐτοῦ συστατικά, μέ πιθανότητα 95 ο/ο.

1) Ἐπικάρπιον (φλοιός) ο/ο	17,782 < μ < 18,790
2) Μεσοκάρπιον (albedo) ο/ο	56,225 < μ < 57,707
3) Ἐνδοκάρπιον (σάρξ) ο/ο	24,496 < μ < 25,998

4)	Ξηρά ούσα μεσοκαρπίου			10,472 €μς	12,644
5)	Ξηρά ούσα ένδοκαρπίου			8,854 €μς	11,058
6)	Πηκτική ούσα μεσοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			1,525 €μς	1,653
7)	Πηκτική ούσα ένδοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			1,037 €μς	1,181
8)	Πηκτική ούσα μεσοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			13,548 €μς	14,696
9)	Πηκτική ούσα ένδοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			11,017 €μς	11,853
10)	'Ολική όγκομετρομένη όξύτης μεσοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			0,125 €μς	0,255
11)	'Ολική όγκομετρομένη όξύτης ένδοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			1,549 €μς	2,285
12)	'Ολική όγκομετρομένη όξύτης μεσοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			1,059 €μς	2,241
13)	'Ολική όγκομετρομένη όξύτης ένδοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			15,641 €μς	22,859
14)	"Αζωτον μεσοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			0,0819 €μς	0,1007
15)	"Αζωτον ένδοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			0,1238 €μς	0,1264
16)	"Αζωτον μεσοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			0,7690 €μς	0,8910
17)	"Αζωτον ένδοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			1,1160 €μς	1,3740
18)	Πρωτεΐνικαί ούσαι μεσοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			0,5170 €μς	0,6230
19)	Πρωτεΐνικαί ούσαι ένδοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			0,6864 €μς	0,8770
20)	Πρωτεΐνικαί ούσαι μεσοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			5,0970 €μς	5,8830
21)	Πρωτεΐνικαί ούσαι ένδοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			6,9490 €μς	8,6150
22)	'Ακατέργαστοι λιπαράί ούσαι μεσοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			0,0759 €μς	0,1027
23)	'Ακατέργαστοι λιπαράί ούσαι ένδοκαρπίου έπί νωπής βάρσεως			0,0880 €μς	0,5422
24)	'Ακατέργαστοι λιπαράί ούσαι μεσοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			0,7102 €μς	0,9936
25)	'Ακατέργαστοι λιπαράί ούσαι ένδοκαρπίου έπί ξηράς βάρσεως			0,8921 €μς	5,1777

26)	'Ακατέργαστοι ζῆνες μεσοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς βάζσεως	1, 1470 < μ < 1, 4530
27)	'Ακατέργαστοι ζῆνες ἐνδοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς βάζσεως	0, 9380 < μ < 1, 4220
28)	'Ακατέργαστοι ζῆνες μεσοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς βάζσεως	11, 4360 < μ < 13, 6240
29)	'Ακατέργαστοι ζῆνες ἐνδοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς βάζσεως	9, 9050 < μ < 12, 1870
30)	Τέφρα μεσοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς βάζσεως	0, 2800 < μ < 0, 3380
31)	Τέφρα ἐνδοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς βάζσεως	0, 3750 < μ < 0, 4690
32)	Τέφρα μεσοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς βάζσεως	1, 7220 < μ < 3, 1760
33)	Τέφρα ἐνδοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς βάζσεως	4, 2420 < μ < 4, 9100
34)	'Αναγωγικᾶ σάκχαρα μεσοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς βάζσεως	4, 1820 < μ < 8, 0540
35)	'Αναγωγικᾶ σάκχαρα ἐνδοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς βάζσεως	4, 0820 < μ < 5, 0660
36)	'Αναγωγικᾶ σάκχαρα μεσοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς βάζσεως	36, 1890 < μ < 69, 6870
37)	'Αναγωγικᾶ σάκχαρα ἐνδοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς βάζσεως	40, 7510 < μ < 50, 6010 ;
38)	Μῆ ἀναγωγικᾶ σάκχαρα μεσοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς βάζσεως	0, 0210 < μ < 0, 6790
39)	Μῆ ἀναγωγικᾶ σάκχαρα ἐνδοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς βάζσεως	0, 2670 < μ < 0, 7930
40)	Μῆ ἀναγωγικᾶ σάκχαρα μεσοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς βάζσεως	0, 2520 < μ < 5, 8040 ;
41)	Μῆ ἀναγωγικᾶ σάκχαρα ἐνδοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς βάζσεως	2, 9340 < μ < 7, 7280
42)	'Αναγωγικᾶ καὶ μὴ σάκχαρα μεσοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς οὐσῆας	4, 5270 < μ < 8, 4110
43)	'Αναγωγικᾶ καὶ μὴ σάκχαρα ἐνδοκαρπίου ἐπὶ νωπῆς οὐσῆας	4, 5020 < μ < 5, 6540
44)	'Αναγωγικᾶ καὶ μὴ σάκχαρα μεσοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς οὐσῆας	39, 1610 < μ < 72, 7710
45)	'Αναγωγικᾶ καὶ μὴ σάκχαρα ἐνδοκαρπίου ἐπὶ ξηρᾶς οὐσῆας	45, 2470 < μ < 56, 7610

Έκ τῆς συγκριτικῆς μελέτης τῶν εἰς τὰς σελίδας 47 ἕως 49 παρατιθεμένων στοιχείων συνάγεται ὅτι:

1) Τά κύρια συστατικά τῆς ξηρᾶς οὐσίας τῶν κίτρων (μεσοκαρπίου καί ἐνδοκαρπίου) εἶναι τὰ σάκχαρα (περίπου τό ἥμισυ τοῦ βάρους), αἱ πηκτικαί οὐσίαι καί αἱ ἀκατέργα - στοι ἴνες. Ἀσυγκρίτως μικρότερα εἶναι τὰ ποσοστά τῶν ἀκατεργάστων πρωτεϊνῶν, τῆς τέφρας καί τῶν ἀκατεργάστων λιπαρῶν οὐσιῶν, ἐνώ τὰ ὀξεᾶ εἶναι συστατικά ἄνευ ἰδιαιτέρας σημασίας διά τό μεσοκάρπιον καί ἐν ἐκ τῶν κυρίων τοῦ ἐνδοκαρπίου.

2) Τό μεσοκάρπιον, συγκριτικῶς πρός τό ἐνδοκάρπιον, εἶναι πλουσιώτερον εἰς ξηράν οὐσίαν, πηκτικᾶς ὕλης, ἀκατεργάστους ἴνας καί σάκχαρα, πτωχότερον, ὅμως, εἰς ὀξεᾶ, πρωτεϊνικᾶς οὐσίας, λιπαρᾶς οὐσίας καί τέφραν.

3) Ἡ σχετικῶς μεγάλη διαφορά μεταξύ μεσοκαρπίου καί ἐνδοκαρπίου, ὡς πρός τήν περιεκτικότητα εἰς σάκχαρα καί ὀξεᾶ, ἀντικατοπτρίζεται ἐπί τῆς γεύσεως, μέ ἀποτέλεσμα νά εἶναι τό μεσοκάρπιον, καταφανῶς γλυκεῖας γεύσεως, ἐνώ τό ἐνδοκάρπιον, καταφανῶς ὀξέλου.

β) Ποιοτική ἀνάλυσις σακχάρων καί ὀξέων

Ἡ ταυτοποίησις τῶν σακχάρων τοῦ μεσοκαρπίου καί ἐνδοκαρπίου ἐβασίσθη εἰς τήν μελέτην τῶν χρωματογραφημάτων ἐπί χάρτου καί ἐπί λεπτῆς στοιβάδος. Κριτήρια διά τόν χαρακτηρισμόν των ἦσαν:

1) Ἡ τιμή Rf λαμβανομένη ἀπολύτως, ἀλλά καί ἐν συγκρίσει πρός κηλίδας γνωστῶν σακχάρων τοῦ ἰδίου χρωματογραφήματος. Ἡ τεχνική τοποθέτησεως κηλίδων γνωστῶν καί ἀγνώστων σακχάρων ἐπί τοῦ ἰδίου χρωματογραφήματος δίδει κατά τόν Tappere (1964) καλυτέρας ἐνδείξεις εἰς τήν χρωματογραφίαν ἀπό ὅπῃ ἡ ἀπόλυτος τιμή Rf, γνωστοῦ ὄντος ὅτι ἡ τελευταία ἐπηρεάζεται ἀπό τὰς ἰδιαιτέρας συνθήκας ὑπό τὰς ὁποίας γίνεται ἡ χρωματογράφησις.

2) Τό χρῶμα τό ὁποῖον ἀνέπτυσσεν ἡ κηλίς μετά τήν ἐμφάνισιν τοῦ χρωματογραφήματος.

Τά ἀποτελέσματα τῆς μελέτης τῶν χρωματογραφημάτων

συνοφίζονται ως ακολούθως:

Σάκχαρα	Τιμαί Rf			Χρώμα κηλίδων
	Γνωστών	Μεσο- καρπίου	Ένδο- καρπίου	
Λακτόζη	0,23	0,22	0,21	Κυανούν - ΐώδες
Σακχαρόζη	0,40	0,39	0,38	Λιλά
Φρουκτόζη	0,52	0,52	0,52	Έρυθρόν πορφύρας
Γλυκόζη	0,52	0,52	0,52	Τεφροπράσινον
Άραβινόζη	0,54	-	-	Στιλπνόν κυανούν
Ευλόζη	0,66	-	-	Στιλπνόν κυανούν

Αί τιμαί Rf εΐναι ό μέσος όρος ΐξ τούλάχιστον με -
τρήσεων επί Ισαρίθμων χρωματογραφήμάτων.

Μέ βάσιν τά άνωτέρω στοιχειά διεπιστώθησαν τά ακό-
λουθα:

1) Ή ύπαρξις σακχαρόζης, γλυκόζης , φρουκτόζης και έ-
νόξ τετάρτου σακχάρου, τό όποϊον βάσει τής τιμής Rf και
του χρώματος τής κηλίδος θά πρέπει νά χαρακτηρισθΐ ως
λακτόζη. Ή χαρακτηρισμός, όμως, γίνεται μετά μεγάλης έπι-
φιλάξεως, δεδομένου ότι εις τήν βιβλιογραφίαν δέν αναφέ-
ρεται ή λακτόζη ως σάκχαρον φυτικών ιστών, γενικώς , και
ιδιαιτέρως τών έσπεριδοειδών, αλλά κατ' άποκλειστικότητα,
ως σάκχαρον του γάλακτος τών θηλαστικών.

2) Ή παντελής άπουσία πεντοζών υπό έλευθέραν μορφήν.

Κατ' ανάλογον τρόπον ή ταυτοποίησις τών όξέων του
μεσοκαρπίου και ένδοκαρπίου έβασίσθη, όμοίως, εις τήν με-
λέτην τών χρωματογραφήμάτων επί λεπτής στοιβάδος. Ή ως
κριτήρια έχρησιμοποιήθησαν:

α) Ή έντασις του χρώματος τών κηλίδων και

β) Ή τιμή Rf άπολύτως λαμβανομένη, αλλά και έν συσχετι-
σμώ πρόξ κηλίδας γνωστών όξέων επί του ίδιου χρωματογρα-
φήματος.

Αί τιμαί Rf εΐναι, όμοίως, ό μέσος όρος ΐξ τούλάχι -
στον μετρήσεων επί Ισαρίθμων χρωματογραφήμάτων. Αί ΐδιαι
έμετρήθησαν εις χρωματογραφήματα επί στρώματος κυτταρί-

νης, ή ανάπτυξεις τών οποίων έγινεν με τό κάτωθι σύστημα διαλυτών: Άνυδρος αΐθυλαιθήρ-μυρμηκικόν όξύ-ΰδωρ (EFW) υπό αναλογία 20 : 5 : 3 (0/0).

Τά αποτελέσματα μελέτης τών χρωματογραφημάτων τών όξέων συνοφίζονται ως άκολουθως:

Ό ξ έ α	Τ ι μ α τ Rf		
	Γνωστών	Μεσοκαρπίου	Ένδοκαρπίου
Κιτρικόν	0,50	0,51	0,52
Γαλακτικόν	0,87	0,87	-
Μηλικόν	0,60	0,60	0,61
Άσκορβικόν	0,34	0,35	0,36
Όξαλικόν	0,70	0,69	-
Τρυγικόν	0,36	-	-
Ήλεκτρικόν	0,86	-	-

Μέ βάσιν τά άνωτέρω δεδομένα διεπιστώθησαν τά εξής:

- α) Ή ύπαρξις τών άκολουθων πέντε όξέων, ήτοι του κιτρικού, του γαλακτικού, του μηλικού, του άσκορβικού καΐ του όξαλικού, εις τό μεσοκάρπιον.
- β) Ή ύπαρξις τριών όξέων εις τό ένδοκάρπιον, ήτοι του κιτρικού, του μηλικού καΐ του άσκορβικού.
- γ) Ή άπουσία τρυγικού όξέος από τούς ιστούς του κΐτρου, παρά τάς αντιθέτους διαπιστώσεις άλλων έρευνητών επί όξέων τών άλλων έσπεριδοειδών.
- δ) Ή ύπαρξις γαλακτικού όξέος, παρ'ότι εκ πρώτης όψεως παράξενος. Τοϋτο άπετέλεσεν αντικείμενον έπισταμένης μελέτης καΐ έγινοντο πολλαί έπαναλήψεις. Ή περίπτωση μικροβιακής αλλοιώσεως του δείγματος άπεκλείσθη, καθ'ότι τό εκχύλισμα έλαμβάνετο από ύγιή κΐτρα καΐ διετηρείτο υπό κατάφυξιν εις ήν περίπτωσηιν δέν ήτο δυνατή ή άμεσος επίθεσις τών κηλίδων. Τό γαλακτικόν όξύ, ως γνωστόν, ειΐναι κατά κύριον λόγον προϊόν μικροβιακής διασπάσεως τών σακχάρων. Έν τούτοις ή παρουσία αυτού εΐχει διαπιστωθΐ καΐ εις ώρισμένους φυτικούς ιστούς ως εις τά κεράσια (Joslyn, 1950).

Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο Ν Δ Ε Υ Τ Ε Ρ Ο Ν
ΠΗΚΤΟΛΥΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ ΤΩΝ ΚΙΤΡΩΝ

Τά έσπεριδοειδή, γενικώς, είναι πλούσια εις πηκτικώς ούσιας. Άρκει νά σημειωθῆ ότι τά εκ τῆς χυμοποιήσεως τῶν πορτοκαλίων καί λεμονίων ὑπολείμματα άποτελοῦν, ὁμοῦ μετά τοῦ πλακοῦντος τῆς βιομηχανίας χυμοῦ μήλων, τήν πρώτην ὕλην διά τήν παραλαβήν τῆς "πηκτίνης" τοῦ έμπορίου. Ὁ Braverman (1949) αναφέρει, ότι οί φλοιοί πορτοκαλίων περιέχουν 1,5-3 ο/ο πηκτικὴν ούσίαν ἐπί νωπῆς βάσεως καί 9-12 ο/ο ἐπί ξηρᾶς βάσεως, ἐνῶ τό μεσοκάρπιον τοῦ λεμονίου (Albedo) περιέχει κατά τόν Wilson (1949) 2,5-5,5 ο/ο πηκτικὴν ούσίαν ἐπί νωπῆς βάσεως καί 30-40 ο/ο ἐπί ξηρᾶς βάσεως. Εἰς τά κίτρα τό ποσοστόν τῶν πηκτικῶν ούσιῶν εἶναι ἔτι μεγαλύτερον δεδομένου ότι τό μεσοκάρπιον, τό ὁποῖον εἶναι πλούσιον εἰς πηκτικῶς ούσιας, άποτελεῖ, κατά μέσον ὄρον, τά 57ο/ο τοῦ συνολικοῦ βάρους, ἐνῶ τό μεσοκάρπιον ὁμοῦ μετά τοῦ λεπτοῦ ἐπικαρπίου, τά 82 ο/ο τοῦ συνολικοῦ βάρους τῶν κίτρων.

Αἱ πηκτικαί ούσιαί εἶναι μεγαλομοριακαί ούσιαί κολλοειδοῦς συστάσεως, παράγωγα τῶν ὕδατανθράκων καί συστατικά κατ' ἀποκλειστικότητα τῶν φυτικῶν ἰστών. Κατά τό μεγαλύτερον μέρος, τό μόριον τῶν πηκτικῶν ούσῶν συντίθεται ἀπό δακτυλίους γαλακτουρονικοῦ ὀξέος γραμμῶς συνδεδεμένους μέσω α 1,4 γλυκοζιτικοῦ δεσμοῦ. Τά ἐπί τῆς ἀλύσεως καρβοξύλια εἶναι εἴτε ἐλεύθερα (πηκτικόν ὀξύ) εἴτε μερικῶς ἔστεροποιημένα μετά μεθανόλης (πηκτινικόν ὀξύ, πηκτίναι) εἴτε ἐξουδετερωμένα μετά κατιόντων (άλατα γαλακτουρονικοῦ ὀξέος).

Ἐναλόγως τῆς μεθυλίσεως ἢ μή, τοῦ βαθμοῦ μεθυλίσεως, τῆς ἐξουδετερώσεως τῶν καρβοξυλίων διά κατιόντων ἢ τῆς ἐνώσεως τῶν μετ' ἄλλων ἐνώσεων αἱ πηκτικαί ὕλαι ὑποδιαιροῦνται εἰς πηκτικόν ὀξύ, πηκτινικόν ὀξύ, πηκτίναι καί πρωτοπηκτίναι (Joslyn , 1962).

Τά ένζυμα, τά ὁποῖα συνδέονται μέ τήν διάσπασιν τοῦ μορίου τῶν πηκτικῶν ούσιῶν, συγκεντρώνου, γενικῶς, ἰδιαιτέρον ἐνδιαφέρον εἰς τήν τεχνολογίαν τῶν τροφί -

μων, διότι διά τῆς δράσεώς των ἐπιδροῦν ἐπὶ τῆς ὑφῆς τῶν ὀπωρῶν καὶ λαχανικῶν, ἐπὶ τῆς διαυγείας τῶν χυμῶν καὶ ἐπὶ τῆς ἀποδόσεως εἰς χυμὸν κατὰ τὸν διὰ πίεσεως διαχωρισμὸν του.

Εἰδικῶς, εἰς τὴν περίπτωσιν τῶν κίτρων τὸ "μαλάκωμα" (softening) τῆς ὑφῆς καὶ ἡ πολτοποίησης τούτων, σοβαρὸν πρόβλημα κατὰ τὴν βιομηχανικὴν των ἐπεξεργασίαν, φαίνεται νὰ εἶναι μεταβολαί συνδεόμεναι μετὰ τῆς ἐνζυμικῆς δράσεως τῶν πηκτολυτικῶν ἐνζύμων ἐπὶ τῶν πηκτικῶν ὑλῶν αὐτῶν.

Διὰ τοὺς ἀνωτέρω λόγους τὰ πηκτολυτικὰ ἐνζυμα ἔχουν ἀποτελέσει εἰς τὸ παρελθόν καὶ ἐξακολουθοῦν νὰ ἀποτελοῦν καὶ σήμερον ἀντικείμενον ἐντατικῆς ἐρεύνης, με ἀποτέλεσμα νὰ διευρύνεται, συνεχῶς, ὁ κατάλογος καὶ τῶν φυτικῶν ἰστῶν μετὰ πηκτολυτικῶν ἐνζύμων καὶ τῶν διαφόρων μικροοργανισμῶν ἐκκρινόντων πηκτολυτικὰ ἐνζυμα. Τὰ ἐνζυμα ταῦτα κατατάσσονται εἰς δύο κατηγορίας, ἥτοι:

α) Ἐ ν ζ υ μ α σ α π ω ν ο π ο ι ῆ σ ε ω ς

Εἰς τὴν κατηγορίαν ταύτην τάσσονται τὰ ἐνζυμα, τὰ ὁποῖα ὑδρολοῦν τὰ μεθοξύλια τοῦ μορβίου τῆς πηκτικῆς οὐσίας κατὰ τὴν ἀκόλουθον ἀντίδρασιν:



καὶ εἶναι γνωστὰ εἰς τὴν βιβλιογραφίαν ὑπὸ τὰ ὀνόματα : PECTIN-ESTERASE (PE) καὶ PECTIN-METHYL-ESTERASE (PME).

Ἡ πηκτινεστεράση εἶναι, γενικῶς, προσροφημένη ἐπὶ τῶν κυτταρικών τοιχωμάτων τῶν διαφόρων φυτικῶν κυττάρων ἀπὸ ὅπου ἀποδεσμεύεται δι' ἐκχυλίσεως τῶν ἰστῶν με διαλύματα οὐδετέρων ἀλάτων ὑπὸ συνθήκας ἐλαφρῶς ἀλκαλικῆς. Εἰδικῶς, προκειμένου περὶ ἐσπεριδοειδῶν ἡ διαλυτοποίησις τῆς πηκτινεστεράσης ἐπιτυγχάνεται με ὑδατικὸν διάλυμα χλωριούχου νατρίου pH ἐλαφρῶς ἀλκαλικοῦ (Jansen καὶ Jang, 1960). Διὰ τὸν ἴδιον σκοπὸν, ὡς ὑγρὸν ἐκχυλίσεως τῶν ἰστῶν, δύναται νὰ χρησιμοποιηθῇ διάλυμα σαπυνοποιημένης πηκτικῆς οὐσίας 1 ο/ο, pH 3,8 περιέχον χλωριούχον νάτριον εἰς συγκέντρωσιν 0,3 M.

Τό optimum pH διά τήν δράσιν τῆς πηκτινεστεράσης διαφόρου προελεύσεως κεῖται μεταξύ 7 καί 8 καί τό optimum θερμοκρασίας εἶναι 65°C διά τήν πηκτινεστεράσιν τῶν ἐσπεριδοείδων, 55°C διά τήν πηκτινεστεράσιν τῶν μήλων καί 80°C διά τήν πηκτινεστεράσιν τῆς τομάτας. Εἶναι τό ἐνζυμον τοῦτο σχετικῶς ἀνθεκτικόν εἰς τήν θέρμανσιν, δεδομένου ὅτι ἀνιχνεύθη ὑπό τῶν Pollard καί Kieser (1951) εἰς γυμνόν μήλου 80 ο/ο τῆς ἐνζυμικῆς δραστηριότητος μετά θέρμανσιν 40' εἰς θερμοκρασίαν 68 °C. Κατά τούς ἰδίους ἡ ἀδρανικοποίησις τῆς πηκτινεστεράσης τῶν ἐσπεριδοειδῶν ἐπετεύγη μέ θέρμανσιν ἐπί 23 δευτερόλεπτα εἰς θαν 92 °C.

Συνεπεία δράσεως τῆς πηκτινεστεράσης διασπῶνται τά μεθοξύλια, ὁπότε σχηματίζονται ἐλεύθερα καρβοξύλια ἐπί τοῦ μορίου τῆς πηκτικῆς οὐσίας μέ ταυτόχρονον ἀπελευθέρωσιν μεθανόλης. Δι' ὅ καί χρησιμοποιεῖται ἐναϊώρημα πηκτικῆς οὐσίας 1 ο/ο pH 7,0 ἐντός τοῦ ὁποίου προστίθεται τό ἐνζυμικόν παρασκευάσμα τῆς πηκτινεστεράσης, ἡ δρᾶσις τοῦ ὁποίου παρακολουθεῖται μέ τήν συνεγῆ προσθήκην διαλύματος καυστικῆς νατρίου 0,25 N, ὥστε νά διατηρῆται τό pH σταθερόν εἰς θερμοκρασίαν 30°C (Owens καί ἄλλοι, 1952).

β) Ἐνζυμα ἐποδομῆσις

Εἰς τήν κατηγορίαν ταύτην τάσσονται τά ἐνζυμα, τά ὁποῖα διασκοῦν τόν γλυκοζιτικόν δεσμόν α 1,4 τῆς σκελετικῆς ἀλύσεως τοῦ μορίου εἴτε δι' ὑδρολύσεως (πολυγαλακτουρονάσαι) εἴτε διά τῆς διακινήσεως ἐνός πρωτονίου (H^+) καί δημιουργίας ἐνός 4,5 διπλοῦ δεσμοῦ (τρανσελιμινάσαι ἢ λυάσαι).

Ἄμφότεραι αἱ κατηγορίαι τῶν ὡς ἄνω ἐνζύμων εἶναι δυνατόν νά δράσουν εἴτε ἐπί πηκτικῆς οὐσίας (μέ διάφορον βαθμόν μεθοξυλίων) εἴτε ἐπί πηκτικοῦ ὀξεύς (ἐστερημένου μεθοξυλίων). Ἐπίσης, ἡ προσβολή τοῦ μορίου γίνεται ὑπό τινων μέν ἐνζύμων ἀπό τῶν περάτων (ἔξω) καί δὴ ἐκ τοῦ ἀναγωγικοῦ ἄκρου, ὁπότε σχηματίζουν, ὡς τελικά προϊόντα, γαλακτουρονικόν ὀξύδι καί τρι-γαλακτουρονικόν ὀξύδι, ὑπό ἄλλων δέ, ἐκ τῶν ἔσω (σχηματίζουν οὐρονίδια μέ διάφορον μοριακόν βάρος). Ἐρισμένα πολυγαλακτουρονάσαι

προσβάλλουν τήν πηκτινήν πολύ ταχύτερον από ό,τι τό κηκτικόν όξύ (See Miller καί Jansen , 1952) καί διά τόν λόγον αυτόν έχουν όνομασθή πολυμεθυλογαλακτουρονάσαι. Αντιθέτως, είς άλλας περιπτώσεις, όρισμένα πολυγαλακτουρονάσαι διασπούν τό πεκτικόν όξύ πολύ ταχύτερον από ό,τι τήν πηκτινήν (Jansen καί Macdonnel , 1945). Είς τήν περίπτωση αυτήν φαίνεται ότι τά γειτονικά πρός τόν γλυκοζιτικόν δεσμόν καρβοξύλια πρέπει νά είναι έλεύθερα, άλλως ή διάσπασις του δεσμού παρεμποδίζεται. Άλλοτε , ή διάσπασις του μορίου της πηκτικής ούσίας επιταχύνεται μέ ταυτόχρονον δράσιν πηκτινεστεραάσης καί πολυγαλακτουρονάσης (Jansen καί Macdonnel , 1945).

Τό optimum pH διά τήν δράσιν των πολυγαλακτουρονάσων κυμαίνεται έντός εύρέων όρίων, αναλόγως της προελεύσεώς των, γενικώς, όμως, είναι τουτο χαμηλόν (μεταξύ 3 καί 5) διά τάς πολυγαλακτουρονάσας των εύρώτων καί ύψηλότερον (5, 2-5, 4 καί άνω) διά τάς πολυγαλακτουρονάσας των βακτηριδίων (Nassuno καί Starr , 1966). Χαμηλόν είναι επίσης, καί τό optimum pH διά τήν πολυγαλακτουρονάσιν της ζύμης *Saccharomyces fragilis* (κυμαίνεται μεταξύ 3,5 καί 4, 4).

Η πολυγαλακτουρονάση των φυτικών ιστών δεν έχει εύρέως μελετηθή καί ή παρουσία της έχει διαπιστωθή είς τά ροδάκινα, τόν βουτυρόκαρπον, τά μέσπιλα, τά άχλάδια καί τόν άνανά. Συστηματικής μελέτης έτυχεν ή πολυγαλακτουρονάση της τομάτας υπό των McGready, McComb καί Jansen (1954) καί των Phaff and Patel (1966).

Διά τήν παραλαβήν του ένζύμου έχρησιμοποιεϊτο ό πλακοϋς τομάτας πιεζομένης είς πιεστήριον, ό όποιος μετά προσθήκην άλατος 5 ο/ο επί του βάρους του διεσπίρειτο είς ύδατικόν διάλυμα χλωριούχου νατρίου όμοίως 5 ο/ο. Ο διαβεβρεγμένος οϋτος πλακοϋς απέδιδε διά πίεσεως τήν πλουσίαν είς πολυγαλακτουρονάσιν ύγράν φάσιν, ή όποία υπεβάλλετο είς διαπήδησιν έναντι άπεσταγμένου ύδατος, κλασμάτωνσιν των περιεχομένων έν αυτή πρωτεϊνων διά καθιζήσεως μέ προσθήκην διαφόρων ποσοτήτων θειικού άμμωνίου κ. τλ..

Τελικῶς, παρελαμβάνετο πολυγαλακτουρονάση, περισσότερο ἢ ὀλιγώτερον καθαρᾶς μορφῆς, ἡ ὁποία διετῆρει τὴν δρα-
στικότητά της ἐπὶ ἕν ἔτος ὑπὸ θερμοκρασίαν 5 °C πα-
ρουσία methiolate εἰς συγκέντρωσιν 0,01 ο/ο, ὡς συντη-
ρητικοῦ.

Ὡς πρὸς τὸν τρόπον διασπάσεως τοῦ μορίου τῆς πη-
κτικῆς οὐσίας ἡ πολυγαλακτουρονάση τῆς τομάτας ὁμοί-
ζε πρὸς τὴν πολυγαλακτουρονάση τῶν εὐρώτων καὶ διέ-
σπα εἰς χαμηλὴν τιμὴν τοῦ pH (optimum μεταξύ 3,5 καὶ
5) τὸ πολυγαλακτουρονικὸν ὄξύ πρὸς γαλακτουρονικόν.

Αἱ πολυγαλακτουρονάσαι εἶναι, γενικῶς, ἔνζυμα σχε-
τικῶς ἀνθεκτικὰ εἰς τὴν θέρμανσιν. Οὕτως, οἱ McCulloch
καὶ Kertesz (1946) διετύπωσαν τὴν ἔποψιν ὅτι τῆμα τῆς
πολυγαλακτουρονάσης τῆς τομάτας πιθανῶς εἶναι ἀνθεκτι-
κὸν εἰς τὴν θέρμανσιν, ἐνῶ οἱ Patel καὶ Phaff (1960)
συνιοτοῦν θέρμανσιν διαρκείας 20-30 λεπτῶν εἰς τὴν θαν-
τῶν 60°C δι' ἀδρανοποίησιν κατὰ 90 ο/ο τῆς πολυγαλα-
κτουρονάσης τῆς τομάτας. Ὁ Γκίλγης (1964) ἀπέδειξεν ὅτι
ἀπαιτεῖται θέρμανσις ἐπὶ 30 λεπτά εἰς θαντῶν 100 °C
δι' ἀδρανοποίησιν τῆς πολυγαλακτουρονάσης τῆς φράουλας.

Μέ τὴν δρασίν τῆς πολυγαλακτουρονάσης διασπῶνται
οἱ γλυκοζιτικοὶ δεσμοὶ τοῦ μορίου τῆς πηκτικῆς οὐσίας
(ἀποπολυμερισμός) καὶ ταυτοχρόνως ἀποδεσμεύονται καρ-
βονυλικαὶ ὁμάδες (ἀναγωγικαί). Κατὰ συνέπειαν ἡ ἀνί-
χνευσις τῶν πολυγαλακτουρονασῶν καὶ ἡ παρακολούθησις
τῆς δράσεώς των γίνεται μέ μέτρησιν τοῦ ἰξώδους εἰς ἐν-
αιώρημα πηκτικῆς οὐσίας καὶ τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων (τὸ
ἰξῶδες πίπτει μέ δρασίν τῶν πολυγαλακτουρονασῶν ἐνῶ
αἱ ἀναγωγικαὶ ὁμάδες αὐξάνουν). Ἡ μέτρησις τοῦ ἰξώ-
δους γίνεται μέ εἰδικὰ ὄργανα, τὰ ἰξωδόμετρα, ἐνῶ αἱ
ἀναγωγικαὶ ὁμάδες μετροῦνται μέ ὀξειδωσίν των διά δια-
λύματος ἰωδίου, συμφώνως πρὸς τὴν μέθοδον τῶν Willstat-
ter καὶ Schudel (1918), ὡς αὕτη ἐτροποποιήθη ὑπὸ
τοῦ Owens καὶ τῶν συνεργατῶν του (1952).

Οἴκοθεν νοεῖται ὅτι μείωσις ἰξώδους καὶ αὐξήσις
ἀναγωγικῶν ὁμάδων συμβαδίζουσι εἰς τὴν περίπτωσιν τῶν

έξωπολυγαλακτουρονασών και έχει εύρεση ότι υδρολύονται 40 ο/ο περίπου των γλυκοζιτικών δεσμών, όταν η τιμή του ιξώδους περιορίζεται εις τό ήμισυ. Αντιθέτως, εις τήν περίπτωσιν των ένδοπολυγαλακτουρονασών η τιμή του ιξώδους περιορίζεται εις τό ήμισυ μέ τήν υδρόλυσιν μόνον του 2-3 ο/ο του συνόλου των γλυκοζιτικών δεσμών εις έναιώρημα πηκτικής ούσίας.

Πολυγαλακτουρονάση μικροβιακής προελεύσεως άνευ ρέθη εις τάς ζύμας *Saccharomyces fragilis* (Demain και Phaff, 1954-Demain και Phaff, 1957), και *Rhodotorula glutinis* (Vaughn, 1957) εις τούς εύρώτας (Balatsouras και Vaughn, 1958) και εις τά βακτηρίδια (Nortje και Vaughn, 1953 - Kraght και Starr, 1953 - Nassuno και Starr, 1966) και έχει αποτελέσει από μακρού άντικείμενον έντατικής έρεύνης.

Τέλος, τρανσελιμινάσαι (λυάσαι) είναι ένζυμα βακτηριδικής προελεύσεως, έξαιρέσει τής τρανσελιμινάσης εκ φύτρων πίσων, ήτις έμελετήθη υπό των Albersheim και Killias τό 1962. Η ύπαρξις τούτων διεπιστώθη κατά τά προσφατά έτη και ήτο πρώτος ο Albersheim τό 1960, ο όποιος απέδειξεν, ότι ο γλυκοζιτικός δεσμός του μορίου τής πηκτικής ούσίας δέν διασπάται μόνον μέ υδρόλυσιν, αλλά και μέ απόσπασιν ένός πρωτονίου από τό υπ' αριθμ. 5 άτομον άνθρακος, όποτε δημιουργείται διπλοϋς δεσμός τής τράνς μορφής μεταξύ των υπ' αριθμ. 4 και 5 ατόμων άνθρακος. Τό ένζυμον τούτο ώνομάσθη PATE (polygalacturonic acid trans-eliminase) και εκκρίνεται όμοϋ μετά των πολυγαλακτουρονασών (Hasegawa και Nagel, 1967 - Nassuno και Starr, 1966). Δρά και επί έστεροποιημένης πηκτικής ούσίας, κυρίως, όμως, δρά επί του πολυγαλακτουρονικού όξέος και δίδει, ως τελικόν προϊόν, άνόρεστον διγαλακτουρονικόν όξύ, τό όποιον απορροφα φως εις μήκος κύματος 235 mμ και διαχωρίζεται εις χρωματόγραμμα καθοδικής όδεύσεως.

Τρανσελιμινάσας εκκρίνει τό βακτηρίδιον *Clostridium multif fermentans* (MacMillan) και Vaughn, 1963 - MacMillan et al, 1963), τό βακτηρίδιον *Bacillus polymyxa* (Nagel

καί Vaughn, 1960-Nagel καί Vaughn, 1961α- Nagel καί Vaughn 1961β) καί τό *Erwinia carotovora* (Nassuno καί Starr, 1966).

Αἱ τρανσελιμινάσαι ἔχουν τύχει συστηματικῆς μελέτης, κυρίως ἐκ μέρους τῶν Nagel καί Vaughn, ἔχει δέ ἀποδειχθῆ ὅτι ἔχουν optimum pH λίαν ὑψηλόν (μεταξύ 7,0 καί 9,5) καί ἔχουν ἀνάγκη ἰόντος ἀσβεστίου διὰ maximum δράσεως.

Ἡ ἀνίχνευσις, ἀλλά καί ἡ παρακολούθησις τῆς δράσεως τῶν τρανσελιμινάσων (PATE) γίνεται μέ μέτρησιν τῆς ἀπορροφήσεως τοῦ φωτός ἐναιωρήματος πηκτικῆς οὐσίας εἰς μήκος κύματος 235mμ, ὀφειλομένης εἰς τό σχηματιζόμενον ἀκόρεστον διγαλακτουρονικόν ὄξύ. Τό ἴδιον ἀνιχνεύεται διὰ χρωματογραφίας ἐπί χάρτου ἢ λεπτῆς στοιβάδος.

Τά κίτρα εἶναι πλουσιώτερα ὄλων τῶν ἐσπεριδοειῶν εἰς πηκτικῆς οὐσίας καί τὰ περισσότερον εὐαίσθητα εἰς τό μαλάκωμα, κυρίως λόγω τῆς εἰδικῆς ἐπεξεργασίας εἰς τήν ὁποίαν ὑποβάλλονται. Ἐν τούτοις οὐδεμία ἔρευνα ἐγένετο, ἐξ ὧν τοῦλάχιστον γνωρίζομεν, μέχρι τοῦδε ἐπί τῶν πηκτολυτικῶν ἐνζύμων.

Αὐτός ἦτο ὁ λόγος, ὁ ὁποῖος μᾶς ὤθησεν εἰς τήν ἀνάληψιν μιᾶς τοιαύτης ἐργασίας ἐν τῇ προσπάθειᾳ μας ὅπως διευκρινίσωμεν ἐάν τὰ κίτρα περιέχουν τὰ ἴδια πηκτολυτικά ἐνζυμα, ὡς καί τὰ ἄλλα ἐσπεριδοειδῆ καί κατά πόσον τὰ ἐνζυμα ταῦτα εὐθύνονται διὰ τό μαλάκωμα τῶν ἰστών εἰς τό στάδιον τῆς ζυμώσεως ἢ τῆς συντηρήσεως.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ

A. ΦΑΣΙΣ

I. Π ρ ο έ λ ε υ σ ι ε ς τ ῶ ν κ ῖ τ ρ ω ν

Τά κίτρα, τὰ ὁποῖα ἐχρησιμοποιήθησαν κατά τήν πρῶ-
την φάσιν του πειραματισμοῦ μας (προκαταρκτικήν) ἀπε-
στάλησαν τήν "Ανοιξιν του 1967 ἀπό τόν Σταθμόν Γεωργυῆς
'Ερεῦνης τῶν Χανίων. Ἄμα τῇ ἀφίξει των εἰς τό 'Εργαστή-
ριον ἐτοποθετήθησαν εἰς τό φυγεῖον ὑπό θαν 2-4°C μέχρι
τῆς χρησιμοποιήσεώς των (διά μικρόν χρονικόν διάστημα).

II. Χ ρ η σ ι μ ο π ο ι η θ ἔ ν τ α ὑ λ ι κ ἄ κ α ἰ ἀ ν τ ι δ ρ α σ τ ῆ ρ ι α

1. Διάλυμα γλωριούχου νατρίου 2 ο/ο.
2. Ρυθμιστικά διαλύματα φωσφορικοῦ δινατρίου-κιτρικοῦ
ὀξεόσ ρΗ 4 καί 7, 8.
3. "Πηκτίνη" μήλου ἄνυδρος (APFEL TROCKEN-PECTIN) τῆς
'Εταιρίας PECTIN FABRIK HERMANN HERBSTREITH KG.
4. Δεκατοκανονικόν διάλυμα ιωδίου.
5. Διάλυμα θειικοῦ ὀξεόσ 2N.
6. Δεκατοκανονικόν διάλυμα θειοθειικοῦ νατρίου.
7. Ἡμικανονικόν (N/2) διάλυμα καυστικοῦ νατρίου.
8. Διάλυμα ὑπερμαγγανικοῦ καλίου 3 ο/ο, τό ὁποῖον παρε-
σκευάσθη διά διαλύσεως 3 γραμμαρίων $KMnO_4$ εἰς ἀπε-
σταγμένον ὕδωρ, πρόσθήκης 15 κυβικῶν ἑκατοστῶν H_2PO_4
ἀναμύξεως καί συμπληρώσεως εἰς τόν ὄγκον.
9. Διάλυμα χρωμοτροπικοῦ ὀξεόσ 5 ο/ο καθαρότητος 84-85
τοῖς ἑκατόν.

III. Τ ρ ό π ο ς ἔ ρ γ α σ ῖ α ς

1) Ἐκχύλισις τῶν ἐνζύμων

Τά κίτρα ἀπεφλοιούντο τῇ βοηθεία μαχαιριδίου (ἀραι-
ρεσις ἐπικαρπίου) καί ἐκόπτοντο εἰς τέσσαρα τεμάχια
ἕξ ἑκάστου τῶν ὁποίων ἀπεχωρίζετο τό μεσοκάρπιον καί τό
ἐνδοκάρπιον. Τό πρῶτον ἐχαρακτηρίσθη διά τοῦ γράμματος
Α καί μετετέτρηεἰς ξύσματα τῇ βοηθεία ἀνοξειδώτου τρι-
πλου, ἐνῶ τό δεύτερον ἐχαρακτηρίσθη διά τοῦ γράμματος Β

καί έτεμαχίσθη περαιτέρω έντός πλακόσ ύρολογίου. Καί είς τάς δύο περιπτώσεις ξύσματα μεσοκαρπίου Α ή τεμάχια ένδοκαρπίου Β έζυγίζοντο, μετεφέροντο έντός ήλεκτρικού άναμίκτηυ καί άνεμινύοντο μετά τρικλασίας ποσότητος διαλύματος χλωριούχου νατρίου (σχέσις βάρους πρός όγκον έν πρός τρία). Ήκολούθει όμοιογενοποίησης καί άφεςις του πολτου επί μίαν νύκτα είς τήν θερμοκρασίαν του δωματίου. Τήν έπομένην διεχωρίζετο ή ύγρά φάσις από τά ύπολείμματα των ίστών διά φυγοκεντρήσεως, διηθείτο αύτη μέσω μικρού τεμαχίου βάμβακος καί μετεφέρετο έντός μεμβράνης σελλοφάν.

Τέλος, τό άκατέργαστον τουτο ένζυμικόν παρασκευάσμα υπεβάλλετο είς διαπήδησιν επί 20 ώρας δι' έμβαπτίσεως έντός άπεσταγμένου ύδατος, τό όποϊον ήλλάσσετο δύο φορές καί έταράσσετο συνεχώς, τή βοηθεία ήλεκτρικού ταράκτου.

2) Παρασκευή έναιωρήματος "πηκτίνης"

Άνά 15 γραμμάρια "πηκτίνης" έναιωροϋντο έντός 500 κυβικών έκατοστών ρυθμιστικού διαλύματος pH 4,4 καί 7,8 άντιστοίχως, τή βοηθεία ήλεκτρικού άναμίκτηυ. Ήκολούθει έπαέρωσις διά συνδέσεως πρός άντλίαν κενού καί διανομή ανά 40 κυβικά έκατοστά έναιωρήματος "πηκτίνης" 30/ο έντός κωνικών φιαλών των 100 κυβικών έκατοστών.

3) Διαμόρφωσις του πειράματος

Διεμορφώθησαν, τελικώς, δύο σειραί δειγμάτων εκ των οποίων ή πρώτη συμπεριέλαβεν ύπόστρωμα pH 4,4 καί ή δευτέρα, ύπόστρωμα pH 7,8. Ή σύνθεσις των καθ' έκαστα δειγμάτων είχεν ως έκολούθως:

Πρώτη σειρά pH 4,4

1Α, 2Α : Περιείχον ανά 40 κυβικά έκατοστά έναιωρήματος "πηκτίνης", 2 κυβικά έκατοστά ύδατος καί 1 κυβικόν έκατοστόν ένζυμικου παρασκευάσματος προελεύσεως μεσοκαρπίου.

3Α, 4Α : Περιείχον ανά 40 κυβικά έκατοστά έναιωρήματος "πηκτίνης", 1 κυβικόν έκατοστόν ύδατος καί 2 κυβικά έκατοστά του ίδίου ένζυμικου παρασκευάσματος.

- 5A : Περιείχε 40 κυβικά εκατοστά έναιωρήματος "πηκτίνης" και 3 κυβικά εκατοστά του ίδιου ένζυμικού παρασκευάσματος.
- 6B, 7B : Περιείχον ανά 40 κυβικά εκατοστά έναιωρήματος "πηκτίνης", 2 κυβικά εκατοστά ύδατος και 1 κυβικό εκατοστό ένζυμικού παρασκευάσματος σαρκός (B).
- 8B, 9B : Περιείχον ανά 40 κυβικά εκατοστά έναιωρήματος "πηκτίνης", 1 κυβικό εκατοστό ύδατος και 2 κυβικά εκατοστά του ίδιου ως άνω ένζυμικού παρασκευάσματος.
- 10B : Περιείχε 40 κυβικά εκατοστά έναιωρήματος "πηκτίνης" και 3 κυβικά εκατοστά του ίδιου ως άνω ένζυμικού παρασκευάσματος.
- M₁ : Περιείχε 40 κυβικά εκατοστά έναιωρήματος "πηκτίνης" και 3 κυβικά εκατοστά ύδατος.
- M₂ : Περιείχε 40 κυβικά εκατοστά έναιωρήματος "πηκτίνης".

Δευτέρα σειρά pH 7,8

Η σειρά αυτή συμπεριέλαβε τα ίδια δείγματα, όπως και η πρώτη, τα οποία διέφερον, ως προς το pH του έναιωρήματος πηκτικής ουσίας (ήτο 7,8 αντί 4,4). Τα δείγματα αυτά, προς διάκρισιν από τα αντίστοιχα της πρώτης σειράς, έτονίσθησαν και ήσαν τα ακόλουθα:

1A', 2A', 3A', 4A', 5A', 6B', 7B', 8B', 9B', 10B', M₁', M₂'.

Μετά την τελείαν ανάμιξιν προσετέθη κατ'έπιφάνειαν εκάστου δείγματος ποσότης 2 κυβικών εκατοστών τολουόλης ως αντισηπτικού και ήκολούθησεν έπώασις υπό θαν 28 °C.

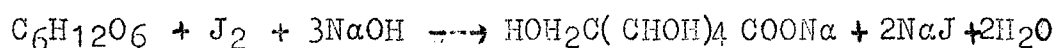
4) Μέτρησις του ίξώδους

Τό ίξώδες έμετρήθη μέ ίξωδόμετρον, ήτοι μέ σιφωνιον χωρητικότητος 25 κυβικών εκατοστών μέ καταλλήλως διαρρυθμισμένον τό κάτω άνοιγμα και δευτέραν χαραγήν κατά τό πέρας της διογκώσεως. Είς τό άνω μέρος του σιφωνίου είχε τοποθετηθή δισδιάτρητον πώμα έξ έλαστικού. Ούτω, μέσω της μιᾶς όπῆς διήρχετο τό άνω στέλεχος του σιφωνίου και μέσω της έτέρας όπῆς, πλευριωῶς κεκαμμένος σω-

λήν. Τό ιξωδόμετρον διά τοῦ πώματος ἔκλειε τάς κωνικάς φιάλας, αἱ ὁποῖαι περιεῖχον τὰ δείγματα, ἐνῶ τό κάτω ἄκρον ἐνεβαπτιζέτο ἐντός τοῦ δείγματος. Διά τοῦ πλευρικοῦ σωλήνος καί τῆ βοήθεια ποιεῖ ἐδημιουργεῖτο πίεσις ἐντός τῆς φιάλης μέ ἀποτέλεσμα νά πληροῦται τό ιξωδόμετρον χωρίς νά παρίσταται ἀνάγκη ἀναρροφήσεως διά τοῦ στόματος. Ἡ τοιαύτη πλήρωσις τοῦ ιξωδομέτρου ἐθεωρήθη ἀναγκαία λόγω τῆς παρουσίας τῆς τολουόλης. Τό ιξώδες ἐξετιμάτο εἰς δευτερόλεπτα, τὰ ὁποῖα ἐμετρῶντο ἀπό τῆς ἐνάρξεως τῆς ροῆς καί μέχρις ὅτου ἡ στάθμη ἔφθανεν εἰς τό ἐπίπεδον τῆς κάτω χαραγῆς.

5) Μέτρησις τῶν ἀναγωγικῶν ομάδων

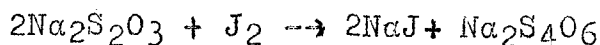
Αἱ ἐκ τῆς ὑδρολύσεως τῶν α 1,4 γλυκοζιτικῶν δεσμών τοῦ μορίου τῆς πηκτικῆς οὐσίας ἀναγεννώμεναι ἀναγωγικά ομάδες ἐμετρήθησαν βάσει τῆς μεθόδου Willstätter καί Schudel (1918). Ἡ μέτρησις βασίζεται, ὡς γνωστόν, εἰς τήν ἀκόλουθον ἀντίδρασιν:



Τήν θέσιν τῆς ἐξόζης εἰς τήν ὡς ἄνω ἀντίδρασιν δύναται νά καταλάβῃ τό γαλακτουρονικόν ὄξύ ἢ οἶονδήποτε προϊόν πολυμερισμοῦ, τό ὁποῖον καταλήγει ἀναγκαστικῶς κατά τό ἔν ἄκρον εἰς ἀναγωγικήν ομάδα (ἀλδεϋδικήν $-C \overset{\ominus}{\underset{H}{\parallel}} O$).

Εἰς ἕκαστον προσδιορισμόν ἐλαμβάνετο ὄγκος 20 ἢ 25 κυβικῶν ἑκατοστῶν ἐκ τοῦ ὑποστρώματος τῆς πηκτικῆς οὐσίας ἐπὶ τοῦ ὁποῖου ἔδρασε τό ἐνζυμικόν παρασκευάσμα καί μετεφέρετο ἐντός κωνικῆς φιάλης μετ' ἐσμυρισμένου πώματος, ὁμοῦ μετά 20 κυβικῶν ἑκατοστῶν N/10 διαλύματος ιωδίου καί 5 κυβικῶν ἑκατοστῶν N/2 διαλύματος καυστικοῦ νατρίου. Μετά παραμονήν εἰς τό σκότος ἐπὶ 15 λεπτά, προσετίθεντο 5 κυβικά ἑκατοστά 2N διαλύματος θεικοῦ ὀξεόσ καί ἠκολούθει ὀγκομέτρησις τοῦ ὑπολειφθέντος ιωδίου διά δεκατοκανονικοῦ διαλύματος θειοθεικοῦ νατρίου παρουσία δείκτου ἀμύλου. Ἐνίοτε ὁ δείκτης δέν ἦτο ἀπαραίτητος, καθ' ὅσον ἡ πηκτικὴ οὐσία μετά τοῦ ιωδίου ἔδιδε μέλαν χρῶμα. Παραλλήλως, ἐχρησιμοποιεῖτο μάρτυς μέ ἀπεσταγμένον ὕδωρ ἀντὶ ὑποστρώματος "πηκτίνης",

ἡ δὲ διαφορά μεταξὺ τῶν δύο μετρήσεων παρίστανε τὸν ὄγκον τοῦ δεκατοκανονικοῦ διαλύματος ἰωδίου ὃ ὀποῖος ἀν-
ηλώθη (ἀνήχθη) κατὰ τὴν ὀξειδωσιν τῶν ἀναγωγικῶν ὀμά-
δων. Ἡ μέτρησις τῆς περισσείας τοῦ ἰωδίου διὰ τοῦ θει-
οθειικοῦ νατρίου βασίζεται εἰς τὴν ἀκόλουθον ἀντίδρα-
σιν:



6) Ἀπόσταξις τῆς μεθανόλης

Παρελαμβάνετο ὄγκος εἴκοσι πέντε κυβικῶν ἑκατο --
στῶν ὑποστρώματος κηκτικῆς οὐσίας, ἠραιούτο εἰς τὸ δε-
πλάσιον δι' ἀπεσταγμένου ὕδατος καὶ ὑπεβάλλετο εἰς ἀπό-
σταξιν. Ἡ τελευταία συνεχίζετο μέχρις ὅτου ἀπέμενεν ἐν-
τός τοῦ ὑποδοχέως τῆς συσκευῆς ὑποστάθμη ὀλίγων κυβικῶν
ἑκατοστῶν καὶ οὐδέποτε μέχρι ξηράνσεως. Ἀκολουθῶς, συνε-
πληροῦτο ὁ ὄγκος μέχρι τῆς χαραγῆς δι' ἀπεσταγμένου ὕ-
δατος, ἀνεδεύετο καλῶς καὶ τὸ ἀπόσταγμα ἐχρησιμοποιεῖτο
διὰ τὸν προσδιορισμὸν τῆς μεθανόλης χρωματομετρικῶς.

7) Προσδιορισμὸς τῆς μεθανόλης

Τῆ βροθεῖα σιφωνίου, μετεφέρετο ὄγκος 2 κυβικῶν ἑ-
κατοστῶν ἐκ τοῦ διαλύματος ὑπερμαγγανικοῦ καλίου ἐντός
ὀγκομετρικῆς φιάλης τῶν 50 κυβικῶν ἑκατοστῶν, τοποθε --
τουμένης ἐν συνεχείᾳ ἐντός θρυμμάτων πάγου. Ἐντός τῆς
ἰδίας φιάλης μετεφέρετο καὶ 1 κυβικὸν ἑκατοστὸν ἐκ τοῦ
ἀποστάγματος τοῦ δείγματος (διατηρουμένου ὑπὸ θερμο --
κρασίαν 2 °C) καὶ τὸ ὅλον ἀφίετο ἐντός τοῦ παγολούτρου
ἐπὶ ἡμισεῖαν ὥραν. Μετὰ τὴν παρέλευσιν τοῦ ὡς ἄνω χρο-
νικοῦ διαστήματος τὸ περιεχόμενον τῆς φιάλης ἀπεχρωμα-
τίζετο διὰ προσθήκης μικρᾶς ποσότητος ὀξίνου θειώδους
νατρίου, ὀπότε προσετίθετο 1 κυβικὸν ἑκατοστὸν διαλύμα-
τος χρωμοτροπικοῦ ὀξέος, ὡς καὶ 15 κυβικά ἑκατοστά πυ-
κνοῦ θειικοῦ ὀξέος, βραδέως, καὶ ὑπὸ συνεχῆ ἀνάδευσιν. Ἀ-
κολουθῶς, τὸ δείγμα ἐτοποθετεῖτο εἰς ὕδρόλουτρον θαρ 65
ἕως 70 °C, ὅπου ἀφίετο ἐπὶ 15 λεπτά, ἠραιούτο δι' ὕδατος,
μέχρι σημείου ἐγγύς τῆς χαραγῆς, ἐψύχετο μέχρι τῆς θερ-
μοκρασίας τοῦ δωματίου καὶ, ἀφοῦ συνεπληροῦτο εἰς τὸν
ὄγκον, ἀνεταράσσετο καλῶς. Δείγμα ἐκ τοῦ τελευταίου ἐχρη-
σιμοποιεῖτο διὰ τὴν μέτρησιν τῆς ἀπορροφήσεως τοῦ φωτός

είς μήκος κύματος 575 mμ. Αί μετρήσεις ἐγένοντο μέ χρωματόμετρον Laub and busch spectronic 2I καί, ὡς μάρτυς ἐχρησιμοποιεῖτο δείγμα 1 κυβικόν ἑκατοστὸν ἀπεσταγμένου ὕδατος, ἀντὶ ἀποστάγματος, καί ἅπαντα τέ λοιπά ἀντιδραστήρια.

β) Ἀποτελέσματα

Συμφώνως πρὸς βιβλιογραφικά δεδομένα (Jansen καί MacDonnell, 1945; Owens καί ἄλλοι, 1952), optimum pH δράσεως, προκειμένου περὶ πηκτομεθυλεστεράσης φυτικής προελεύσεως, εἶναι τό 7,5, ἐνῶ προκειμένου περὶ πολυμεθυλογαλακτουρονάσης, ὁμοίως φυτικής προελεύσεως, εἶναι τό 4. Ἡ ἐκχύλισις ἀμφοτέρων τῶν ἐνζύμων γίνεται μέ διάλυμα χλωριούχου νατρίου διαφόρου περιεκτικότητος (McCready καί ἄλλοι, 1955- Patel καί Phaff, 1960), οὐδετέρας ἀντιδράσεως.

Τά εἰς τὴν πρώτην σειρὰν πειραματισμοῦ μας ἐπιτευχθέντα ἀποτελέσματα ἐμφανίζονται εἰς τοὺς πίνακας 12 ἕως 15, ἐκ τῆς μελέτης τῶν ὁποίων συνάγονται τά ἀκόλουθα:

α) Ὑπὸ τὰς ἡμετέρας συνθήκας πειραματισμοῦ δέν ἀνιχνεύθη πολυμεθυλογαλακτουρονάση, δεδομένου ὅτι τό ὑπόστρωμα τῆς πηκτικῆς οὐσίας δέν ἐνεφάνισε, οὔτε πτώσιν τοῦ ἰξώδους, σχετικῶς πρὸς τὸν μάρτυρα (πίναξ 12), οὔτε αὔξησιν τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων (πίναξ 14). Ἡ ἀναλωθεῖσα, διὰ τὴν ὀξειδωσιν τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων τοῦ ὑποστρώματος τῆς πηκτικῆς οὐσίας, ποσότης ἰωδίου ἐκυμάνθη μεταξὺ 3,3 καί 0,4 κυβικῶν ἑκατοστῶν N/10 διαλύματος καί ἦτο σχεδόν ἡ ἴδια καί διὰ τοὺς μάρτυρας καί διὰ τὰ διάφορα δείγματα. Ἐξαίρεσιν ἀπετέλει τό δείγμα 3A, ὅπου ἡ ἠύξημένη ἀνάλωσις θά πρέπει νά ἀποδοθῆ, εἴτε εἰς σφάλμα κατὰ τὴν ὀγκομέτρησιν, εἴτε εἰς μόλυσιν. Ἐπιπλέον παρατηρήθη μία ἐλαφρά πτώσις τῆς τιμῆς τοῦ pH, ἡ ὁποία ἐπίσης εἶναι ἄνευ σημασίας καί θά ἠδύνατο, ἴσως, νά ἀποδοθῆ εἰς τὴν ἐλαχίστην δρασιν τῆς πηκτομεθυλεστεράσης εἰς τὴν ἐν λόγω ὄξινον περιοχὴν (πίναξ 12).

β) Διεπιστώθη ἡ ὑπαρξίς τῆς πηκτομεθυλεστεράσης, κυρίως ὡς ἐκ τῆς πτώσεως τοῦ pH καί ἐκ τῆς ζελοκοιήσεως τοῦ

υποστρώματος της πηκτικής ούσιας, ιδίως των δειγμάτων εντός των οποίων προσετέθη ένζυμον έξ ένδοκαρπίου (πίναξ 13). Η πτώσις του pH είναι σχετικώς μικρή, τουτο, όμως, θά πρέπει νά αποδοθῆ εἰς τήν ὑπαρξίν ρυθμιστικοῦ συστήματος. Η πῆξις τοῦ υποστρώματος ὀφείλεται εἰς τήν δράσιν τῆς κηκτομεθυλεστεράσης συνεπέια τῆς ὁποίας διάσπῶνται τά μεθοξύλια τοῦ μορίου τῆς πηκτικής ούσιας καί τά ἀποδεσμευόμενα ἐλεύθερα καρβοξύλια ἀντιδροῦν μετά δισθενῶν κατιόντων (κυρίως Ca) καί δίδουν ζελέν.

γ) Τό ζελέν εἰς τά δείγματα pH 7,8, τά ὁποῖα περιείχον ένζυμον ἐκ τοῦ μεσοκαρπίου, δέν ἐνεφάνισε πτώσιν, συγκριτικῶς πρός τόν μάρτυρα, καί τοῦτο εἶναι λογικόν, διότι ἡ ἀποδόμησις τοῦ μορίου τῆς πηκτικῆς ὕλης πραγματοποιεῖται διά τῆς δράσεως, κυρίως, τῆς πολυγαλακτουρονάσης.

δ) Η παρουσία τῆς κηκτομεθυλεστεράσης διεπιστώθη καί διά τοῦ σχηματισμοῦ μεθανόλης, ἡ ὁποία ἐμετρήθη χρωματομετρικῶς (πίναξ 15). Μάλιστα καί τά πέντε δείγματα τῆς δευτέρας σειρᾶς, ὅπου τό pH ἦτο optimum διά τήν δράσιν τοῦ ένζύμου, ἀπεδείχθησαν θετικά, ὡς πρός μεθανόλην, ἐνώ τό δείγμα τῆς πρώτης σειρᾶς (pH 4,4) περιείχε μόνον ἕχνη (0,025 ὀπτικήν πυκνότητα).

ε) Εἰς τήν προκαταρκτικήν αὐτήν φάσιν τοῦ πειραματισμοῦ μας διεπιστώθη, ὅτι ἡ μέθοδος Willstatter καί Schudel δέν προσεφέρετο ἄνευ τροποποιήσεως διά τήν μέτρησιν τῶν ἀναγωγικῶν ομάδων, δεδομένου ὅτι τά 5 κυβικά ἑκατοστά 0,5 N NaOH δέν ἐξησφάλιζον ἀλκαλικήν ἀντίδρασιν ἀπαραίτητον διά τήν ὀξειδωσιν τῶν καρβονυλίων πρός καρβοξύλια. Ἐπίσης, ὅτι ἡ ὀπτική πυκνότης ἠδύνατο νά χρησιμεύσῃ ὡς μέτρον δράσεως τῆς κηκτομεθυλεστεράσης, ὑπό τόν ὄρον, ὅτι θά προελαμβάνετο ἡ σαπωνοποίησις τῶν μεθοξυλίων κατά τήν διάρκειαν τῆς ἀποστάξεως.

Τέλος, ἀπεδείχθη, ὅτι τά κίτρα ἦσαν πλούσια εἰς κηκτομεθυλεστεράσιν, κυρίως, εἰς τήν περιοχὴν τοῦ ένδοκαρπίου καί, ὀλιγώτερον, εἰς τήν περιοχὴν τοῦ μεσοκαρ-

πίου, άπεδείχθη, όμως, ότι ταύτα ήσαν άρνητικά, ως προς πολυμεθυλογαλακτουρονάσην, τουλάχιστον υπό τας ήμετέρας συνθήκας πειραματισμού.

Β: ΦΑΣΙΣ

Ι. Μέθοδοι και τεχνικά

1) Έκχύλισις ένζυμου

Είς τήν δευτέραν φάσιν πειραματισμού άνεζητήθη ή καλύτερα μέθοδος έκχυλίσεως τών πηκτολυτικών ένζυμων τών κίτρων. Επιπλέον, συμπεριελήφθη είς τά πειράματα άνιχνεύσεως τών έν λόγω ένζυμων τών κίτρων και πεκτινόλ έμπορίου, τό όποϊον ήτο γνωστόν ότι περιείχε πολυγαλακτουρονάσην. Διά του τρόπου αύτου έπεδιώχθη ό έλεγχος τής καταλληλότητος τών μεθόδων άνιχνεύσεως τής πολυγαλακτουρονάσης τών κίτρων. Η έκχύλισις έγένετο είτε μετά διαλύματος χλωριούχου νατρίου είς άπεσταγμένον ύδωρ περιεκτικότητος 2 ο/ο, είτε μετά ρυθμιστικού διαλύματος pH 7,0 περιέχοντος, όμως, τό αυτό ποσοστόν έλατος. Είς τήν περίπτωσιν του πεκτινόλ έν γραμμάριον ένζυμικου παρασκευάσματος διεσάρη έντός 100 κυβικων εκατοστών άπεσταγμένου ύδατος θερμοκρασίας 50 °C. Τό έναιώρημα παρέμεινεν επί μίαν ώραν είς θερμοκρασίαν του δοματίου και, τελικώς, διεχωρίσθη τό άκατέργαστον ένζυμικόν παρασκεύασμα έμπορίου από τό υλικόν προσροφήσεως μέσω ήθμοϋ εκ διηθητικού χάρτου.

Μέ βάσιν τά ένωτέρω αί μελετηθεΐσαι κατηγορίαι άκατεργάστου ένζυμικου παρασκευάσματος ήσαν αί ακόλουθοι:

Α. Πεκτινόλ έμπορίου παραληφθέν, διά διασποράς 1 γραμμαρίου είς 100 κυβικά εκατοστά ύδατος και έν συνεχεία διηθήσεως.

Β. Άκατέργαστον ένζυμικόν παρασκεύασμα παραληφθέν, διά όμοιογενοποίησεως 25 γραμμάριων σαρκός, όμοϋ μετά 100 κυβικων εκατοστών ρυθμιστικού διαλύματος pH 7, περιέχοντος έν διαλύσει 2 γραμμάρια NaCl.

- Γ. "Όμοιον πρός τό Β, μέ μόνην διαφοράν τήν χρησιμοποίησιν ὕδατος ἀντί ρυθμιστικοῦ διαλύματος.
- Δ. 'Ακατέργαστον ἐνζυμικόν παρασκευάσμα παραληφθέν διά ὁμοιογενοποιήσεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου, ὁμοῦ μέτά 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7, περιέχοντος καί 2 ο/ο NaCl.
- Ε. "Όμοιον πρός τό Δ, μέ μόνην διαφοράν τήν χρησιμοποίησιν ὕδατος ἀντί ρυθμιστικοῦ διαλύματος.

Ἡ διαδικασία παραλαβῆς τῶν ἀκατεργάστων ἐνζυμικῶν παρασκευασμάτων Β, Γ, Δ καί Ε ὑπῆρξεν ἡ ίδια, ὡς καί εἰς τήν πρώτην φάσιν, μέ μόνην διαφοράν ὅτι ἡ διαπήδησις διήρκεσε 48 ὥρας καί κατά τήν διάρκειαν αὐτῆς ἐγένοντο δύο ἀλλαγáι τοῦ ἀπεσταγμένου ὕδατος. Μέρος τοῦ ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος ὄλων τῶν περιπτώσεων δέν ὑπεβλήθη εἰς διαπήδησιν.

2) Διαμόρφωσις τοῦ πειράματος

Ἐχρησιμοποιήθη ἐναίωρημα πηκτικῆς οὐσίας pH 7 καί 4, ὅπως καί εἰς τήν πρώτην φάσιν, τά δέ καθ' ἕκαστα δείγματα ἀνεμίχθησαν μέ ἀκατέργαστα ἐνζυμικά παρασκευάσματα αὐτούσια καί μετά διαπήδησιν. Οὕτω, διεμορφώθησαν τέσσαρες σειραί δειγμάτων μέ μεταβλητάς:

α) Τό pH τοῦ ὑποστρώματος 7 καί 4.

β) Τό αὐτούσιον τοῦ ἐνζύμου καί τήν διαπήδησιν αὐτοῦ.

Ἐπιπλέον, τά ἐνζυμικά παρασκευάσματα ἦσαν πέντε τά αὐτούσια καί πέντε τά ὑποστάντα διαπήδησιν. Τέλος, ἕκαστον δείγμα συμπεριελήφθη εἰς τετραπλοῦν μέ 1 καί 2 κυβικά ἑκατοστά ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος, μέ ἀποτέλεσμα νά συγκροτηθῇ ἐκάστη σειρά ἀπό εἴκοσι δείγματα, ὡς ἀκολούθως:

Πρώτη σειρά : 7-A₁, 7-A₂, 7-A₃, 7-A₄, 7-B₁, 7-B₂, 7-B₃, 7-B₄

7-Γ₁, 7-Γ₂, 7-Γ₃, 7-Γ₄, 7-Δ₁, 7-Δ₂, 7-Δ₃, 7-Δ₄

7-E₁, 7-E₂, 7-E₃, 7-E₄

Δευτέρα σειρά: 7-A₁' , 7-A₂' , 7-A₃' , 7-A₄' , 7-B₁' , 7-B₂' , 7-B₃' , 7-B₄'

7-Γ₁' , 7-Γ₂' , 7-Γ₃' , 7-Γ₄' , 7-Δ₁' , 7-Δ₂' , 7-Δ₃' , 7-Δ₄'

Δευτέρα σειρά : συνέχεια

7-Ε₁, 7-Ε₂, 7-Ε₃, 7-Ε₄

Τρίτη σειρά

: 4-Α₁, 4-Α₂, 4-Α₃, 4-Α₄, 4-Β₁, 4-Β₂, 4-Β₃, 4-Β₄
4-Γ₁, 4-Γ₂, 4-Γ₃, 4-Γ₄, 4-Δ₁, 4-Δ₂, 4-Δ₃, 4-Δ₄
4-Ε₁, 4-Ε₂, 4-Ε₃, 4-Ε₄

Τετάρτη σειρά

: 4-Α₁, 4-Α₂, 4-Α₃, 4-Α₄, 4-Β₁, 4-Β₂, 4-Β₃, 4-Β₄
4-Γ₁, 4-Γ₂, 4-Γ₃, 4-Γ₄, 4-Δ₁, 4-Δ₂, 4-Δ₃, 4-Δ₄
4-Ε₁, 4-Ε₂, 4-Ε₃, 4-Ε₄

Τό πρώτον συνθετικόν του διακριτικού του δείγμα -
τος είναι τό χαρακτηριστικόν pH του υποστρώματος καί τό
δεύτερον, τό του άκατεργάστου ένζυμικού παρασκευάσματος.
Τέλος, ό τονισμός του διακριτικού υποδηλοῖ, ὅτι τό ένζυ-
μικόν παρασκεύασμα υπεβλήθη εις διαπήδησιν.

3) Έλεγχος τής ένζυματικής δραστηριότητος

Έγένετο ὅπως καί εις τήν πρώτην φάσιν, ἦτοι: α) βά-
σει τής ταχύτητος ζελοποιήσεως του υποστρώματος καί του
ποσοῦ τής σχηματιζομένης μεθανόλης εις τήν περίπτωσιν
τής πηκτομεθυλεστεράσης καί β) βάσει τής πτώσεως του ι-
ξώδους καί τής άποδεσμεύσεως των άναγωγικων ομάδων ,
προκειμένου περί τής πολυγαλακτουρονάσης.

4) Αποτελέσματα

Τά αποτελέσματα των μετρήσεων του ιξώδους, τής με-
θανόλης καί των άναγωγικων ομάδων, ὡς καί των παρατηρή-
σεων επί του ρυθμοῦ καί τής έντάσεως τής ζελοποιήσεως,
έμφανίζονται εις τούς πίνακας 16, 17, 18, 19 καί 20.

Έκ τής μελέτης των στοιχείων τούτων συνάγεται ὅτι:

1) Ἡ έκχύλις των ένζύμων των κίτρων γίνεται πληρέ-
στερον διά ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7, περιέχοντος έν
διαλύσει 2 ο/ο χλωριούχον νάτριον καί οὐχί δι' άπεστα -
γμένου ὕδατος, περιέχοντος τό ἴδιον ποσόν ἄλατος. Τοῦτο
ίσχύει περισσότερο εις τήν περίπτωσιν έκχυλίσεως του
μεσοκαρπίου, δεδομένου ὅτι τό ένζυμικόν παρασκεύασμα διά

ρυθμιστικού διαλύματος έσχημάτιζε ζελέν (δείγματα 7-Δ₁, 7-Δ₂, 7-Δ₃ καί 7-Δ₄) μετά του έναλωρήματος της πηκτικής ούσιας, ενώ τό διά διάλυματος χλωριούχου νατρίου εις ύδωρ ένζυμικόν παρασκεύασμα δέν έσχημάτιζε ζελέν υπό τάς ίδίας συνθήκας (7-Ε₁, 7-Ε₂, 7-Ε₃ καί 7-Ε₄).

2) Τό ένδοκάρπιον έμφανίζεται πλουσιώτερον εις ένζυμα από τό μεσοκάρπιον, όταν ή έκχύλισις γίνεται διά διαλύματος χλωριούχου νατρίου περιεκτικότητος 2 ο/ο. Αντιθέτως, εις τήν περίπτωσιν έκχυλίσεως άμφοτέρων διά ρυθμιστικού διαλύματος pH 7, περιέχοντος 2 ο/ο χλωριούχον νάτριον, ή περιεκτικότης εις ένζυμα έμφανίζεται ή ίδια, δεδομένου ότι ή ζελοποίησις του ύποστρώματος πραγματοποιείται έντός του ίδιου χρονικού διαστήματος.

3) Η διαπήδησις του άκατεργάστου ένζυμικού παρασκευάσματος μειώνει τήν ζελοποιητικήν του ικανότητα καί κατά συνέπειαν τήν δράσιν της πηκτομεθυλεστεράσης, ως τουτο συνάγεται έκ της συγκρίσεως των δεδομένων των πινάκων 16 καί 17. Τουτο, πιθανώς, όφείλεται εις άπώλειαν κατιόντων άπαραιτήτων διά τήν δράσιν του ένζυμου ή διά τόν σχηματισμόν του ζελέ.

4) Η πτώσις του ιξώδους είναι καταφανής μόνον εις τήν περίπτωσιν του πεκτινόλ έμπορίου (ιξώδες ίσον πρός τό ιξώδες του ύδατος). Μιά μικρή πτώσις ιξώδους, συγκριτικώς πρός τόν μάρτυρα, παρατηρείται καί εις τά δείγματα Ε περιέχοντα ένζυμον έκχυλισθέν από τό μεσοκάρπιον διά διαλύματος χλωριούχου νατρίου 2 ο/ο. Γενικώς, όμως, δέν άποδεικνύεται πέραν άμφισβητήσεως ή παρουσία πολυγαλακτουρονάσης, βάσει της σημειωθείσης πώσεως του ιξώδους εις τάς διαφόρους κατηγορίας δειγμάτων (βλ. στοιχεία του πίνακος 18).

5) Αναγωγικαί ομάδες άνευρέθησαν μόνον εις τά δείγματα μέ πεκτινόλ έμπορίου καί όχι εις τά δείγματα των άλλων κατηγοριών. Τουτο άποτελεϊ έπιπλέον ένδειξιν μή παρουσίας πολυγαλακτουρονάσης εις τό έκχύλισμα των κίτρων, τουλάχιστον υπό τάς ήμετέρας συνθήκας παραλαβής του (βλ. πίνακα 19).

6) Ἡ παρουσία τῆς πηκτομεθυλεστεράσης διεπιστώθη καί διά τοῦ προσδιορισμοῦ τῆς μεθανόλης τὰ ἀποτελέσματα τοῦ ὁποίου παρατίθενται εἰς τόν πίνακα (20). Οὕτως, ἀποδεικνύονται ἅπαντα τὰ δείγματα pH 7 θετικά, ὡς πρός μεθανόλην, ἀρνητικά δέ τὰ δείγματα pH 4 (δέν δρᾷ ἡ πηκτινεστεράση φυτικῆς προελεύσεως). Ἐξαιρέσιν ἀποτελοῦν τὰ δείγματα πεκτινόλ ἐμπορίου, τὰ ὁποῖα ἐμφανίζονται θετικά, ὡς πρός μεθανόλην καί ὅταν τό pH εἶναι 4. Ἐπίσης, βάσει τῶν στοιχείων τοῦ ἰδίου πίνακος, ἀποδεικνύεται ὅτι ἀπόσταξις δειγμάτων πηκτικῆς οὐσίας pH 7,0 ὑπό ἀτμοσφαιρικᾶς συνθήκας ὑδρολύει τὰ μεθοξύλια καί τοῦ μάρτυρος καί, ἐπομένως, θά πρέπει νά προηγήται ὀξέλισις διά κιτρικοῦ ὀξέος μέχρι pH 4. Καί εἰς τήν τελευταίαν, ὅμως, περίπτωσιν ἡ προστασία τῶν μεθοξυλίων δέν εἶναι πλήρης, πράγμα, τό ὁποῖον ὑποδηλοῖ ὅτι εἰς τό οὐδέτερον ἢ ἐλαφρῶς ἀλκαλικόν περιβάλλον μέρος τῶν μεθοξυλίων ὑδρολύεται ὑπό συνθήκας περιβάλλοντος (μέχρις ὀπτικῆς πυκνότητος 0,20 ὑπό τᾶς ἡμετέρας συνθήκας πειραματισμοῦ). Ἀντιθέτως, ὅταν τό pH τῆς πηκτικῆς οὐσίας εἶναι 4, ἡ ὑδρόλυσις τῶν μεθοξυλίων τοῦ μάρτυρος, εἴτε κατὰ τήν περίοδον τῆς ἐπιώσεως, εἴτε κατὰ τήν ἀπόσταξιν, εἶναι μηδαμινή (μέχρις ὀπτικῆς πυκνότητος 0,03-0,08 ὑπό τᾶς ἡμετέρας συνθήκας πειραματισμοῦ).

Γ: ΦΑΣΙΣ

Εἰς τήν τρίτην φάσιν πειραματισμοῦ ἐπεδιώχθη ἡ βελτίωσις τῆς μεθόδου ἐκχυλίσεως τῶν ἰστών τοῦ κίτρου πρός παραλαβήν τῆς πηκτομεθυλεστεράσης καί, ἐνδεχομένως, τῆς πολυγαλακτουρονάσης. Οὕτως, ὡς μέσον ἐκχυλίσεως ἐχρησιμοποιήθησαν ρυθμιστικά διαλύματα pH 7 καί 4 μετά ἢ ἄνευ χλωρίουχου νατρίου καί ἐπὶ πλέον ἐξεχυλίσθη καί πεκτινόλ ἐμπορίου διά τῆς ἀκολουθηθείσης εἰς τήν δευτέραν φάσιν διαδικασίας. Ἡ δρᾷσις τῆς πηκτομεθυλεστεράσης ἐμελετήθη συναρτήσῃ τοῦ χρόνου, ἐνώ τὰ πειράματα ἀνιχνεύσεως τῆς πολυγαλακτουρονάσης συμπεριέλαβον, ὡς ὑπόστρωμα δράσεως, ἐναιωρήματα πηκτικῆς οὐσίας καί πηκτικοῦ ὀξέος ὑποβληθέντα εἰς διαπύδησιν ἢ ὄγι. Οὕτως, ὁ πειραματισμός ἐγένετο κατὰ τόν ἀκόλουθον τρόπον:

Έκχύλισις τῶν κίτρων: Ἡ ἐκχύλισις θρυμμάτων τοῦ μεσοκαρπίου καὶ τεμαχιδίων τοῦ ἐνδοκαρπίου ἐγένετο δι' ἀναμίξεως ὠρισμένου βάρους ἐκ τούτων μετὰ πενταπλασίας ποσότητος ρυθμιστικῶν διαλυμάτων pH 7 καὶ 4, περιεχόντων ἢ μὴ 2 ο/ο χλωριούχον νάτριον. Οὕτω, συμπεριελήφθησαν εἰς τὴν φάσιν αὐτὴν τοῦ πειραματισμοῦ αἱ κάτωθι κατηγορίαι ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος:

- 1) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Α, τὸ ὁποῖον παρελήφθη δι' ἐκχύλισεως πεκτινὸλ ἐμπορίου.
- 2) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Β, τὸ ὁποῖον παρελήφθη δι' ὁμοιογενοποιήσεως 40 γραμμαρίων μεσοκαρπίου μετὰ 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7.
- 3) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Β', τὸ ὁποῖον παρελήφθη διὰ ὁμοιογενοποιήσεως 20 γραμμαρίων ἐνδοκαρπίου μετὰ 100 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7.
- 4) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Γ, τὸ ὁποῖον παρελήφθη δι' ὁμοιογενοποιήσεως 40 γραμμαρίων μεσοκαρπίου μετὰ 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7, περιέχοντος ἐν διαλύσει καὶ 2 ο/ο NaCl.
- 5) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Γ', τὸ ὁποῖον παρελήφθη διὰ ὁμοιογενοποιήσεως 20 γραμμαρίων ἐνδοκαρπίου μετὰ 100 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7, περιέχοντος ἐν διαλύσει καὶ 2 ο/ο NaCl.
- 6) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Δ, τὸ ὁποῖον παρελήφθη ὡς καὶ τὸ ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Β, μὲ μόνην διαφορὰν ὅτι τὸ pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος ἦτο 4, ἀντὶ 7.
- 7) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Δ', τὸ ὁποῖον παρελήφθη ὡς καὶ τὸ Β μὲ μόνην διαφορὰν ὅτι τὸ pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος ἦτο 4, ἀντὶ 7.
- 8) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Ε, τὸ ὁποῖον παρελήφθη ὡς καὶ τὸ Γ, μὲ μόνην διαφορὰν ὅτι τὸ pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος ἦτο 4, ἀντὶ 7.
- 9) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα Ε', τὸ ὁποῖον παρελήφθη ὡς καὶ τὸ Γ, μὲ μόνην διαφορὰν ὅτι τὸ pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος ἦτο 4, ἀντὶ 7.
- 10) Χυμὸς κίτρου χ (μεσοκαρπίου), ὁ ὁποῖος παρελήφθη διὰ ἀπλης ἐκπιέσεως.

Χρησιμοποιηθέντα υποστρώματα πηκτικών ούσιων

Έχρησιμοποιήθησαν τέσσερις υποστρώματα:

- 1) Έναιώρημα πηκτικής ούσιας 1 ο/ο εις ρυθμιστικόν διάλυμα κιτρικού όξέος-φωσφορικού δινατρίου pH 7.
- 2) Έναιώρημα πηκτικής ούσιας 1 ο/ο εις ρυθμιστικόν διάλυμα κιτρικού όξέος-φωσφορικού δινατρίου pH 4.
- 3) Έναιώρημα πηκτικής ούσιας 0,5 ο/ο εις ρυθμιστικόν διάλυμα ύδρονλωρικού όξέος-διφθαλικού καλίου pH 3.
- 4) Έναιώρημα πηκτικής ούσιας 0,5 ο/ο εις ρυθμιστικόν διάλυμα διφθαλικού καλίου-καυστικού νατρίου pH 5.
- 5) Έναιώρημα πηκτικής ούσιας 1 ο/ο εις άπεσταγμένον ύδωρ, τό όποιον πρό της χρησιμοποιήσεώς του υπεβάλλο εις διαπήδησιν επί τριήμερον, όποτε ή τιμή του pH έσταθεροποιείτο εις τό έπίπεδον του 3,4.
- 6) Έναιώρημα πηκτικού όξέος, τό όποιον παρεσκευάζετο διά έναιωρήσεως 10 γραμμαρίων πηκτικής ούσιας, εις 800 κυβικά εκατοστά ρυθμιστικόν διάλυματος pH 4, προσαρμογής του pH εις τήν τιμήν 12,4 διά πυκνού διαλύματος καυστικού νατρίου, σαπωνοποιήσεως επί 30 λεπτά εις έπαναρρέοντα ψυκτήρα, ταπεινώσεως και σταθεροποιήσεως του pH μέχρι της τιμής 3,4 διά προσθήκης του άπαιτουμένου όγκου πυκνού διαλύματος θειικού όξέος 2N.
- 7) Έναιώρημα πηκτικού όξέος, τό όποιον παρεσκευάζετο διά της ίδιαις διαδικασίας ως και τό έναιώρημα 6, μέ μόνην διαφοράν, ότι πρό της χρησιμοποιήσεώς του υπεβάλλετο επί 3 ήμέρας εις διαπήδησιν.

Τό έναιώρημα 1, ήτοι της πηκτικής ούσιας εις ρυθμιστικόν διάλυμα pH 7, έχρησιμοποιήθη διά τήν μελέτην της δράσεως της πηκτομεθυλεστεράσης (μέ δύο έπαναλήψεις) ένώ τά ύπόλοιπα, ήτοι τά 2, 3, 4, 5, 6 και 7, διά τήν άνίχνευσιν της πολυγαλακτουρονάσης. Μεταβληταί εις τά τελευταία υποστρώματα ήσαν τό pH (5:4 : 3,4 και 3) και τό είδος της πηκτικής ύλης (μεθυλιωμένη πηκτική ύλη, ή τελείως άπηλλαγμένη μεθοξυλλών, ήτοι πηκτικόν όξύ). Τέλος, διά της διαπήδησεως έπεδιώχθη ή άπομέκρυνσις ίόντων, τά όποια θά ήσκουν τυχόν παρεμποδιστικήν έναντι του ένζύμου δράσιν, ως και άναγωγικών ούσιων μικρού μοριακού βάρους.

Δείγματα εκ :

- α) Τοῦ παρασκευασθέντος ἐναιωρήματος καθαροῦ πηκτικοῦ ὀξέος (ὑποβληθέντος καί εἰς διαπήδησιν),
- β) Τοῦ ἐναιωρήματος τῆς πηκτικῆς οὐσίας 1 ο/ο πρό καί μετὰ τήν διαπήδησιν καί
- γ) Τοῦ προῦδοντος σαπυνοκοιήσεως τῆς πηκτικῆς οὐσίας , ὑπεβλήθησαν ἅπαντα εἰς ἀπόσταξιν πρός προσδιορισμόν τῆς περιεκτικότητός των εἰς μεθοξύλια ἢ ἐλευθέραν μεθανόλην.

Εἰδικῶς, εἰς τήν περίπτωσιν μελέτης τῆς πηκτομεθυστεράσεως, τό ἐναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας 1 ο/ο μέ pH 7 διενεμήθη ἀνά 25 κυβικά ἑκατοστά ἐντός κωνικῶν φιαλῶν καί ἀνεμίχθη μεθ' ἐνός κυβικοῦ ἑκατοστοῦ ἀκατεργάστου ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος. Δεδομένου δέ ὅτι τά ἐνζυμικά παρασκευάσματα ἦσαν δέκα (Α, Β, Β', Γ, Γ', Δ, Δ', Ε, Ε', καί χ) καί ἕκαστον συμπεριελήφθη εἰς τετραπλοῦν, ὁ συνολικός ἀριθμός τῶν δειγμάτων ἀνῆλθεν εἰς 44, διότι εἰς αὐτόν συμπεριελήφθησαν καί τά τέσσαρα δείγματα μάρτυρος. Τά δείγματα αὐτά εἶχον τά ἀκόλουθα διακριτικά:

- 1) 7-M₁, 7-M₂, 7-M₃, 7-M₄ (μάρτυς)
- 2) 7-A₁, 7-A₂, 7-A₃, 7-A₄ (πεκτινόλ)
- 3) 7-B₁, 7-B₂, 7-B₃, 7-B₄ (Α-7-Χ)
- 4) 7-B₁' , 7-B₂' , 7-B₃' , 7-B₄' (Σ-7-Χ)
- 5) 7-Γ₁, 7-Γ₂, 7-Γ₃, 7-Γ₄ (Α-7-Μ)
- 6) 7-Γ₁' , 7-Γ₂' , 7-Γ₃' , 7-Γ₄' (Σ-7-Μ)
- 7) 7-Δ₁, 7-Δ₂, 7-Δ₃, 7-Δ₄ (Α-4-Χ)
- 8) 7-Δ₁' , 7-Δ₂' , 7-Δ₃' , 7-Δ₄' (Σ-4-Χ)
- 9) 7-Ε₁, 7-Ε₂, 7-Ε₃, 7-Ε₄ (Α-4-Μ)
- 10) 7-Ε₁' , 7-Ε₂' , 7-Ε₃' , 7-Ε₄' (Σ-4-Μ)
- 11) 7-χ₁, 7-χ₂, 7-χ₃, 7-χ₄ (χ-7)

Παραλλήλως πρός τήν σειράν δειγμάτων μέ pH 7, προετοιμάσθη, κατὰ τόν ἴδιον ἀκριβῶς τρόπον, καί ἑτέρα σειρά, μέ pH ὑποστρώματος 4.

Τά ἐντός τῆς παρενθέσεως διακριτικά χαρακτηρίζουν τό ἐνζυμικόν παρασκεύασμα καί μάλιστα τό Σ ὑποδηλοῖ ἐν-

δοκάρπιον, τό Α αναφέρεται εις τό μεσοκάρπιον, τό Μ ύποδηλοι παρουσίαν χλωριούχου νατρίου εις τό έκχυλιστικόν ύγρόν (μετά), ένώ τό Χ άπουσίαν (χωρίς). Τέλος, ό μεταξύ των δύο γραμμάτων αριθμός αναφέρεται εις τήν τιμήν του pH του έκχυλιστικού ύγρου.

Παρατηρήσεις-μετρήσεις:

Τά δείγματα έτοποθετήθησαν έντός έπωαστηρίου θερμοκρασίας 30°C. Μετά 24 ώρας έγένητο ή πρώτη παρατήρησις πρός έπισήμανσιν των ζελοποιηθέντων δειγμάτων. 'Ακολούθως, άπαντα τά δείγματα μέ δείκτην 1 έπανετοποθετήθησαν έντός του φυγείου υπό θερμοκρασίαν 0-2°C πρός παρεμπόδισιν τής περαιτέρω ένζυματικής δράσεως. 'Η ίδια παρατήρησις έγένητο μετά 2, 4 και 7 ήμέρας άντιστοίχως, όποτε μετεφέρθησαν από του έπωαστηρίου εις τό φυγεϊόν τά δείγματα μέ δείκτην 2, 3 και 4 άντιστοίχως. 'Εκ τούτων τά μέ πρώτον συνθετικόν τό 7 (pH 7), άπεστάζοντο έπειτα από όξίνισιν μέχρι pH 4, εις δέ τά άποστάγματα προσδιωρίζετο ή μεθανόλη χρωματομετρικώς. 'Αντιθέτως, τά δείγματα μέ πρώτον συνθετικόν τό 4 (pH 4) έχρησιμοποιήθησαν εις τόν προσδιορισμόν των άναγωγικων ομάδων. Καί μόνον εις τάς δύο τελευταίας ομάδας (μέ δείκτην 4) αί μετρήσεις έγένοντο άντιστρόφως, ήτοι εις τά δείγματα μέ 7 pH έμετρήθησαν άναγωγικά ομάδες και εις τά δείγματα μέ 4 pH έμετρήθη μεθανόλη.

Εις όλα τά άλλα ύποστρώματα προσδιωρίσθησαν άναγωγικά ομάδες έκφρασθεισαι εις χιλιοστοϊσοδύναμα πολλαπλασιασθέντα επί 10. Τέλος, ή δράσις τής πηκτομεθυλεστεράσης έμελετήθη έκ δευτέρου υπό τάς ίδίας συνθήκας.

'Αποτελέσματα:

Τά αποτελέσματα σχετικώς μέ τήν ταχύτητα και τήν έντασιν ζελοποιήσεως, τήν καταλληλότητα των μεθόδων έκχυλίσεως των ένζύμων, τήν μέτρησιν των άναγωγικων ομάδων και τής μεθανόλης, έμφανίζονται εις τούς πίνακας 21 έως 27.

'Αρχικώς, διεπιστώθη, ότι διά τής σαπωνοποιήσεως επί 30 λεπτά εις έπαναρρέοντα φυκτήρα έπέρχεται πλήρης διά-

σπασίς τῶν μεθοξυλίων ἢ δέ ἀποδεσμευομένη μεθανόλη παραμένει ἐντός τοῦ ἐναιωρήματος τοῦ πηκτικοῦ ὀξέος (δείγμα 5) ἢ ἀπομακρύνεται πλήρως διὰ διαπηδήσεως (δείγμα 1). Ἀκόμη, τὰ μεθοξύλια διασπῶνται πλήρως, εἴαν τὸ pH τοῦ ἐναιωρήματος τῆς πηκτικῆς οὐσίας προσαρμοσθῇ εἰς τιμὴν ἀλκαλικὴν (δείγματα 2 καὶ 4), ἐνῶ τὰ ἴδια προστατεύονται πλήρως, ὅταν τὸ περιβάλλον, διαρκούσης τῆς ἀποστάξεως, διατηρητῆται ὀξιγον (δείγμα 3). Τὰ ὡς ἄνω συμπεράσματα βασίζονται ἐπὶ τῶν κάτωθι δεδομένων πειραματισμοῦ.

Δείγμα	Τρόπος ἐπεξεργασίας	Ὀπτικὴ πυκνότης ἀποστάγματος
1	Ἀπόσταγμα ἐναιωρήματος πηκτικῆς οὐσίας, ὑποβληθὲν εἰς σαπυνοποίησιν ἐπὶ 30 λεπτά ὑπὸ ἀλκαλικῆς συνθήκας καὶ ἐν συνεχείᾳ εἰς διαπήδησιν.	0,034
2	Ἀπόσταγμα ἐναιωρήματος πηκτικῆς οὐσίας εἰς ρυθμιστικὸν διάλυμα 1 ο/ο ὑποβληθὲν εἰς διαπήδησιν καὶ ἐν συνεχείᾳ εἰς ἀπόσταξιν μετὰ προηγουμένην προσαρμογὴν τοῦ pH εἰς ἀλκαλικὰ ἐπίπεδα.	0,510
3	Ἀπόσταγμα ἐναιωρήματος πηκτικῆς οὐσίας 1 ο/ο, ὑποβληθὲν εἰς ἀπόσταξιν ἄνευ προηγουμένης προσαρμογῆς τοῦ pH (ὀξιγον).	0,031
4	Ἀπόσταγμα ἐναιωρήματος πηκτικῆς οὐσίας 1 ο/ο εἰς ὕδωρ, ὑποβληθὲν εἰς ἀπόσταξιν κατόπιν προσαρμογῆς τοῦ pH αὐτοῦ εἰς ἀλκαλικὰ ἐπίπεδα.	0,520
5	Ἀπόσταγμα σαπυνοποιημένης πηκτικῆς οὐσίας, μὴ ὑποβληθὲν εἰς διαπήδησιν.	0,550

Ἐκ τῆς μελέτης τῶν στοιχείων τῶν πινάκων τούτων συνάγονται τὰ ἀκόλουθα:

1) Η έκχυλις της πηκτομεθυλεστεράσης είναι πληρεστέρα, όταν το έκχυλιστικό υγρό είναι ρυθμιστικό διάλυμα pH 7 και περιέχει εν διαλύσει χλωριούχο νάτριο. Έν τούτοις ο ρόλος του χλωριούχου νατρίου είναι μικρός, συγκριτικώς προς την συγκέντρωσιν ιόντων υδρογόνου. Ταυτό εμφάνεται εις τον πίνακα (21), όπου το άκατέργαστον ένζυμον, παραληφθέν δι' έκχυλίσεως μεσοκαρπίου (B) και ένδοκαρπίου (B') μέ άπλουϊν ρυθμιστικό διάλυμα pH 7, έδωσε ζελέν έντός 24 ώρων. Αντιθέτως, το αντίστοιχον ένζυμικόν παρασκευάσμα, το όποϊον παρελήφθη δι' έκχυλίσεως μέ ρυθμιστικό διάλυμα pH 4, δέν έδωσε ζελέν υπό τάς ίδίας συνθήκας. Πάντως, το χλωριούχο νάτριο έπαυξάνει την έκχυλιστική ικανότητα των ρυθμιστικων διαλυμάτων ούδε τέρας και όξινο άντιδράσεως. Τά Δ και Δ' δέν έδωσαν ζελέν, ένω τά Ε και Ε' έδωσαν ζελέν μαλακόν .

2) Το μεσοκάρπιον, όταν χρησιμοποιήται ως έκχυλιστικό υγρόν ρυθμιστικό διάλυμα, οίασδήποτε άντιδράσεως, έμφανίζεται έλαφρώς πλουσιώτερον εις πηκτομεθυλεστεράση από όπι το ένδοκάρπιον. Το ίδιο δέν συμβάλει όταν ή έκχύλις γίνεται μέ διάλυμα χλωριούχου νατρίου εις ύδωρ. Είς το συμπέρασμα αυτό άγόμεθα έκ της μελέτης των στοιχείων του πίνακος (21), βάσει των οποίων συνάγεται, ότι ο σχηματιζόμενος ζελές είναι συνεκτικώτερος, όταν το ένζυμικόν παρασκευάσμα προέρχεται από έκχύλιν του μεσοκαρπίου παρά από έκχύλιν του ένδοκαρπίου.

3) Περισσότερον παραστατικά είναι τά άποτελέσματα μετρήσεως της μεθανόλης, τά όποϊα παρατίθενται εις τους πίνακας (22) και (27). Τά έν λόγω άποτελέσματα έπιβεβαιούν τά συμπεράσματα τά συναχθέντα μέ βάσιν την ταχύτητα και την έντασιν ζελοποιήσεως των δειγμάτων πηκτικής ούσίας. Γραφική παράστασις της όπτικής πυκνότητος εις τά άποστάγματα μετά δράσιν του ένζυμου μιας, δύο και τεσσάρων ήμερων άποδεικνύει την σημασίαν του pH και του χλωριούχου νατρίου διά την έκχύλιν μεγαλυτέρας ποσότητος ένζυμου. Ιδιαιτέρας σημασίας είναι ή σχηματιζόμενη μεθανόλη έντός του πρώτου 24ώρου, όποτε υπάρχει περισσεια υποστρώματος, διά την δράσιν της πηκτομεθυλεστεράσης, ως έπίσης και έντός των δύο πρώτων ήμερων.

Ούτω, μέ βάσιν τά μεγέθη τοῦ σχετικοῦ σχεδιαγράμμα-
τος (α), ἀποδεικνύεται ὅτι ἡ ποσότης ἐνζύμου, ἡ ὁποία ἐκ-
χυλίζεται ἀπό τό μεσοκάρπιον καί ἐνδοκάρπιον μέ ρυθμι-
στικόν διάλυμα οὔδετέρας ἀντιδράσεως εἶναι περίπου ἡ ἴ-
δία. Ἡ προσθήκη γλωριούχου νατρίου αὐξάνει ἐλαφρῶς τήν
ἐκχυλιστικήν ἱκανότητα τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος.

Ἄξιοσημείωτον εἶναι ἀκόμη, ὅτι ἡ δρασίς τοῦ ἐνζύμου
σχεδόν συμπληροῦται ἐντός τῶν δύο πρώτων 24ώρων, ὅταν ἡ
ἐκχύλισις γίνεται μέ ρυθμιστικόν διάλυμα pH 7, (προφανῶς
λόγω ἐξαντλήσεως τοῦ ὑποστρώματος), ἐνῶ συνεχίζεται μέχρι
τῆς τετάρτης ἡμέρας, ὅσάκις ἡ ἐκχύλισις γίνεται μέ ρυθμι-
στικόν διάλυμα pH 4, (προφανῶς λόγω ὑπάρξεως ὑποστρώμα-
τος). Τέλος, βάσει τῶν μεγεθῶν τοῦ ἴδιου σχεδιαγράμματος
(α) ἀποδεικνύεται, ὅτι τό πεκτινόλ ἐμπορίου περιέχει ἐλα-
χίστην πηκτομεθυλεστεράσην ἱκανήν νά δράσῃ εἰς ὑπόστρω-
μα πηκτικῆς οὐσίας οὔδετέρας ἀντιδράσεως.

Τό ἀντίθετον συμβαίνει, ὅταν τό pH τοῦ ὑποστρώματος
εἶναι 4, ὅποτε τό πεκτινόλ τοῦ ἐμπορίου ἐμφανίζεται με-
τρίως δραστικόν, ἐνῶ τό ἐνζυμικόν παρασκεύασμα τῶν κί-
τρων ἐμφανίζεται τελείως ἀδρανές (πίναξ 22).

4) Αἱ ἀναγωγικά ὁμάδες ἐμετρήθησαν εἰς ὑποστρώματα pH
7 (πίναξ 23), pH 4 (πίναξ 23), pH 3 (πίναξ 24), pH 5 (πί-
ναξ 24) καί pH 3,4 (πίναξ 25). Τά ἐναιωρήματα πηκτικῶν
ὕλων περιείχον 0,5-1 ο/ο πηκτικῆν οὐσίαν (μέ ἠύξημένο ν
ἀριθμόν μεθοξυλίων) ἢ πηκτικόν ὀξύ (πηκτικῆν οὐσίαν σαπω-
νοποιηθεῖσαν εἰς ἐπαναρρέοντα φυκτῆρα).

Τέλος, ἐναιωρήματα πηκτικῆς οὐσίας καί πηκτικοῦ ὀξέος
ἐχρησιμοποιήθησαν ὡς εἶχον (πίνακες 23, 24 καί 25) ἢ ἀφού
πρώτον ὑπεβλήθησαν εἰς διαπήδησιν ἐπί τριήμερον (πίνα-
κες 25 καί 26). Εἰς ὅλας τὰς περιπτώσεις ἀπεδεσμεύθησαν
ἀναγωγικά ὁμάδες, μόνον εἰς ὑποστρώματα, ὅπου ἔδρασε τό
πεκτινόλ ἐμπορίου, οὐχί, ὅμως, εἰς ἐκεῖνα ἐντός τῶν ὁποίων
εἶχον προστεθῆ τά διαφόρων κατηγοριῶν ἐνζυμικά παρασκευ-
άσματα τῶν κίτρων. Τοῦτο ἀποδεικνύεται ἐκ τοῦ γεγονότος,
ὅτι αἱ ἀναγωγικά ὁμάδες ὅλων τῶν δειγμάτων -ἐξαιρέσει
ἐκεῖνων εἰς τὰς ὁποίας εἶχε προστεθῆ τό πεκτινόλ ἐμπορί-

ου- ήσαν αί ίδιαι μέ εκείνας τών αντίστοιχων μαρτύρων. Επίσης, θά πρέπει νά σημειωθῆ, ὅτι σαπωνοποίησις ὑπό λίαν ἀλκαλικῆς συνθήκας ἀυξάνει ἐλαφρῶς καί τάς ἀναγωγικῆς ομάδας διά μερικῆς διασπάσεως καί τών γλυκοζιτικῶν δεσμῶν (πίναξ 25).

Διαπήδησις ἔναντι ἀπεσταγμένου ὕδατος ἀπαλλάσσει τό ἐναιώρημα τοῦ προκύπτοντος πηκτικοῦ ὀξεόσ, ἀπό καρβονυλικῆ παράγωγα μικροῦ μοριακοῦ βάρους (πίναξ 26) καί προσφέρεται καλύτερον δι' ἀνίχνευσιν τών ἀναγωγικῶν ὀμάδων.

Ἐπί τῇ βάσει τῶν ὡς ἄνω ἀποτελεσμάτων δύναται νά λεχθῆ, ὅτι τά κίτρα ὑπό τάς ἡμετέρας συνθήκας πειραματισμοῦ ἐνεφανίσθησαν ἀρνητικά, ὡς πρός πολυμεθυλογαλακτουρονάσιν καί πολυγαλακτουρονάσιν.

Δ' ΦΑΣΙΣ

Εἰς τήν τετάρτην φάσιν πειραματισμοῦ μας ἐπεδιώχθη ἡ τροποποίησις τῶν μεθόδων ἐκχύλισεως δι' ἀυξήσεως τῆς περιεκτικότητος εἰς ἄλας καί ἐπί πλέον προσθήκης πολυβινυλίου. Τό τελευταῖον, συμφώνως πρός βιβλιογραφικά δεδομένα, δεσμεύει οὐσίας παρεμποδιζούσας τήν δράσιν ὠρισμένων ἐνζύμων, ἤτοι τάς ταννίνας, ἀπό τό ἐκχύλισμα τῶν κίτρων. Οὕτως, ὁ πειραματισμός ἐγένετο κατά τόν ἀκόλουθον τρόπον:

Ἐκχύλισις τῶν κίτρων:

Ἠκολουθήθη τό κατωτέρω περιγραφόμενον σχῆμα ἐκχύλισεως καί παρελήφθησαν αί ἐξῆς κατηγορίαι ἐνζυμικῶν παρασκευασμάτων:

1) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα (α), τό ὁποῖον παρελήφθη διά ἐκχύλισεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου μετά 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 4, περιέχοντος ἐν διαλύσει 5 ο/ο NaCl καί 0,5 ο/ο πολυβινύλιον.

2) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα (β), τό ὁποῖον παρελήφθη ὡς τό (α) μέ μόνην διαφοράν, ὅτι τό pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος ἦτο 7.

3) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα (γ), τό ὁποῖον παρελήφθη διά

έκχυλίσσεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου μετά 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7, περιέχοντος ἐν διαλύσει 10 ο/ο χλωριούχον νάτριον.

4) Ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα (δ), τὸ ὁποῖον παρελήφθη διὰ ἐκχυλίσσεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου μετά 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7, περιέχοντος ἐν διαλύσει 10 ο/ο χλωριούχον νάτριον καὶ 0,5 ο/ο πολυβινύλιον.

Τέλος, ὑπὸ τῆς ἰδίας συνθήκας, ἐξεκχυλίσθησαν τεμαχίδια ἐνδοκαρπίου, ὅποτε παρελήφθησαν, ἀντιστοίχως, τὰ ἀκατέργαστα ἐνζυμικά παρασκευάσματα α1, β1, γ1 καὶ δ1, ὡς καὶ ἐκχύλισμα πεκτινόλ ἐμπορίου χαρακτηρισθὲν μὲ τὸ γράμμα (ε).

Ἄπαντα τὰ ἐνζυμικά παρασκευάσματα ἐχρησιμοποιήθησαν κατὰ τὸ ἥμισυ ὡς εἶχον καὶ κατὰ τὸ ὑπόλοιπον μετὰ διαπήδησιν ἐπὶ 24 ὥρας.

Χρησιμοποιηθέντα ὑποστρώματα πηκτικῶν οὐσιῶν:

Εἰς τὴν φάσιν αὐτὴν πειραματισμοῦ ἐχρησιμοποιήθησαν τέσσαρα ὑποστρώματα χαρακτηρισθέντα διὰ τῶν κεφαλαίων γραμμάτων Α, Β, Γ καὶ Δ.

1) Ἐπόστρωμα Α

Παρεσκευάσθη δι' ἐναιωρήσεως πηκτικῆς οὐσίας εἰς ὕδωρ εἰς ποσοστὸν 1 ο/ο, διορθώσεως τοῦ pH ἀπὸ τῆς τιμῆς 2,8 εἰς 10,2, τῆ προσθήκη διαλύματος καυστικοῦ νατρίου καὶ ἐν συνεχείᾳ σαπωνοποιήσεως εἰς ἐπαναρρέοντα φυκτῆρα ἐπὶ χρονικὸν διάστημα 30'. Ἀκολουθῶς, τὸ παραληφθὲν ἐναιώρημα πηκτικοῦ ὀξέος ὑπεβλήθη ἐπὶ τριήμερον εἰς διαπήδησιν, ἠραιώθη εἰς τὸ δικλάσιον δι' ἀπεσταγμένου ὕδατος καὶ, τέλος, ὠξινίσθη διὰ διαλύματος 0,2 N κερικικοῦ ὀξέος μέχρι pH 4.

2) Ἐπόστρωμα Β

Παρεσκευάσθη δι' ἐναιωρήσεως πηκτικῆς οὐσίας εἰς ἀπεσταγμένον ὕδωρ ὑπὸ ἀναλογίαν 1 ο/ο, ὑποβολῆς τοῦ ἐναιωρήματος εἰς διαπήδησιν ἐπὶ τριήμερον καὶ, τελικῶς, προσαρμογῆς τοῦ pH εἰς τὴν τιμὴν 4.

3) Υπόστρωμα Γ

Παρεσκευάσθη καθ' ὅμοιον, ὡς καί τό υπόστρωμα Α, τρόπον, μέχρι τῆς σαπωνοποιήσεως, ἐν συνεχείᾳ, ὅμως, ἐγένετο ὀξίνισις δι' ὑδροχλωρικοῦ ὀξέος μέχρι pH 1 καί κατακρήνις τοῦ πηκτικοῦ ὀξέος δι' αἰθανόλης 70 ο/ο. Τό ἴζημα (ζελές) ὑπεβλήθη εἰς διαπήδησιν ἐπί τριήμερον καί ἐν συνεχείᾳ μετεφέρθη ἐντός 400 κυβικῶν ἑκατοστῶν ἀπεσταγμένου ὕδατος, ὁμοιογενοποιήθη εἰς ἠλεκτρικόν ἀναμίκτην καί ὀξίνισθη μέχρι pH 4.

4) Υπόστρωμα Δ

Παρεσκευάσθη δι' ἐναιωρήσεως πηκτικῆς οὐσίας εἰς ποσοστόν 1 ο/ο ἐντός ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7.

Τά τρία πρῶτα ὑποστρώματα ἐχρησιμοποιήθησαν εἰς τήν ἀνίχνευσιν τῆς πολυγαλακτουρονάσης καί τό τελευταῖον εἰς τήν ἀνίχνευσιν τῆς πηκτομεθυλεστεράσης.

Τά ὑποστρώματα Α, Β καί Γ διενεμήθησαν, ἀνά 15 κυβικά ἑκατοστά, ἐντός κωνικῶν φιαλῶν καί ἀνεμίχθησαν μεθ' ἑνός, δύο ἢ τριῶν κυβικῶν ἑκατοστῶν ἐνζυμικῶν παρασκευασμάτων αὐτουσίῶν ἢ μετὰ διαπήδησιν. Αἱ διάφοροι κατηγορίαι τῶν δειγμάτων ἐμφαίνονται εἰς τόν πίνακα 28.

Εἰς ἐπανάληψιν ἐχρησιμοποιήθησαν τά ἴδια ὑποστρώματα Α, Β καί Γ, τό pH τῶν ὁποίων, ὅμως, εἶχε προσαρμοσθῆ εἰς τήν τιμήν τῶν 3,25 (βλ. πίνακα 29).

Τέλος, εἰς τρίτην ἐπανάληψιν ἀνιχνεύσεως τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων, ἐχρησιμοποιήθησαν τά ὑποστρώματα Β, Γ καί ἐπιπλέον, ἐναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας 0,5 ο/ο, τό ὁποῖον δέν ὑπεβλήθη προηγουμένως εἰς διαπήδησιν (ὑπόστρωμα Χ). Εἰς τήν ἐπανάληψιν αὐτήν ἐχρησιμοποιήθη εἰς ὠρισμένας περιπτώσεις ἀντί ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος ἄλλη κίτρω εἰς ἀναλογία 1 καί 2 κυβικῶν ἑκατοστῶν μετὰ 15 κυβικῶν ἑκατοστῶν ὑποστρώματος (βλ. πίνακα 32).

Ἡ πηκτομεθυλεστεράση, εἰς τήν φάσιν ταύτην τοῦ πειραματισμοῦ, ἀνιχνεύθη εἰς ἐναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας 10/ο pH 7 (ὑπόστρωμα Δ), τό ὁποῖον διενεμήθη ἐντός κωνικῶν φ-

αλῶν, ἀνά 25 κυβικά ἑκατοστά. Ἡ παρουσία τῆς πηκτομεθυλεστεράσης διεπιστώθη μέ κριτήρια τήν ζελοποίησην τοῦ ὑποστρώματος καί τήν μέτρησιν τῆς σχηματισθείσης εἰς ἑκάστην περίπτωσιν μεθανόλης. Ἐνζυμικόν παρασκευάσμα αὐτοῦσιον καί μετὰ διαπήδησιν ἀνεμιγνύετο μετὰ τοῦ ὑποστρώματος εἰς ἀναλογίαν 1 καί 2 πρὸς 25. Εἰς ὠρισμένας δέ περιπτώσεις ἀντί ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος προσετέθη ἄλλη ἐκ βάζων κίτρων (βλ. πίνακα 32).

Ἀποτελέσματα:

Τά ἀποτελέσματα τῶν μετρήσεων τῶν ἀναγωγικῶν ομάδων καί τῆς πηκτομεθυλεστεράσης, ὡς καί τῶν παρατηρήσεων ἐπί τῆς ταχύτητος καί τῆς ἐντάσεως ζελοποιήσεως, παρατίθενται εἰς τοὺς πίνακας 28-33. Ἐκ τῆς μελέτης τῶν στοιχείων τούτων συνάγονται τά ἀκόλουθα συμπεράσματα:

- 1) Θετικά ὡς πρὸς ἀναγωγικάς ομάδας ἀπεδείχθησαν ἅπαντα τά δείγματα, τά ὁποῖα περιεῖχον ἐκχύλισμα πεκτινόλ ἐμπορίου (μέ δεύτερον συνθετικόν τό ε). Ὁμοίως, ἅπαντα τά δείγματα, τά ὁποῖα περιεῖχον ἐνζυμικόν παρασκευάσμα μή ὑποβληθέν εἰς διαπήδησιν, ἐνεφάνισαν αὔξησιν ἀναγωγικῶν ομάδων συγκριτικῶς πρὸς τόν μάρτυρα καί μάλιστα, τόσον μεγαλυτέραν, ὅσον μεγαλύτερος ἦτο ὁ ὄγκος τοῦ προστεθέντος εἰς ἑκάστην περίπτωσιν ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος. Ἡ αὔησις αὕτη ἀπεδόθη εἴτε εἰς τήν ὑπαρξιν ἀναγωγικῶν οὐσιῶν (κυρίως ἐξόζης) εἰς τό ἀκατέργαστον ἐνζυμικόν παρασκευάσμα, αἱ ὁποῖαι ἀπεμακρύνοντο διά τῆς διαπηδήσεως, εἴτε εἰς τήν ἀπομάκρυνσιν ὠρισμένων συμπαράγοντων διαρκούσης τῆς διαπηδήσεως, μέ ἀποτέλεσμα νά παρεμποδίζεται ἡ ἐνζυμική δράσις. Ἡ πρώτη ἐκδοχή ἐθεωρήθη περισσότερον πιθανή, καθ' ὅσον ἅπαντα τά δείγματα μέ ἐκχύλισμα ἐκ διαπηδήσεως οὐδεμίαν διαφοράν, συγκριτικῶς πρὸς τόν μάρτυρα, ἐνεφάνισαν, ἀνεξαρτήτως ὑποστρώματος καί ὄγκου τοῦ ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος.
- 2) Θετικά, ὡς πρὸς ἀναγωγικάς ομάδας, ἀπεδείχθησαν τά δείγματα μεθ' ἄλλης κίτρων, συγκριτικῶς πρὸς τόν μάρτυρα. Ἡ ἠύξημένη αὕτη περιεκτικότης εἰς ἀναγωγικάς ομάδας, κατά πάσαν πιθανότητα, ὀφείλεται εἰς τήν παρουσίαν ἐν τῇ ἄλλῃ σακχάρων καί ἄλλων ἀναγωγικῶν οὐσιῶν καί οὐχί εἰς τήν δράσιν πολυγαλακτουρονάσης.

3) Είς ὅτι ἀφορᾷ εἰς τὴν πηκτομεθυλευτεράσιν θά πρέπει νά σημειωθῆ, ὅτι ἅπαντα τὰ δείγματα ἐξελοποιήθησαν μερικῶς ἢ πλήρως, ἐξαιρέσει ἐκείνων τὰ ὁποῖα εἶχον ἀναμιγθῆ μέ ἐκχύλισμα πεκτινόλ ἐμπορίου. Μάλιστα, βάσει τοῦ βαθμοῦ ζελοποιήσεως, ἡ ἐκχύλις ἦτο πληρεστέρα, ὅταν ἐχρησιμοποιήθη, ὡς ὑγρὸν ἐκχυλίσεως, ρυθμιστικὸν διάλυμα pH 7 μέ NaCl ἐν διαλύσει. Σημειωτέον ὅτι ἡ ηὔξημένη ἐν διαλύσει ποσότης τοῦ NaCl ὑπεράνω τοῦ 2 ο/ο (μέχρι 5 ο/ο ἢ καί 10 ο/ο) δέν ἐμείωσε, ἀλλ' ἠὔξησε ἐλαφρῶς τὴν ἐκχυλιστικὴν ἱκανότητα τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος. Διαφοραὶ δέν εἶναι ἐμφανεῖς μεταξὺ τῶν διαφόρων τρόπων ἐκχυλίσεως, δεδομένου ὅτι ἐντός τῶν πρώτων δύο ἡ μερῶν εἶχε συμπληρωθῆ ἡ δρᾶσις τοῦ ἐνζύμου εἰς ὅλα τὰ δείγματα καί ἔκτυτε ἡ περιεκτικότης εἰς μεθανόλην διετηρήθη πρακτικῶς σταθερά.

4) Ρυθμιστικὸν διάλυμα pH 4 ἐξεχύλισε, βάσει τῶν μετρήσεων τῆς σχηματισθείσης μεθανόλης, τὴν ἰδίαν ποσότητα ἐνζύμου ὡς καί τὸ ρυθμιστικὸν διάλυμα pH 7, γεγονός, τὸ ὁποῖον θά πρέπει νά ἀποδοθῆ εἴτε εἰς τὴν ηὔξημένην περιεκτικότητά των εἰς NaCl (5 ο/ο) εἴτε εἰς τὴν παρουσίαν τοῦ πολυβινυλίου.

5) Ἄπαντα τὰ δείγματα ἄλλης κίτρων ἀπεδείχθησαν θετικὰ ὡς πρὸς πηκτομεθυλευτεράσιν, γεγονός, τὸ ὁποῖον ἀποδεικνύεται καί ἐκ τῆς προηγηθείσης ζελοποιήσεως καί ἐκ τῆς μετρήσεως τῆς σχηματισθείσης μεθανόλης (βλ. πίνακα 33).

Ε. ΦΑΣΙΣ

Εἰς τὴν πέμπτην φάσιν πειραματισμοῦ μας ἡ ἐκχύλις τοῦ ἐνζύμου ἐγένετο βάσει τῆς ἰδίας τεχνικῆς μέ μόνην διαφορὰν, ὅτι παρελείφθη τὸ πολυβινύλιον. Ἐπίσης παρεσκευάσθησαν τὰ ἴδια, ὡς καί εἰς τὴν τετάρτην φάσιν χρησιμοποιηθέντα ὑποστρώματα Α, Β, Γ καί Δ, μέ μόνην τὴν διαφορὰν, ὅτι μετὰ τὴν διαπήδησιν τὸ pH ἐσταθεροποιήθη εἰς τὴν τιμὴν 4 διὰ προσθήκης διαλύματος ὑδροξειδίου τοῦ ἀσβεστίου, ὃ συμφώνως πρὸς τὰ βιβλιογραφικὰ δεδομένα, (Nagel and Vaughn 1961, 1961a, 1962) εἶναι συμπαράγων τῆς πηκτινοτρανσελιμινάσης.

Έκχυλισις τῶν κίτρων: Ὡς ἐκχυλιστικά ὑγρά ἐχρησιμο-
ήθησαν δύο ρυθμιστικά διαλύματα pH 7 καὶ 4, ἕναστον τῶν
ὁποίων περιεῖχεν ἐν διαλύσει ἀνά 5 ο/ο καὶ 10 ο/ο χλω-
ριούχον νάτριον. Οὕτω παρελήφθησαν:

1) Ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα (α), τὸ ὁποῖον παρελήφθη δι' ἐκ-
χυλίσεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου μετὰ 200 κυβικῶν ἐ-
κατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 4 περιέχοντος ἐν δια-
λύσει 5 ο/ο NaCl.

2) Ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα (β), τὸ ὁποῖον παρελήφθη ὡς
καὶ τὸ (α) μὲ μόνην διαφορὰν, ὅτι τὸ pH τοῦ ρυθμιστικοῦ
διαλύματος ἦτο 7.

3) Ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα (γ), τὸ ὁποῖον παρελήφθη δι' ἐκ-
χυλίσεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου μετὰ 200 κυβικῶν ἐ-
κατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7, περιέχοντος ἐν δια-
λύσει 10 ο/ο NaCl.

4) Ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα (δ), τὸ ὁποῖον παρελήφθη κατὰ
τὸν ἴδιον τρόπον ὡς καὶ τὸ (γ) μὲ μόνην διαφορὰν, ὅτι τὸ
pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος ἦτο 4 ἀντὶ 7.

Ἀντίστοιχα ἐνζυμικά παρασκευάσματα παρελήφθησαν ,
δι' ἐκχυλίσεως, ὑπὸ τὰς ἰδίας ὡς ἄνω συνθήκας, ἐνδοκαρπίου
καὶ ἐχαρακτηρίσθησαν ὡς α₁, β₁, γ₁ καὶ δ₁. Ἐπίσης συμπε-
ριελήφθη καὶ ἐκχύλισμα πεκτινόλ ἐμπορίου, τὸ ὁποῖον ἐχαρα-
κτηρίσθη ὡς (ε). Τέλος, κατὰ τὸ ἴδιον ὡς καὶ εἰς τὴν τετάρ-
την φάσιν πρότυπον, μέρος τῶν ἐνζυμικῶν παρασκευασμάτων ἐ-
χρησιμοποιήθη ὡς εἶχε, καὶ μέρος ὑπεβλήθη εἰς διαπῆδησιν.

Ἀποτελέσματα

Τὰ ἀποτελέσματα τῆς παρουσίας φάσεως τοῦ
πειραματισμοῦ παρατίθενται εἰς τοὺς πίνακας 34 καὶ 35. Ἐκ
τῆς μελέτης τῶν στοιχείων τούτων ἐπιβεβαιούται ἐκ νέου ἡ
αὔξησις τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων κ.τ.λ. εἰς τὸ ὑπό-
στρωμα τοῦ ἀκατεργάστου ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος. Ἀντι-
θέτως, εἰς ἣν περίπτωσιν τὸ ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα εἶχε
προηγουμένως ὑποβληθῆ εἰς διαπῆδησιν, αἱ ἀναγωγικαὶ ὁμά-
δες διετηρήθησαν εἰς τὰ ἐπίπεδα τοῦ μάρτυρος. Τέλος, προσ-
θήκη κατιόντος ἀσβεστίου εἰς τὸ ὑπόστρωμα δέν ἤσκησεν οὐ-
δεμίαν ἐπίδρασιν γεγονόςς τὸ ὁποῖον ὑποδηλοῖ ὅτι ἡ αὔξη-
σις τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων ἔχει τὴν ἀρχὴν της εἰς τὴν πα-
ρουσίαν ἐν τῷ ἀκατεργάστῳ ἐνζυμικῷ παρασκευάσματι σακχά-

ρων και άλλων καρβονυλικών ενώσεων.

Τά σχετικά μέ τήν δράσιν τῆς πηκτομεθυλεστεράσης δεδομένα ἀποδεικνύουν ὅτι, καί ὅταν τό pH τοῦ χρησιμοποιομένου εἰς τήν ἐκχύλισιν τοῦ ἐνζύμου ρυθμιστικοῦ διαλύματος εἶναι χαμηλόν, τό ἔνζυμον ἐκχυλίζεται εἰς ἱκανόν ποσοστόν παρουσία ἠϋξημένων ποσοτήτων χλωριούχου νατρίου (5-10 ο/ο).

ΣΤ΄ ΦΑΣΙΣ

Εἰς τήν ἕκτην φάσιν τοῦ πειραματισμοῦ ἐχρησιμοποιήθησαν περισσότερα ὑποστρώματα καί ἐπίσης δύο ρυθμιστικά διαλύματα pH 7 καί 4 ἀντιστοίχως, περιέχοντα ἐν διαλύσει ἀνά 5 ο/ο ἢ 10 ο/ο NaCl. Σκοπός τοῦ πειραματισμοῦ αὐτοῦ ἦτο ἡ ἀνεύρεσις τοῦ καλυτέρου ἐκχυλιστικοῦ ὑγροῦ διά τά ἔνζυμα τοῦ κίτρου καί ἐπί πλέον ἡ περαιτέρω διερεύνησις τῆς παρουσίας ἢ μή πολυγαλακτουρονάσης εἰς τά κίτρα.

Οὕτως, ὁ πειραματισμός ἐγένετο κατά τόν ἀκόλουθον τρόπον:

Ἐκχύλισις τῶν κίτρων:

Ἐδοκιμάσθησαν δέκα τύποι ἐνζυμικῶν παρασκευασμάτων, τά ὁποῖα παρελήφθησαν κατά τόν ἀκόλουθον τρόπον:

- 1) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα (α), τό ὁποῖον παρελήφθη διά ὁμοιογενοποιήσεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου ὁμοῦ μετά 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 4, περιέχοντος ἐν διαλύσει 5 ο/ο χλωριούχον νάτριον.
- 2) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα (β), τό ὁποῖον παρελήφθη ὡς τό (α) μέ μόνην διαφοράν, ὅτι τό pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος ἦτο 7.
- 3) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα (γ), τό ὁποῖον παρελήφθη διά ὁμοιογενοποιήσεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου, ὁμοῦ μετά 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 4, περιέχοντος ἐν διαλύσει 10 ο/ο χλωριούχον νάτριον.
- 4) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα (δ), τό ὁποῖον παρελήφθη ὡς τό (γ) μέ μόνην διαφοράν ὅτι τό pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος ἦτο 7.

Ἀντίστοιχα ἐνζυμικά παρασκευάσματα παρελήφθησαν ,

δι' όμοιογενοποιήσεως τετραχίων σαρκός μετά ρυθμιστικού διαλύματος, υπό τάς ίδίαις ώς άνω συνθήκας, τά όποία έ -- χαρακτηρίσθησαν ώς α₁, β₁, γ₁ και δ₁.

9) Ένζυμικόν παρασκεύασμα (ζ), τό όποϊον παρελήφθη διά όμοιογενοποιήσεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου όμου μετά 200 κυβικών εκατοστών ρυθμιστικού διαλύματος pH 7 μή περιέχοντος χλωριούχον νάτριον.

10) Ένζυμικόν παρασκεύασμα (ε), τό όποϊον παρελήφθη δι' έκχυλίσεως πεκτινόλ έμπορίου.

Χρησιμοποιηθέντα ύποστρώματα πηκτικῶν ούσιῶν:

Είς τήν έκτην αύτήν φάσιν τοῦ πειραματισμοῦ έχρησιμοποιήθησαν έπτά έν συνόλω ύποστρώματα παρασκευασθέντα κατά τόν ακόλουθον τρόπον:

Ύπόστρωμα Α

Παρεσκευάσθη δι' έναιωρήσεως πηκτικῆς ούσίας είς ύδωρ υπό αναλογίαν 1 ο/ο, διορθώσεως τοῦ pH από τῆς τιμῆς 2,94 είς 10,22 διά προσθήκης διαλύματος καυστικού νατρίου και τῆς έν συνεχεία σαπωνοποιήσεως είς έπαναρρέοντα φυκτῆρα επί χρονικόν διάστημα 30'. Ακολούθως, μέρος τοῦ παραληφθέντος διαλύματος πηκτικού όξέος ύπεβλήθη επί τριήμερον είς διαπήδησιν και τελικήν διόρθωσιν τοῦ pH διά διαλύματος καυστικού νατρίου από 2,88 είς 4.

Ύπόστρωμα Α₁

Παρεσκευάσθη καθ' όμοιον, ώς και τό ύπόστρωμα Α, τρόπον, μέ μόνην διαφοράν, ότι τό τελικόν διάλυμα πηκτικού όξέος δέν ύπεβλήθη είς διαπήδησιν.

Ύπόστρωμα Β

Παρεσκευάσθη δι' έναιωρήσεως πηκτικῆς ούσίας είς άπεσταγμένον ύδωρ υπό αναλογίαν 1 ο/ο, ύποβολῆς τοῦ έναιωρήματος είς τριήμερον διαπήδησιν και διορθώσεως τοῦ pH από τῆς τιμῆς 2,90 είς 4,0 διά προσθήκης διαλύματος καυστικού νατρίου.

Ύπόστρωμα Β₁

Παρεσκευάσθη καθ' όμοιον, ώς και τό ύπόστρωμα Β,

τρόπον, με μόνην διαφοράν, ὅτι τό ἐναιωρήμα πηκτικῆς οὐσίας δέν ὑπεβλήθη εἰς διαπήδησιν.

Ἐπόστρωμα Γ

Παρεσκευάσθη κατά τόν αὐτόν, ὡς καί τό ὑπόστρωμα Α, τρόπον μέχρι τῆς σαπωνοποιήσεως. Ἀκολουθῶς, ὅμως, τό ἐναιωρήμα πηκτικοῦ ὀξεόσ ὠξινίσθη, διά προσθήκης πυκνοῦ ὑδροχλωρικοῦ ὀξεόσ μέχρι pH 1, ὁπότε τό παραληφθέν Ἴζημα ἀπεχωρίσθη διά διηθήσεως μέσω τουλουπανίου. Μέρος ἐκ τούτου ὑπεβλήθη ἐπί τριήμερον εἰς διαπήδησιν διά τοποθετήσεώς του ἐντός ἀπεσταγμένου ὕδατος. Τελικῶς, ὁ ζελέσ ἐναιωρήθη ἐντός ἀπεσταγμένου ὕδατος, συνεπληρώθη εἰς τόν ἀρχικόν ὄγκον καί προσηρμόσθη εἰς pH 4 διά πρόσθήκης διαλύματος καυστικοῦ νατρίου.

Ἐπόστρωμα Δ

Παρεσκευάσθη δι' ἐναιωρήσεως πηκτικῆς οὐσίας εἰς ρυθμιστικόν διάλυμα pH 7 ὑπό ἀναλογίαν 1 ο/ο.

Ἀποτελέσματα:

Τά ἀποτελέσματα τῆς ἔκτης φάσεως τοῦ πειραματισμοῦ μας παρατίθενται εἰς τούς πίνακας 36 καί 37. Ἐκ τῆς μελέτης τούτων διαπιστοῦται μία αὐξηση τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων, ἀξιοσημείωτου τοῦ ὄγκου τοῦ ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος. Ὁμοίως, σημαντική διαφορά ἐμφανίζεται, ὡς πρός τήν περιεκτικότητα εἰς ἀναγωγικά ὁμάδας, μεταξύ τῶν ὑποστρωμάτων Α, Β καί Γ καί τῶν ἀντιστοιχῶν, τά ὁποῖα ὑπεβλήθησαν εἰς διαπήδησιν. Τό γεγονός, ὅμως, ὅτι αἱ ἀναγωγικά ὁμάδες εἰς ὑποστρώματα πηκτικῶν ὑλῶν ἄνευ περαιτέρω κατεργασίας εἶναι πρακτικῶς αἱ ἴδιαι, μεταξύ μάρτυρος καί τῶν διαφόρων κατηγοριῶν δειγμάτων, ὑποδηλοῦν, ὅτι δέν πρόκειται περί ἐνζυματικῆς δράσεως, ἀλλά περί ὑπάρξεως ἀναγωγικῶν οὐσιῶν εἰς τά ὑποστρώματα καί τό ἀκατέργαστον ἐνζυμικόν παρασκεύασμα. Πάντως, ἀποδεικνύεται ἐκ τῶν δεδομένων τοῦ πίνακος 36 ὡς καί ἄλλων στοιχείων παρατιθεμένων εἰς προηγουμένης σελίδας, ὅτι ἡ διαπήδησις, τόσον τῶν ὑποστρωμάτων τῶν πηκτικῶν οὐσιῶν, ὅσον καί τοῦ ἀκατεργάστου ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος, εἶναι διαδικασία ἀπαραίτητος εἰς πειράματα ἀνιχνεύσεως τῆς πολυγαλακτουρονάσης.

Κατ' ανάλογον τρόπον τὰ δεδομένα τοῦ πίνακος 37 ἀποδεικνύουν, ὅτι καλύτερα εἶναι ἡ ἐκχύλισις, ὅταν τὸ pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος εἶναι 7 καὶ ἡ περιεκτικότης εἰς χλωριούχον νάτριον 5 ο/ο. Αὔξησις τοῦ τελευταίου μέχρι 10 τοῖς ἑκατόν δέν φαίνεται νὰ αὐξάνῃ τὴν ἐκχυλιστικὴν ἐκάνοτητα ρυθμιστικοῦ διαλύματος. Ἐπιπλέον, τὸ προϊόν ὁμοιογενοποιήσεως διηθεῖται δυσκόλως, ὅσον τὸ pH τοῦ ἐκχυλιστικοῦ ὑγροῦ εἶναι χαμηλόν, λόγω τῆς ἐπισυμβαινούσης ζελοποιήσεως. Καλύτερον ἐκχυλιστικόν ὑγρὸν ἀπεδείχθη τὸ ρυθμιστικόν διάλυμα pH 7, τὸ ὁποῖον περιεῖχεν ἐν διαλύσει 5 τοῖς ἑκατόν χλωριούχον νάτριον.

Τέλος, αὔξησις τοῦ ὄγκου τοῦ ἐνζυμικοῦ ἐκχυλίσματος καὶ παράτασις τοῦ χρόνου δράσεως δέν εἶναι εἰς ὄφελος τῆς σχηματιζομένης μεθανόλης, διὰ μετρήσεις πραγματοποιουμένης μετὰ παρέλευσιν 2 ἡμερῶν.

Τοῦτο κατὰ πᾶσαν πιθανότητα ὑποδηλοῖ, ὅτι δι' οἴουδήποτε σχήματος ἐκχυλίζεται ἄρκετόν ἐνζυμον διὰ διάσπασιν τῶν μεθοξυλλίων τῆς πηκτικῆς οὐσίας τῶν 25 κυβικῶν ἑκατοστῶν τοῦ ὑποστρώματος περιεκτικότητος 1 ο/ο.

Σ' ΦΑΣΙΣ

Εἰς τὴν ἐβδόμην φάσιν πειραματισμοῦ ἐγένετο, βασικῶς ἐπανάληψις ὠρισμένων πειραματικῶν ἐργασιῶν τῆς ἑκτικῆς φάσεως. Συγκεκριμένως, ἐχρησιμοποιήθησαν τέσσαρα ὑποστρώματα, τὰ δύο τῶν ὁποίων ὑπεβλήθησαν εἰς διαπῆδησιν. Ὅμοίως, ἡ ἐκχύλισις ἐγένετο μέ δύο ρυθμιστικὰ διαλύματα περιέχοντα ἐν διαλύσει 5 ο/ο χλωριούχον νάτριον. Οὕτως, ὁ πειραματισμὸς ἐγένετο κατὰ τὸν ἀκόλουθον τρόπον:

Ἐκχύλισις κίτρων:

Ἐδοκιμάσθησαν πέντε τύποι ἐνζυμικῶν παρασκευασμάτων, τὰ ὁποία παρελήφθησαν κατὰ τὸν ἀκόλουθον τρόπον:

- 1) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα (α), τὸ ὁποῖον παρελήφθη δι' ὁμοιογενοποιήσεως 50 γραμμαρίων μεσοκαρπίου ὁμοῦ μετὰ 200 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 4, περιέχοντος ἐν διαλύσει 5 ο/ο χλωριούχον νάτριον.
- 2) Ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα (α₁), τὸ ὁποῖον παρελήφθη διὰ ὁμοιογενοποιήσεως 50 γραμμαρίων ἐνδοκαρπίου μετὰ 200 κυ-

βικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 4, περιέχον --
τος ἐν διαλύσει 5 ο/ο χλωριούχον νάτριον.

3) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα (β), τό ὁποῖον παρελήφθη, ὡς
καί τό (α), μέ μόνην διαφοράν ὅτι τό pH τοῦ ρυθμιστικοῦ
διαλύματος ἦτο 7 ἀντί 4.

4) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα (β₁), τό ὁποῖον παρελήφθη, ὡς
καί τό (α₁), μέ μόνην διαφοράν ὅτι τό pH τοῦ ρυθμιστι-
κοῦ διαλύματος ἦτο 7 ἀντί 4.

5) Ἐνζυμικόν ἐκχύλισμα (ε), τό ὁποῖον παρελήφθη δι' ἐκ --
χυλίσεως πεκτινόλ ἔμπορίου κατά τόν συνήθη τρόπον.

Χρησιμοποιηθέντα ὑποστρώματα πηκτικῶν οὐσιῶν:

Εἰς τήν φάσιν αὐτήν πειραματισμοῦ ἐχρησιμοποιήθη-
σαν ἐν συνόλῳ τέσσαρα ὑποστρώματα παρασκευασθέντα κατά
τόν ἀκόλουθον τρόπον:

Ἐπόστρωμα Α

Παρασκευάσθη, ὡς καί τό ὑπόστρωμα (Α) τῆς ΣΤ φάσεως

Ἐπόστρωμα Β

Παρασκευάσθη δι' ἐναιωρήσεως πηκτικῆς οὐσίας εἰς
ρυθμιστικόν διάλυμα pH 4 ὑπό ἀναλογίαν 1 ο/ο, ὁμοιογε --
νοποιήσεως εἰς ἠλεκτρικόν ἀναμίκτην καί προσαρμογῆς τοῦ
pH εἰς τήν τιμήν 3,8.

Ἐπόστρωμα Γ

Παρασκευάσθη ὡς καί τό ὑπόστρωμα Α, μέχρι τῆς σαπω-
νοποιήσεως, τό παραληφθέν, ὅμως, ἐναιώρημα ὠξινίσθη διά
πυκνοῦ ὑδροχλωρικοῦ ὀξεῖος μέχρι pH 1. Ἠκολούθησε προσ-
θήκη ἀλκοόλης καί κατακρήμνις τοῦ πηκτικοῦ ὀξεῖος, τό
ἕζημα τοῦ ὁποῖου διεχωρίσθη μέσω τουλουπανίου καί ὑπε --
βλήθη εἰς διαπήδησιν ἐπί τριήμερον. Τελικῶς, ὁ παραληφθεῖς
ζελές διεσπάρη ἐντός ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 4, ἤχθη
εἰς τόν ἀρχικόν ὄγκον καί ὠμοιογενοποιήθη εἰς ἠλεκτρι-
κόν ἀναμίκτην. Διαρκούσης τῆς ὠμοιογενοποιήσεως προσηρμό-
σθη ἡ τιμή τοῦ pH εἰς 3,8.

Ἐπόστρωμα Δ

Παρασκευάσθη, ὡς καί τό ὑπόστρωμα Δ τῆς ΣΤ φάσεως .
Τό τελικόν pH μετά τήν ὠμοιογενοποίησιν ἦτο 6,90.

Αποτελέσματα:

Τά αποτελέσματα τῆς ἑβδόμης φάσεως τοῦ πειραματισμοῦ παρατίθενται εἰς τοὺς πίνακας 38 καὶ 39 ἐκ τῆς μελέτης τῶν ὁποίων διαπιστοῦνται:

1) Μία αὐξησις τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων, συγκριτικῶς πρὸς τὴν μάρτυρα, τοῦλάχιστον εἰς τὰ ὑποστρώματα, τὰ ὁποῖα πρὸ τῆς χρησιμοποιοῦσεως των ὑπεβλήθησαν εἰς διαπήδησιν (Α καὶ Γ). Ἀντιθέτως, εἰς τὸ ὑπόστρωμα Β, τὸ ὁποῖον ἐχρησιμοποιήθη εἰς τὴν ἀνίχνευσιν τῆς πολυγαλακτουρονάσης, χωρὶς νὰ ὑποβληθῆ εἰς διαπήδησιν, ὁ ἀριθμὸς τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων εἶναι ἐξ ἴσου ὑψηλὸς ὅσον καὶ εἰς τὸν μάρτυρα. Πάντως, τὸ γεγονὸς, ὅτι δέν παρατηρεῖται αὐξησις τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων μὲ παράτασιν τοῦ χρόνου ἐπώσεως ὑποδηλοῖ ὅτι αἱ ἀναγωγικαὶ ὁμάδες δέν ὀφείλονται εἰς ἐνζυματικὴν δρᾶσιν, ἀλλὰ εἰς παρουσίαν καρβονυλικῶν ἐνώσεων εἰς τὸ ἀκατέργαστον ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα.

Καθ' ὅμοιον τρόπον τὰ σχετικὰ πρὸς τὴν δρᾶσιν τῆς πηκτομεθυλεστεράσης δεδομένα τοῦ πίνακος 39 ἀποδεικνύουν, ὅτι ἡ ζελοποίησις εἶναι πληρεστέρα εἰς δείγματα περιέχοντα ἐν ἀναμίξει ἀκατέργαστον ἐνζυμικὸν παρασκεύασμα κατηγορίας β (ἐκχύλισις μὲ ρυθμιστικὸν διάλυμα pH 7). Αὕτῃ ἡ διάκρισις δέν εἶναι ἐμφανὴς κατὰ τὴν μελέτην τῶν τιμῶν τῆς ὀπτικῆς πυκνότητος καὶ τοῦτο θὰ πρέπει νὰ ἀποδοθῆ εἰς τὸ ὅτι αἱ πρῶται μετρήσεις ἐγένοντο μετὰ τριήμερον, ὁπότε, ἀνεξαρτήτως ἀρχικῆς ποσότητος τῆς προστεθείσης εἰς τὰ ὑποστρώματα πηκτομεθυλεστεράσης, τὰ ἀποτελέσματα εἶχον πρακτικῶς ἐξισωθῆ, λόγῳ διασπάσεως τοῦ συνόλου τῶν μεθοξυλίων.

Η΄ ΦΑΣΙΣ

Εἰς τὴν ὀγδόην φάσιν πειραματισμοῦ ἐχρησιμοποιήθη ὡς ἐκχυλιστικὸν ὑγρὸν μόνον ρυθμιστικὸν διάλυμα pH 7, τὸ ὁποῖον περιεῖχεν ἐν διαλύσει 5 ο/ο χλωριούχον νάτριον. Ἐπίσης, ἐχρησιμοποιήθησαν μόνον τρία ὑποστρώματα ἐκ τῶν ὁποίων μόνον τὰ δύο ὑπεβλήθησαν εἰς διαπήδησιν. Τέλος, εἰς τὴν φάσιν αὐτὴν πειραματισμοῦ αἱ ἀναγωγικαὶ ὁμάδες ἐμετρήθησαν εἰς διάφορα ἀπὸ τῆς ἐνσωματώσεως τοῦ

ένζυμικῶν παρασκευάσματος διαστήματα, προκειμένου νά διαπιστωθῆ, ἐάν ὑπῆρχεν ἔστω καί μικρά αὐξησης συναρτήσῃ τοῦ χρόνου. Οὕτως, ὁ πειραματισμός ἐγένετο κατὰ τόν ἀκόλουθον τρόπον:

Ἐγκύλις κίτρον:

Ἐδοκιμάσθησαν τέσσαρες τύποι ένζυμικῶν παρασκευασμάτων, τά ὁποῖα παρελήφθησαν κατὰ τόν ἀκόλουθον τρόπον:

1) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα μεσοκαρπίου α, τό ὁποῖον παρελήφθη δι' ὁμοιογενοποιήσεως 200 γραμμαρίων θρυμμάτων μεσοκαρπίου ἐπιπασμένον μετά 10 γραμμαρίων χλωριούχου νατρίου ὁμοῦ μετά 100 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρυθμιστικοῦ διαλύματος pH 7, περιέχοντος ἐν διαλύσει καί 5 ο/ο χλωριούχον νάτριον, μέχρι τῆς ἐπομένης, ὑπό θερμοκρασίαν 28 °C, ἀφού πρῶτον προσετέθη κατ' ἐπιφάνειαν λεπτόν στρώμα τολουόλης, ὡς ἀντισηπτικοῦ. Τήν ἐπομένην ἠκολούθησε διήθησις ἀρχικῶς μέσω τουλουπανίου καί ἐν συνεχείᾳ μέσω διηθητικοῦ χάρτου, τό δέ ἀποχωρισθέν ένζυμικόν παρασκεύασμα ἐφυλάχθη εἰς τό φυγεῖον (θερμοκρασία 0-2°C) καί συνετηρεῖτο διά προσθήκης Methylolate, εἰς ἀναλογίαν 0,1 ο/ο. Τό τελικόν pH ἦτο 6,30.

2) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα σ, τό ὁποῖον παρελήφθη κατὰ τόν ἴδιον, ὡς καί τό παρασκεύασμα (α) τρόπον, μέ μόνην τήν διαφοράν, ὅτι κατὰ τήν ὁμοιογενοποίησιν ἐχρησιμοποιήθησαν τεμαχίδια ένδοκαρπίου. Οὕτω, τό προϊόν διηθήσεως μέσω τουλουπανίου ἐζελοποιήθη, πρός διάσπασιν δέ τοῦ ζελέ προσετέθη διάλυμα καυστικοῦ νατρίου. ἠκολούθησε διήθησις μέσω διηθητικοῦ χάρτου, ὁπότε διεχωρίσθη ἀκατέργαστον ένζυμικόν παρασκεύασμα pH 8,9 διαφυλαχθέν εἰς τό φυγεῖον.

3) Ἐνζυμικόν παρασκεύασμα σ' (ἐξ ένδοκαρπίου ἀπηλλαγμένου σπερμάτων), τό ὁποῖον παρελήφθη διά τῆς ἰδίας, ὡς ἀνωτέρω, διαδικασίας, μέ μόνην τήν διαφοράν, ὅτι ἀπεμακρύνθησαν τά σπέρματα πρό τῆς ὁμοιογενοποιήσεως. Τά τελευταῖα περιεῖχον ἱκανόν ποσοστόν κόμμεων, τά ὁποῖα συνέβαλον εἰς τήν ζελοποίησιν τῆς διαχωριζομένης μέσω τουλουπανίου ὑγρᾶς φάσεως. Τό pH τοῦ ἀκατεργάστου ένζυμικοῦ παρασκευάσματος, τό ὁποῖον, ὁμοίως, διεφυλάχθη εἰς τό φυγεῖον, μετρηθέν δέ εὐρέθη ἴσον πρός 6,9.

4) Ένζυμικόν παρασκευάσμα ε (έκ πεκτινόλ έμπορλίου), τό όποϊόν παρεσκευάσθη κατά τόν περιγραφέντα είς τάς προηγούμενας σελίδας τρόπον (έκχύλισις δι' ύδατος).
Παρασκευή ύποστρωμάτων:

Είς τήν φάσιν αύτήν τοϋ πειραματισμοϋ έχρησιμο ποιήθησαν τρία ύποστρώματα, τά όποια παρεσκευάσθησαν, ώς άκολουθως:

Ύπόστρωμα Α

Παρεσκευάσθη ώς τό ύπόστρωμα Α τής ΣΤ' φάσεως.

Ύπόστρωμα Β

Παρεσκευάσθη διά τής ίδίως ώς άνω διαδικασίας μέχρι τής σαπωνοποιήσεως, άκολουθως, όμως, ώξεινίσθη δι' ύδροχλωρικού όξεός μέχρι pH 1 καί ύπέστη καθίζησιν προσθήκη άλκοόλης. Τό ίζημα ύπεβλήθη είς διαπήδησιν επί 3 ήμέρας καί διεσπάρη είς ρυθμιστικόν διάλυμα pH 4 τή βοθηεία ήλεκτρικού άναμίκτου.

Ύπόστρωμα Β'

Παρεσκευάσθη διά τής ίδίως ώς άνω διαδικασίας, μέ μόνην διαφοράν, ότι τό άρχικόν έναιώρημα πηκτικής ούσίως ήτο 2 ο/ο άντί τοϋ 1 ο/ο.

Άποτελέσματα:

Τά άποτελέσματα τής όγδόης σειράς πειραματισμοϋ παρατίθενται είς τόν πίνακα 40, έκ τής μελέτης δέ τούτων συμπεραίνεται, ότι ούδεμία αύξησις άναγωγικών όμάδων έλαβε χώραν συναρτήσει τοϋ χρόνου, αλλά παρέμεινε πρακτικώς ή αύτή, ώς ή άρχική καί είς τά τρία ύποστρώματα. Έξάίρεσιν άποτελει τό πεκτινόλ τοϋ έμπορλίου, όπου παρατηρείται, έντός τοϋ χρονικού διαστήματος των 48 ώρων, μικρά μέν, αλλά προοδευτική αύξησις των άναγωγικών όμάδων.

Θ' ΦΑΣΙΣ

Είς τήν ένάτην φάσιν τοϋ πειραματισμοϋ έδοκιμάσθησαν τά ίδια, ώς καί είς τήν όγδόην φάσιν ένζυμικά παρασκευάσματα (α, σ καί σ'), επί δύο ύποστρωμάτων, τό

πρώτον τῶν ὁποίων (Α) ἦτο ἐναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας 10/ο, τό ὁποῖον ὑπεβλήθη εἰς διαπήδησιν ἔναντι ἀπεσταγμένου ὕδατος καί ἀπέκτησε τιμῆν pH 3,95, ἐνῶ τό δεύτερον (Β) ἦτο ὁμοίως ἐναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας 10/ο, τό ὁποῖον, ὅμως, ὑπεβλήθη ἀρχικῶς εἰς σαπωνοποίησιν καί ἐν συνεχείᾳ, εἰς διαπήδησιν. Τό pH διωρθώθη διά διαλύματος κιτρικοῦ ὀξεόος ἀπό 5,95 εἰς 4,08.

Μεταβληταί εἰς τήν προκειμένην περίπτωσιν ἦσαν ἡ διάρκεια ἐπώσεως καί ἡ ποσότης τοῦ ἐνζύμου, ἡ ὁποία ἐνεσωματοῦτο εἰς τόν ἴδιον ὄγκον τοῦ ὑποστρώματος (25 κυβικά ἑκατοστά). Αἱ ἀναγωγικά ὁμάδες ἐμετρήθησαν κατά τά γνωστά, τά δέ ἀποτελέσματα ἐμφαίνονται εἰς τόν πίνακα 41.

Ἀποτελέσματα:

Ἐκ τῆς μελέτης τῶν στοιχείων τοῦ πίνακος 41 διαπιστοῦται μία αὔξησις τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων, οὐχί συναρτήσῃ τοῦ χρόνου δράσεως τοῦ ἐνζύμου, ἀλλά συναρτήσῃ τῆς ποσότητος ἐξ αὐτοῦ, ἡ ὁποία ἐνεσωματοῦτο εἰς τόν ἴδιον ὄγκον ὑποστρώματος. Τοῦτο ἀποτελεῖ ἔνδειξιν, ὅτι αἱ ἀναγωγικά ὁμάδες εἶχον τήν ἀρχήν των οὐχί εἰς ἐνζυμικήν δράσιν, ἀλλά εἰς οὐσίας μέ ἀναγωγικάς ιδιότητας, αἱ ὁποῖαι ὑπῆρχον εἰς τό ἀκατέργαστον ἐνζυμικόν παρασκευάσμα. Ἀμφότερα τά ὑποστρώματα (Α) καί (Β) ἦσαν ἀπηλλαγμένα ἀναγωγικῶν ὁμάδων, διότι ὑπεβλήθησαν εἰς διαπήδησιν (βλ. Α-Μ καί Β-Μ τοῦ πίνακος 41).

Πρός ἐπιβεβαίωσιν τοῦ ἀνωτέρω μία ποσότης ἐξ ὅλων τῶν ἀκατεργάστων ἐνζυμικῶν παρασκευασμάτων ὑπεβλήθη εἰς διαπήδησιν ἐπί 15 ὥρας, περίπου, ἔναντι ποσίμου ὕδατος καί ἀκολούθως, ἐπί 7 ὥρας, ἔναντι ἀπεσταγμένου ὕδατος. Τά ἀποτελέσματα μετρήσεως τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων ἐμφανίζονται εἰς τήν τελευταίαν στήλην τοῦ πίνακος 41, ἐκ τῆς μελέτης τῶν ὁποίων διαπιστοῦται, ὅτι ὅλα τά ἐνζυμικά παρασκευάσματα, λόγω ἀπαλλαγῆς των ἐκ τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων διά διαπήδησεως, συμπεριεφέρθησαν κατά τόν ἴδιον τρόπον, καί τά ὑποστρώματα ἐντός τῶν ὁποίων εἶχον ἐνσωματωθῆ ὀξείν διέφερον ἀπό τούς μάρτυρας.

Τέλος, εἰς τήν ἰδίαν σειράν πειραματισμοῦ, ἐμετρήθη

καί ἡ δρᾶσις τῆς πηκτομεθυλεστεράσης εἰς ἀκατέργαστον ἐνζυμικόν παρασκευάσμα, ὡς καί εἰς καθαρισθέν διά διαπῆδησεως. Ὡς ὑπόστρωμα ἐχρησιμοποιήθη ἐναϊώρημα πηκτικῆς οὐσίας 1 ο/ο εἰς ρυθμιστικόν διάλυμα pH 7 (ὑπόστρωμα Γ), ἐνῶ αἱ μετρήσεις τῆς ὀπτικῆς πυκνότητος ἐγένοντο μετὰ ἐπώασιν 20 λεπτῶν ἕως καί δύο ὥρων. Τά ἀποτελέσματα παρατίθενται εἰς τόν πίνακα 42, ἐκ τῆς μελέτης δέ τούτων διαπιστοῦται, ὅτι τόσον ἡ διαπῆδησις, ὅσον καί ἡ παράτασις τοῦ χρόνου ἐπώσεως δέν ἠὔξησαν τήν ἐνζυμικήν δρᾶσιν, τό maximum τῆς ὀπτικῆς, πρακτικῶς, ἐπετεύχθη ἐντός τῶν 20 πρώτων λεπτῶν.

Τό πεκτινόλ ἐμπορίου ἀπεδείχθη καί πάλιν πτωχόν εἰς πηκτομεθυλεστεράσην. Ἡ διαπῆδησις τοῦ ἀκατεργάστου ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος ἐμείωσεν ἐλαφρῶς τήν δρᾶσιν τῆς πηκτομεθυλεστεράσης.

I. ΦΑΣΙΣ

Εἰς τήν φάσιν αὐτήν τοῦ πειραματισμοῦ ἐπεχειρήθη καί πάλιν ἡ μελέτη τῆς τυχόν παρουσίας πολυγαλακτορονάσης, εἰς ἀκατέργαστον ἐνζυμικόν παρασκευάσμα ἐκ μεσοκαρπίου, μέ νέον στοιχεῖον τόν βρασμόν ἐπί τρία λεπτά μιᾶς ποσότητος τοῦ ἀκατεργάστου ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος διά συγκριτικούς σκοπούς. Τέλος, παραλλήλως πρός τό αὐτούσιον καί βρασθέν ἐνζυμικόν παρασκευάσμα, ἐδοκιμάσθη καί πεκτινόλ ἐμπορίου, τό ὁκοῖον, ὅμως, προσετέθη ὑπό τήν μορφήν ὑπό τήν ὁποῖαν διατίθεται εἰς τό ἐμπόριον (προσοροφημένον ἐπί πιτύρων). Μεταβληταί εἰς τήν προκειμένην περίπτωσιν ἦσαν ἡ θερμοκρασία ἐπώσεως (30 καί 40) °C καί ὁ χρόνος δράσεως τοῦ ἐνζύμου ἐπί τοῦ υποστρώματος (ἐκυμάνθη ἀπό 10 λεπτά ἕως τρεῖς ἡμέρας). Ἐπίσης, κατὰ τήν ἐκτίμησιν τῶν ἀναγωγικῶν ὁμάδων, ἠκολουθήθη ἡ μέθοδος ἡ συνιστωμένη ὑπό τοῦ Owens καί τῶν συνεργατῶν του (1952), συμφώνως πρός τήν ὁποῖαν παραλαμβάνετο ἐκ τοῦ υποστρώματος ὄγκος 5 κυβικῶν ἑκατοστών ἀνά ὠρισμένα χρονικά διαστήματα καί μετεωέρετο ἐντός κωνικῆς φιάλης μετὰ ἐσφυρισμένου πώματος. Ἐντός τῆς τελευταίας προσετίθεντο καί 5 κυβικά ἑκατοστά N/10 διαλύματος ἰωδίου ὡς καί 0,9 κυβικά ἑκατοστά 1N δια -

λύματος Na_2CO_3 . Ακολούθως, τό δείγμα άφίετο εις σκοτεινόν μέρος, όποτε ώξεινίζετο διά προσθήκης 2 κυβικών εκατοστών διαλύματος $2\text{N H}_2\text{SO}_4$. Αί άναγωγικαί ομάδες έμετροήθησαν κατά τά ννωστά ήτοι δι' όγκομετρήσεως τής ύποληφθείσης ποσότητος ιωδίου, μετά πεντηκοστοκανονικου διαλύματος θειοθειικού νατρίου παρουσία άμύλου ως δείκτου.

Χρησιμοποιηθέντα ύποστρώματα

Είς τήν φάσιν αυτήν έχρησιμοποιήθησαν δύο ύποστρώματα, ήτοι:

1) Έναιώρημα πηκτικής ούσίας 1 ο/ο εις ύδωρ, τό όποϊον κατέστη άλκαλικόν διά προσθήκης πυκνου διαλύματος καυστικού νατρίου (10 ο/ο), έσαπνοποιήθη εις έπαναρρέοντα φυκτήρα, ύπεβλήθη εις διαπήδησιν επί διήμερον έναντι άπεσταγμένου ύδατος και ώξεινίσθη διά διαλύματος κιτρικού όξεος μέχρι pH 4 (ύπόστρωμα Α).

2) Έναιώρημα πηκτικής ούσίας 1 ο/ο εις άπεσταγμένον ύδωρ, τό όποϊον ύπεβλήθη εις διαπήδησιν επί τριήμερον έναντι άπεσταγμένου ύδατος. Η τιμή του pH έρρυθμίσθη εις 4 διά διαλύματος κιτρικού όξεος (ύπόστρωμα Β).

Αποτελέσματα:

Τά αποτελέσματα τής δεκάτης σειράς πειραματισμού έμφανίζονται εις τούς πίνακας 43, 44 και 45 εκ τής μελέτης τών όποϊων διαπιστουται ή άπουσία πολυγαλακτουρονάσης, δεδομένου ότι και εις τάς τρεϊς έπαναλήψεις βρασθέν και αύτούσιον ένζυμικόν παρασκεύασμα συμπεριφέρθησαν κατά τόν ίδιον άκριβώς τρόπον επί ύποστρώματος (Α). Μάλιστα, εις τήν θερμοκρασίαν τών 30 °C άπεδείχθη πλήρως άδρανές και τό πεκτινόλ έμπορίου. Αντιθέτως, εις τήν περίπτωση τών 40 °C παρατηρήθη βραδεία, αλλά συνεχής, αύξησης τών άναγωγικών ομάδων εις δείγματα μέ πεκτινόλ έμπορίου. Ανάλογα ύπήρξαν τά αποτελέσματα και εις τά δείγματα μέ ύπόστρωμα (Β).

ΙΑ' ΦΑΣΙΣ

Είς τήν τελευταίαν αυτήν φάσιν του πειραματισμού έμελετήθησαν ώρισμένα ιδιότητες τής πηκτομεθυλεστεράσης τών κίτρων και συγκεκριμένως ή δράσις της εις δύο δια-

φορετικές θερμοκρασίας και είς διαφόρους τιμάς του pH του υποστρώματος.

Έκχυλίσις κίτρων

Διά τόν διαχωρισμόν του άκατεργάστου ένζυμικοῦ παρασκευάσματος έξεχυλίσθησαν θρύμματα μεσοκαρπίου και τεμαχίδια ένδοκαρπίου, τά όποία είχον έπικασθή μετά κό- νως χλωριούχου νατρίου είς άναλογίαν 5 ο/ο. Ός έκχυ- λιστικόν ύγρόν έχρησιμοποιήθη ρυθμιστικόν διάλυμα pH 7 περιέχον 5 ο/ο χλωριούχον νάτριον, τό δέ προϊόν τής όμοιογενοποιήσεως άφίετο είς τό έπωαστήριο μέχρι τής έπομένης, υπό θερμοκρασίαν 28°C, μετά λεπτοῦ στρώματος το- λουόλης πρός άποφυγήν μόλύνσεων.

Τήν έπομένην έγένετο διήθησις, άρχικῶς μέσω τουλου- πανίου και έν συνεχεία μέσω διηθητικού χάρτου, προσετί- θετο δέ συντηρητικόν είς τό άκατέργαστον ένζυμικόν παρα- σκεύασμα, τό όποίον έφυλάσσετο είς θερμοκρασίαν 0-2 °C μέχρι τής χρησιμοποίησεώς του, διά μικρόν χρονικόν διά- στημα.

Χρησιμοποιηθέντα ύποστρώματα

Ός ύπόστρωμα διά τήν δρᾶσιν τής πηκτομεθυλεστερά - σης έχρησιμοποιήθη έναιώρημα πηκτικῆς ούσίας 1 ο/ο είς ρυθμιστικόν διάλυμα pH 6,95 είς τήν πρώτην περίπτωσιν και έναιωρήματα 1 ο/ο "πηκτινών" 150° και 200° είς τέσ- σαρα ρυθμιστικά διαλύματα: pH 3,40 -5,50 -7,65 και 8,50.

Τρόπος έργασίας

Τό ύπόστρωμα πηκτικῆς ούσίας διενέμετο ανά 250 κυ- βικά έκατοστά έντός κωνικῶν φιαλῶν χωρητικότητος 300 κυ- βικῶν έκατοστῶν και άνεμιγνύετο μετά 10 κυβικῶν έκατο- στῶν άκατεργάστου ένζυμικοῦ παρασκευάσματος (1 κυβικόν έ- κατοστόν πρός 25 κυβικά έκατοστά ύποστρώματος) και άκο- λούθως έφέρετο είς ύδρόλουτρον, ή θερμοκρασία του όποίου διετηρεῖτο σταθερά (29-31 °C ή 39-41 °C). Ανά διαστήμα- τα παρελαμβάνοντο έν τής κωνικῆς φιάλης 25 κυβικά έκατο- στά ύποστρώματος και μετεφέροντο έντός του ύποδοχέως τής άποστακτικῆς συσκευῆς περιεχοῦσης 5 κυβικά έκατοστά δια- λύματος N/10 κιτρικού όξέος. Άμα τῆ άναμίξει εισηγοντο

έντός τῆς θιάλης 90 κυβικά ἑκατοστά ζέοντος ἀπεσταγμέ-
νου ὕδατος, προκειμένου νά παρεμποδισθῆ ἢ περαιτέρω ἐν-
ζυμική δράσις, ἠκολούθει δέ ἀπόσταξις κατά τὰ γνωστέ
μέχρι συγκεντρώσεως 40 κυβικῶν ἑκατοστῶν ἀποστάγματος.
Εἰς τό θιαλίδιον συλλογῆς τοῦ ἀποστάγματος εἰσήγετο, προ-
καταβολικῶς, ὄγκος 10 κυβικῶν ἑκατοστῶν ἀπεσταγμένου ὕ-
δατος, ἐντός τοῦ ὁποίου ἐβυθίζετο τό ἄκρον τοῦ φυκτῆρος,
μέ σκοπόν ὅπως ἀποφευχθῆ πᾶσα ἀπώλεια μεθανόλης.

Ἐκ τοῦ ἀποστάγματος ἐγρησιμοποιεῖτο ἐκάστοτε ὄγκος
1 κυβικοῦ ἑκατοστοῦ διά τόν χρωματομετρικόν προσδιορι-
σμόν τῆς μεθανόλης. Κατά τήν ἀπόσταξιν δειγμάτων μέ οὐ-
δετέραν ἢ ἀλκαλικήν ἀντίδρασιν τό περιεχόμενον τοῦ ὑπο-
δοχέως τῆς ἀποστακτικῆς συσκευῆς ὠξινίζετο διά τῆς εἰ-
σαγωγῆς 10 κυβικῶν ἑκατοστῶν διαλύματος N/10 κιτρικοῦ
ὀξέος, προκειμένου νά ἀποφευχθῆ ἡ διάσπασις τῶν μεθο-
ξυλίων διαρκούσης τῆς ἀποστάξεως.

Τό ἀντίθετον συνέβη, ὅταν ἀπεστάζετο μάρτυς ὀξίνου
ἀντιδράσεως, ὁπότε προσετίθετο διάλυμα καυστικοῦ νατρί-
ου εἰς τόν ὑποδοχέα τῆς συσκευῆς καί ἐπετυγγάνετο, διά
τοῦ τρόπου αὐτοῦ, διάσπασις τοῦ συνόλου τῶν μεθοξυλίων.
Ἡ μεθανόλη, ἡ ὁποία προσδιωρίζετο εἰς τήν περίπτωσιν
αὐτήν, ἀντεπροσώπευε τήν μεγαλυτέραν δυνατήν τιμήν διά
τό ὑπό μελέτην ὑπόστρωμα.

Ἀποτελέσματα

Τά συγκεντρωθέντα προκαταρκτικά στοιχεῖα εἰς τήν
ἐν λόγω φάσιν πειραματισμοῦ παρατίθενται εἰς τόν πίνα-
κα 46, ἐπί τῶν ἰδίων δέ ἐβασίσθη ἡ γάραξις τῶν καμπυλῶν
τοῦ σχεδιαγράμματος β.

Οὕτω, διεπιστώθη ὅτι ὑπό τὰς ἡμετέρας συνθήκας πει-
ραματισμοῦ, ἥτοι ὑπό ἀναλογίαν 1 κυβικοῦ ἑκατοστοῦ ἐνζύ-
μου πρός 25 κυβικά ἑκατοστά ἐναιωρήματος πηκτικῆς οὐσί-
ας 1 ο/ο, ἡ δράσις συνεπληροῦτο πρακτικῶς ἐντός τῶν πρῶ-
των 30 λεπτῶν ἀπό τῆς στιγμῆς ἐνσωματώσεως τοῦ ἐνζύμου.
Περαιτέρω ἐπάσις δέν ἠῦξανε τήν ποσότητα τῆς μεθανόλης,
προφανῶς, λόγω συμπληρώσεως τῆς διασπένσεως τοῦ
συνόλου τῶν μεθοξυλίων τοῦ ὑποστρώματος.

Μέ βάσιν τὰ ἀνωτέρω δεδομένα ἐλήφθησαν διαδοχικά δείγματα ἐντός χρόνου μιᾶς ὥρας, ἀπό τῆς ἐνσωματώσεως τοῦ ἐνζύμου, προκειμένου νά μελετηθῇ ἡ δράσις αὐτοῦ εἰς δύο διαφορετικὰς θερμοκρασίας. Ἐπίσης, διά τήν μελέτην τοῦ optimum pH, ἐλήφθησαν δείγματα ἀπό τὰ τέσσαρα ὑποστρώματα πηκτικῆς οὐσίας μετά πάροdon 30 λεπτῶν ἀπό τῆς ἐνσωματώσεως τοῦ ἐνζύμου.

Τὰ ἀποτελέσματα, τὰ ὁποῖα παρατίθενται εἰς τόν πίννακα 47, ἐπιβεβαιοῦν, ὅτι ὁ ρυθμός διασπάσεως τῶν μεθοξυλιῶν εἶναι σχεδόν ὁ ἴδιος εἰς τὰς δύο θερμοκρασίας τῶν 30°C καί τῶν 40°C.

Ἐπίσης, τὰ ἀποτελέσματα τοῦ πίνακος 48 ἀποδεικνύουν, ὅτι ἡ δράσις τῆς πηκτομεθυλεστεράσης τῶν κίτρων εἶναι ἐλαχίστη εἰς τήν τιμήν pH 3,4 καί ἐμφανίζει τήν μεγίστην τιμήν εἰς pH 7,65 = 8,0. Εἰς τό ἴδιον συμπέρασμα ὁδηγεῖ καί ἡ μελέτη τῶν γραφικῶν παραστάσεων τοῦ σχεδισγράμματος γ.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ἡ ἔρευνα ἐπί τῶν πηκτολυτικῶν ἐνζύμων τῶν κίτρων ἀπέδειξεν ὅτι:

- 1) Τό κίτρον εἶναι πλούσιον εἰς πηκτομεθυλεστεράσην καί ἀπηλλαγμένον πολυγαλακτουρονάσης, ὅπως ἄλλωστε συμβαίνει καί μέ τούς καρπούς τῶν ἄλλων ἐσπεριδοειδῶν.
- 2) Ἡ ἠύξημένη ἐνίοτε περιεκτικότης εἰς ἀναγωγικὰς ὁμάδας, μετά δράσιν ἀκατεργάστου ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος, ἀπεδείχθη, ὅτι ὀφείλεται εἰς παρουσίαν ἀναγωγικῶν οὐσιῶν, εἴτε εἰς τό ἀκατέργαστον ἐνζυμικόν παρασκεύασμα, εἴτε εἰς τό ὑπόστρωμα τοῦ ἐναιωρήματος τῆς πηκτικῆς οὐσίας. Διά τόν λόγον αὐτόν συνιστάται, ὅπως τό ὑπόστρωμα πηκτικῆς οὐσίας ἢ πηκτικοῦ ὀξεόος, ὑποβάλλεται εἰς διάπῃδῃσιν κρό τῆς χρησιμοποιοῦσέως του εἰς ἀνίχνευσιν ἢ μελέτην δράσεως τῶν πολυγαλακτουρονασῶν.
- 3) Ἡ πηκτομεθυλεστεράση τῶν κίτρων εἶναι προσροφημένη ἐπί τῶν ἰστών αὐτοῦ καί ἐκχυλίζεται βάσει ὀρισμένης διαδικασίας. Τό καλύτερον ἐκχυλιστικόν ὑγρόν ἀπεδείχθη, ὅτι

είναι ρυθμιστικόν διάλυμα ούδετέρας αντιδράσεως, τό οποίον πρέπει νά περιέχη 5 ο/ο χλωριούχον νάτριον. Αύξεις τῷ ποσοστοῦ τοῦ χλωριούχου νατρίου πέραν τοῦ 5 ο/ο δέν αὐξάνει τήν ἐκχυλιστικήν ἰκανότητα, ἐνῶ μικρότερα καί κάτω τοῦ 3 ο/ο μειώνει τήν ποσότητα τοῦ ἐκχυλιζομένου ἐνζύμου.

4) Ἡ τιμή τοῦ pH τοῦ ἐκχυλιστικοῦ ὑγροῦ ἐπηρεάζει περισσότερο τήν ἐκχυλιστικήν του ἰκανότητα ἀπό ὅ,τι ἡ περιεκτικότης τούτου εἰς χλωριούχον νάτριον. Ἀπεδείχθη δέ ὅτι ἐκχυλιστικόν ὑγρόν pH 4, μέ μικράν περιεκτικότητα εἰς χλωριούχον νάτριον, ἐκχυλίζει ἐλάχιστην ποσότητα πηκτομεθυλεστεράσης ἀπό τά κίτρα.

5) Ἡ ἀνίχνευσις τῆς πηκτομεθυλεστεράσης, ἀλλά καί ἡ μελέτη τῆς δράσεως αὐτῆς δύναται νά γίνῃ μέ χρωματομετρικόν προσδιορισμόν τῆς ἀπελευθερουμένης, ὡς ἐκ τῆς δράσεως τοῦ ἐνζύμου, μεθανόλης. Ἡ μέθοδος αὕτη ἔδωσεν ἰκανοποιητικά ἀποτελέσματα.

6) Τό ἐνδοκάρπιον ἐμφανίζεται πλουσιώτερον εἰς πηκτομεθυλεστεράσην ἀπό ὅ,τι οἱ ἱστοί τοῦ μεσοκαρπίου, ὅταν ἡ ἐκχύλισις γίνεται διά διαλύματος χλωριούχου νατρίου εἰς ἀπεσταγμένον ὕδωρ. Ἀντιθέτως εἰς περίπτωσιν χρησιμοποίησης, ὡς ἐκχυλιστικοῦ ὑγροῦ, ρυθμιστικοῦ διαλύματος οὔδετέρας ἀντιδράσεως περιέχοντος 3-5 ο/ο χλωριούχον νάτριον τό μεσοκάρπιον ἐμφανίζεται πλουσιώτερον εἰς πηκτομεθυλεστεράσην ἀπό ὅ,τι τό ἐνδοκάρπιον.

7) Ἡ ἄλμη τῶν κίτρων τῆς βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας εἶναι πλουσία εἰς πηκτομεθυλεστεράσην καί τοῦτο εἶναι φυσικόν, καθ' ὅτι ἡ ἄλμη, ἂν καί ὀξύνη, ἐκχυλίζει πηκτομεθυλεστεράσην ἀπό τοῦς ἱστούς τοῦ κίτρου λόγω τῆς ἠύξημένης περιεκτικότητός της εἰς χλωριούχον νάτριον.

8) Ἡ πηκτομεθυλεστεράση τῶν κίτρων δρᾷ ἐλάχιστα εἰς χαμηλόν pH (3,5-4,0) καί ἔχει optimum τιμῆς περίξ τῆς οὔδετερότητος (μεταξύ 7,5-8,0). Τό ἴδιον ἐνζυμον ἐνεφάνισε τήν ἰδίαν δραστηριότητα εἰς θαν 29-30 καί 39-40 °C.

9) Ἡ ἔρευνα ἐπί τῶν πηκτολυτικῶν ἐνζύμων τῶν κίτρων δέν συνεχίσθη ἀφ' ἐνός ἐπειδή ἡ πηκτινεστεράση ἔχει μελετηθῆ διεξοδικῶς εἰς τοῦς καρπούς τῶν ἄλλων ἐσπεριδοειδῶν καί ἀφ' ἑτέρου ἐπειδή οὔδεμία ἐνδειξις ὑπῆρξε διά τήν παρουσίαν πολυγαλακτουρονάσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟΝ ΤΡΙΤΟΝ

Μ Ι Κ Ρ Ο Χ Λ Ω Ρ Ι Σ Τ Ω Ν Κ Ι Τ Ρ Ω Ν

Τά κίτρα, ὅπως καί τά ἄλλα φυτικά προϊόντα, φέρουν κατά τήν ἐξωτερικήν ἐπιφάνειαν μικρόβια, ἤτοι εὐρώτας, ζύμας καί βακτηρίδια. Τά ἐν λόγῳ μικρόβια μεταφέρονται εἰς τήν ἄλμην καί, ὅταν εὐρεθοῦν ὑπό εὐνοϊκᾶς συνθήκας, ἀναπτύσσονται καί προκαλοῦν ὀξειδώσεις ἢ ζυμώσεις τῶν συστατικῶν τῆς ἄλμης. Ἡ ἄλμη τῶν κίτρων εἶναι πλουσία εἰς θρεπτικά συστατικά (βλ. κεφάλαιον πρῶτον) καί βασικῶς ὁ πολλαπλασιασμός καί ἡ δραστηριότης τῶν μικροβίων ἐπηρεάζεται ἀπό τό pH τῆς ἄλμης (μόνον ὀξεόφιλοι ὀργανισμοί εἶναι δυνατόν νά ἀναπτύσσωνται) καί τήν περιεκτικότητα αὐτῆς εἰς χλωριούχον νάτριον καί διοξειδίου τοῦ θείου.

Ἐκ τῆς ἀνασκοπήσεως τῆς βιβλιογραφίας προκύπτει, ὅτι ἡ ἀρχική συγκέντρωσις τοῦ ἁλατος εἰς τήν ἄλμην τῶν κίτρων κυμαίνεται ἀπό 3-4 ο/ο (θαλάσσιον ὕδωρ) μέχρις 28 ο/ο (περιοχή Κρήτης), ἐνῶ διοξειδίου τοῦ θείου ἄλλοτε προστίθεται καί ἄλλοτε ὄχι. Πάντως, εἶναι γνωστόν, ὅτι εἰς ἄλμην κίτρων περιέχουσαν χλωριούχον νάτριον μέχρι 10 ο/ο καί ὑπό εἰδικᾶς συνθήκας μέχρι 6 ἕως 8 ο/ο, θά πρέπει νά ἀναπτύσσωνται ἀνέτως αἱ ζύμαι καί τά ὀξεόφιλα βακτηρίδια. Τοῦτο ἄλλωστε διεπιστώθη καί εἰς τήν πράξιν, ὑπό τῶν Hollande καί Chadeaux, (1924), οἱ ὁποῖοι διεπίστωσαν ὅτι εἰς Bastia τῆς Κορσικῆς μία ἔντονος ζύμωσις ἐλάμβανε χώραν μετά παρέλευσιν 24 ἕως 48 ὡρῶν ἀπό τῆς ἐμβαπτίσεως τῶν ἡμισέων τῶν κίτρων ἐντός ἄλμης, ἡ ὁποία συνωδεύετο πάντοτε ἀπό ἔντονον ἔκλυσιν διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος. Ἐν τούτοις εἶναι πιθανόν μέρος τοῦ ἐκλυομένου διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος νά ὀφείλεται εἰς ἐνζυματικήν δραστηριότητα τῶν ἰστών τοῦ κίτρου μέχρις ὅτου νεκρωθοῦν τά κύτταρα αὐτῶν, δεδομένου ὅτι τό διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος ἐκλύεται εἰς τά βαρέλια τῶν κίτρων καί κατά τό πρῶτον 24ωρον, ὅταν ἡ ἄλμη εἶναι ἐξόχως πυκνή καί ὡς τοιαύτη προλαμβάνει τήν ἀνάπτυξιν μικροβίων μέ μεγάλην ζυμωτικήν ἰκανότητα.

Οἱ Hollande καί Chadeveau (1924), ἐμελέτησαν πρῶτοι τοὺς μικροοργανισμούς, οἱ ὁποῖοι διαδραματίζουν ἐνεργὸν ρόλον εἰς τὴν ζύμωσιν τῶν κίτρων ἐν Κορσικῇ καί ἀπεμόνωσαν ἓν εἶδος ζύμης, τὸ ὁποῖον ἐσχημάτιζε:

α) Στρογγυλάς ἀποικίας διαμέτρου 0,5-1 χιλιοστοῦ, χρώματος λευκοῦ, αἱ ὁποῖαι, ὅμως, ἀπέκτων μὲ τὴν πάροδον τοῦ χρόνου χροῖμα φαίδν.

β) Βλαστικά κύτταρα διαστάσεων (4-5)μΧ 3μ.

γ) Ὑμένιον ἐκ ψευδομυκηλιακῶν κυττάρων.

δ) Σπόρια 1-2 καί σπανίως 3, οὐδέποτε, ὅμως, 4 κατ' ἄσκόν.

Ἡ ἰδίᾳ ζύμη ἐζύμωνε τὴν γλυκόζην, τὴν φρουκτόζην, τὴν σακχαρόζην καί τὴν μαλτόζην, οὐχί, ὅμως, τὴν ἰνουλίνην, τὴν λακτόζην καί τὸν μαννίτην. Optimum θερμοκρασίας διὰ τὴν ἀνάπτυξιν αὐτῆς ἦτο ἐκείνη τῶν 20°C. Ἡ ἰδίᾳ ζύμη ἀπεδείχθη ἀνίκανος νὰ διασπᾷ τὴν κυτταρίνην, τὰς πρωτεΐνας καί τὰ ὀργανικά ὀξεῖα.

Παραλλήλως πρὸς τὸ ὡς ἄνω περιγραφέν εἶδος ζύμης, οἱ ἴδιοι ἀπεμόνωσαν ἓν βακτηρίδιον σχήματος μικροῦ ραβδίου καί πεπλατυσμένον, μὲ κύτταρα διαστάσεων (1,5-2)μ Χ 0,5 μ, μὴ κινούμενον, θετικόν κατὰ Gram, μὴ παθογόνον, μὴ πρωτεολυτικόν. Τὸ βακτηρίδιον τοῦτο ἀνεπτύσσετο ὑπὸ θερμοκρασίαν 18-37 °C καί διέσπα τὰ ἴδια σάκχαρα, τὰ ὁποῖα, καί ἡ ζύμη.

Οἱ ὡς ἄνω ἐρευνηταὶ διεπίστωσαν μίαν συνεγῆ αὐξησιν τῆς ὀγκομετρομένης ὀξύτητος τῆς ἄλμης, ἡ ὁποῖα ἔφθανε τὰ 1,41 γραμμάρια κατὰ λίτρον τὴν 15ην ἡμέραν καί τὰ 1,44 γραμμάρια κατὰ λίτρον τὴν 40ην ἡμέραν, ἐκπεφρασμένη εἰς ὀξικόν ὀξύ. Ἐπίσης, κατέληξαν εἰς τὸ συμπέρασμα, ὅτι ἐπρόκειτο περὶ νέων εἰδῶν μικροβίων, τὰ ὁποῖα ἦσαν ὑπεύθυνα διὰ τὴν ζύμωσιν τῶν κίτρων ἐν Κορσικῇ ὑπὸ συνθήκας τὰς ὁποίας περιέγραψαν, εἰς αὐτὰ δὲ τὰ μικρόβια ἔδωσαν τὰ ὀνόματα *Saccharomyces citri medicae* η. sp καί *Bacillus citri medicae* η. sp, ἀντιστοίχως.

Μὲ τὴν μικροβιολογίαν τῶν κίτρων ἠσχολήθη εἰς τὰς πειραματικὰς του ζυμώσεις ὁ McCulloch (1927), ὁ ὁποῖος διεπίστωσεν, ὅτι κατὰ τὴν ἐπεξεργασίαν τῶν κίτρων (ἐν -

τός άλλης περιεχούσης ολιγώτερον του 10 ο/ο χλωριούχον νάτριον), έλάμβανε χώραν έντονος ανάπτυξης ζυμών, αι ό - ποίαι έσχημάτιζον κατ'έπιφάνειαν ύμένιον, έθόλωνον τήν άλλην και προήγον τον σχηματισμόν μεγάλων ποσών διοξειδίου του άνθρακος, όταν ή θερμοκρασία ήτο εύνοϊκή.

Τέλος, οι Fellers και Smith (1936), κατά τήν ζύμω - σιν εις έργαστηριακήν κλίμακα κίτρων εκ Porto Rico, έπεβεβαίωσαν τά αποτελέσματα έρεύνης των Hollande και Chadefaux και κατέληξαν εις τό συμπέρασμα, ότι μία ζύ - μη και έν βακτηρίδιον, μέ τά ίδια φυσιολογικά και μορ - φολογικά χαρακτηριστικά των *Saccharomyces citri medicae* και *Bacillus citri medicae*, έζύμωσαν τά κίτρα και εις τήν ίδιικήν των περίπτωσιν.

Είς τήν χώραν μας, ή ζύμωσις των κίτρων δέν έτυχεν ειδικής μελέτης, εκ των όσων, όμως, ανεφέρθησαν εις τάς προηγουμένης σελίδας, σχετικώς πρός τον τρόπον τής έπε - ξεργασίας αυτών, τόσον εις τήν Κρήτην, όσον και εις τό Διακοπτό, πάντοτε δημιουργούνται δυσμενεϊς συνθήκαι, τό - σον διά τους γαλακτοβακίλλους (ηύξημένη συγκέντρωσις χλωριούχου νατρίου και διοξειδίου του θείου), όσον και διά τάς περισσοτέρας ζύμας.

Τά τής ανασκοπήσεως τής βιβλιογραφίας δεδομένα, συ - σχετιζόμενα και μέ τάς νεωτέρας εξέλιξεις εις τον το - μέα τής ζυμολογίας, είναι δυνατόν να μας οδηγήσουν εις τό συμπέρασμα, ότι υπό ώρισμένας συνθήκας (όταν ή περι - εκτικότης εις χλωριούχον νάτριον είναι χαμηλή και ή άλλ - μη είναι τελείως απηλλαγμένη διοξειδίου του θείου) εί - ναι δυνατόν να αναπτυχώσιν εις τήν άλλην ζύμαι εύγε - νεϊς (του γένους *Saccharomyces*) και όξειδωτικά, σχημα - τίζουσαι ύμένιον κατ'έπιφάνειαν. Επιπλέον είναι πιθα - νόν να αναπτυχούν και γαλακτοβάκιλλοι.

Είς τήν πρώτην περίπτωσιν θα πρέπει εις τήν άλλην των κίτρων να σχηματισθή οίνόπνευμα και εις τήν δευτέ - ραν, γαλακτικό όξύ. Έν τούτοις, τά βιβλιογραφικά δεδο - μένα θα πρέπει να θεωρηθούν ως ανεπαρκή, καθ'όσον δέν είναι δυνατόν, βάσει αυτών, να έξαχθή πέραν πάσης άμφι -

σβητήσεως τό συμπέρασμα, ὅτι τά κίτρα ὑφίστανται ζύμωσιν ἀλκοολικήν ἢ γαλακτικήν ἢ ἀμφοτέρας καί ὅτι ἡ μία ἢ καί αἱ δύο αὐταί ζυμώσεις εἶναι ἀπαραίτητοι καί οὐσώδεις διά τήν καλήν ἐπεξεργασίαν τῶν κίτρων. Εἶναι ἐνδεχόμενον αἱ ζυμώσεις αὗται - ὅταν λάβουν χώραν - νά εἶναι ἄνευ σημασίας καί αἱ μεταβολαί ἐπί τῶν ἰστών τῶν κίτρων νά εἶναι ἄσχετοι πρός τήν δράσιν τῶν μικροοργανισμῶν καί νά ἔχουν τήν ἀρχήν των εἰς τήν ἐπίδρασιν τῆς ἄλλης καί δὴ εἰς τήν ἐκγύλισιν καί τήν ἀπομάκρυνσιν τοῦ μεγαλύτερου μέρους τῶν ὑδατοδιαλυτῶν συστατικῶν ἐκ τῶν ἰστών τοῦ κίτρου. Κατ' αὐτόν τόν τρόπον δημιουργοῦνται χῶροι εἰς τό μεσοκάρπιον τῶν κίτρων, οἱ ὁποῖοι, κατά τήν διάρκειαν τῆς σακχαροκῆξεως, πληροῦνται διά σακχάρων (κυρίως γλυκόζης καί σακχαρόζης). Οὐδόλως, ὅμως, θά πρέπει νά ἀποκλεισθῇ καί ἡ περίπτωσις σχηματισμοῦ, κατά τήν διάρκειαν τῆς ζυμώσεως (ἀλκοολικῆς ἢ γαλακτικῆς), ἀρωματωδῶν οὐσιῶν διὰ τῶν ὁποίων βελτιοῦνται αἱ ὀργανοληπτικά ἰδιότητες τῶν τελικῶς παραλαμβανομένων σακχαροπήκτων.

Μέ βάσιν τά ἀνωτέρω, εἰς τό παρόν κεφάλαιον τῆς ἐ - ρεύνης ἐπρογραμματίσθη :

1) Ἡ ἀπομόνωσις καί μελέτη τῆς φυσικῆς μικροχλωρίδος τῶν κίτρων εἰς τά διάφορα στάδια ἐπεξεργασίας, τόσον ὑπό ἐργαστηριακῆς, ὅσον καί βιομηχανικῆς συνθήκας.

2) Ἡ μελέτη τῶν φυσιολογικῶν δραστηριοτήτων τῶν ὡς ἄνω μικροβίων, κυρίως εἰς ὅ, τι ἀφώρα εἰς τόν τρόπον διασπάσεως τῶν σακχάρων, προκειμένου νά δοθῇ μία ἀπάντησις εἰς τό ἐρώτημα κατά πόσον τά κίτρα ὑπόκεινται εἰς ἀλκοολικήν ἢ γαλακτικήν ἢ καί μικτήν ζύμωσιν, κατά τήν διάρκειαν τῆς ἐπεξεργασίας των. Ἡ ἀκολουθηθεῖσα μεθοδολογία καί τά εὑρεθέντα ἀποτελέσματα παρατίθενται εἰς τὰς ἐπομένους σελίδας.

A. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ

I. Π ρ ο έ λ ε υ σ ι ς τ ῶ ν κ α λ λ ι ε ρ γ ε ι ῶ ν

Ἡ μελέτη τῆς μικροχλωρίδος τῶν κίτρων ἐγένετο εἰς δύο φάσεις, εἰς τὴν πρώτην τῶν ὁποίων ἐδειγματίσθησαν κίτρα ἐκ τῶν κυριωτέρων κιτροπαραγωγικῶν περιφερειῶν τῆς χώρας, τὰ ὁποῖα ἐξυμώθησαν ὑπὸ ἐργαστηριακῆς συνθήκας. Αἱ ἀπομονωθεῖσαι, εἰς τὴν φάσιν ταύτην, καθαραὶ καλλιέργειαι, αἱ ὁποῖαι ἀνήκουν σχεδὸν κατ' ἀποκλειστικότητα εἰς τὰς ζύμας, ἐχαρακτηρίσθησαν μὲ πρῶτον συνθετικὸν τὸ κεφαλαῖον γράμμα Α. Ἀντιθέτως, εἰς τὴν δευτέραν φάσιν, ἐδειγματίσθη ἄλλη ἐκ βαρελίων τῆς Ἐνώσεως Κιτροπαραγωγῶν, τόσον εἰς τὴν περιοχὴν τοῦ Διακοπτοῦ, ὅσον καὶ τῶν Χανίων, αἱ δὲ ἀπομονωθεῖσαι εἰς τὴν περίπτωσιν ταύτην ζύμαι ἐχαρακτηρίσθησαν μὲ πρῶτον συνθετικὸν τὸ κεφαλαῖον γράμμα Β.

Ἡ δειγματοληψία τῶν κίτρων ἐγένετο τὸν Ἰανουάριον τοῦ 1967 εἰς τὰς περιοχὰς τῆς Κορινθίας, τῆς Μεσσηνίας καὶ τῆς Κρήτης, χρησιμοποιοθέντων, πρὸς τὸν σκοπὸν αὐτόν, ἀπεστερωμένων βάζων, τὰ ὁποῖα ἐστάλησαν εἰς τοὺς τόπους παραγωγῆς. Ἡ δειγματοληψία ἐγένετο ἀσηπτικῶς κατ' εὐθείαν ἐκ τοῦ δένδρου - τῇ βοήθειᾳ φαλλίδος ἀποστειρουμένης εἰς φλόγα, τὴν ὁποῖαν ἀνέδιδε τεμάχιον βαμβάκος διαποτισμένον μὲ οἰνόπνευμα, τὰ δὲ κίτρα κοπτόμενα ἔπιπτον κατ' εὐθείαν ἐντὸς ἀπεστερωμένων βάζων. Ἀκολούθως, ἐσκεπάζοντο καὶ ἀπεστέλλοντο εἰς τὸ Ἐργαστήριον διὰ νὰ τεμαχισθοῦν ὑπὸ συνθήκας ἀσηπτικῆς καὶ νὰ συσκευασθοῦν ἐντὸς ἀπεστερωμένης ἄλλης περιεκτικότητος 10 ο/ο εἰς γλωριούχον νάτριον. Τέλος, προστίθετο κατὰ ἐπιφάνειαν, εἰς ὅλας τὰς περιπτώσεις, στρώμα παραφινθαίου, πάχους 0,5-1,5 ἑκατοστῶν, προκειμένου, οὕτω, νὰ παρεμποδισθῇ ἡ ἀνάπτυξις τῶν ὀξειδωτικῶν ὀργανισμῶν. Ἐχρησιμοποιήθησαν εἰς τὴν περίπτωσιν αὐτὴν πέντε ἐν συνόλῳ ὑάλινα βάζα, ἕκαστον τῶν ὁποίων ἦτο χωρητικότητος πέντε χιλιογράμμων, τὰ ὁποῖα ἐχαρακτηρίσθησαν διὰ τῶν ἀριθμῶν 1, 2, 3, 4 καὶ 5. Ἐκ τούτων, τὸ ὑπ' ἀριθμὸν 1 περιεῖχε κίτρα Κορινθίας, τὰ ὑπ' ἀριθμὸν 2 καὶ 5, κίτρα Μεσσηνίας,

δειγματισθέντα εἰς δύο διαφορετικὰς χρονικὰς περιόδους, καὶ τὰ ὑπ' ἀριθμὸν 3 καὶ 4 περιείχον κίτρα ἐκ τῆς περιοχῆς τῶν Χανίων.

Αἱ ἀπομονώσεις μικροοργανισμῶν ἐγένοντο εἰς διάφορα διαστήματα ἀπὸ τῆς ἡμέρας τῆς συσκευασίας τῶν κίτρων, βάσει τεχνικῶν, αἱ ὁποῖαι περιγράφονται εἰς τὰς ἐπομένους σελίδας. Γενικῶς, θὰ πρέπει νὰ λεχθῆ, ὅτι σχεδὸν κατ' ἀποκλειστικότητα ἀπεμονώθησαν ζῦμαι καὶ μόνον εἰς μίαν περίπτωση (δείγματα κίτρων Κρήτης), περιωρισμένος ἀριθμὸς βακτηριδίων.

Αἱ ἀπομονωθεῖσαι, εἰς τὴν φάσιν αὐτὴν, καθαραὶ καὶ λιέργειαι ἐχαρακτηρίσθησαν μὲ διακριτικὸν συντεθὲν κατὰ σειράν ἐπὶ τὸ κεφαλαῖον γράμμα Α (ζύμωσις ὑπὸ ἐργαστηριακὰς συνθήκας), τὸν ἀριθμὸν τοῦ ὑαλίνου βάζου καὶ ἓν μικρὸν γράμμα τοῦ ἀλφαβήτου, ἀρχῆς γενομένης πάντοτε ἐκ τοῦ (α). Οὕτως, αἱ καλλιέργειαι Α-1γ καὶ Α-1δ ἦσαν ἀπομονώσεις διαφορετικαὶ ἀπὸ ἄλλην τοῦ ὑπ' ἀριθμὸν 1 βάζου κίτρων.

Εἰς τὴν δευτέραν φάσιν μελέτης τῆς ζυμοχλωρίδος τῶν κίτρων, ὡς ὑλικὸν ἐκκινήσεως (starting material) ἐχρησιμοποιήθη ἄλλη κίτρων, ἐπεξεργασθέντων εἰς βαρέλια κατὰ τὴν βιομηχανικὴν μέθοδον εἰς τὸ ἐργοστάσιον Κιτροπαραγωγῶν τοῦ Διακοπτοῦ. Ἡ δειγματοληψία ἐγένετο τὸν Ἰανουάριον τοῦ 1970 δι' ἐπιτοπίου μεταβάσεώς μας εἰς τὴν περιοχὴν τοῦ Διακοπτοῦ καὶ παραλαβῆς ἄλλης ἐντὸς ἀπεστερωμένων βάζων κατ' εὐθειᾶν ἐκ τῶν βαρελίων, τῆ βοήθεια ἀπεστερωμένων σιφωνίων. Ἐπειδὴ ἡ συλλογὴ τῶν κίτρων γίνεται σταδιακῶς καθ' ὅλην τὴν περίοδον ἀπὸ τοῦ Αὐγούστου μέχρι τοῦ Φεβρουαρίου-Μαρτίου, ἐδειγματίσθη ἄλλη διαφόρων κατηγοριῶν, ὡς κάτωθι:

1) Ἄλλη 10 ἡμερῶν, ἥτοι θαλάσσιον ὕδωρ ἐμπλουτισμένον μὲ διοξειδίου τοῦ θείου, ἐντὸς τοῦ ὁποῦ παραμένειν ἔμβαπτισμένα ὀλόκληρα τὰ κίτρα ἐπὶ 10 ἡμέρας.

2) Ἄλλη ἀρχικοῦ Βε 16 ἐντὸς τῆς ὁποίας εἶχον παραμείνει ἔμβαπτισμένα τὰ ἡμίση τῶν κίτρων ἐπὶ 20, 30, 60 καὶ 90 ἡμέρας ἀντιστοίχως.

Αί απομονωθείσαι καλλιέργειαι μικροβίων, εις τήν φάσιν αὐτήν, ἀνῆκον κατ' ἀποκλειστικότητα εἰς τάς ζύμας καί ἐχαρακτηρίσθησαν μέ διακριτικόν συντεθέν κατά σειράν ἀπό τό κεφαλαῖον γράμμα Β (ζύμωσις τῶν κίτρων ὑπό βιομηχανιάς συνθήκας), ἕνα ἐκ τῶν πέντε ἀριθμῶν (1, 2, 3, 4 καί 5) χαρακτηρίζοντα, ἀντιστοίχως, τήν ἄλμην τῶν 10, 20, 30, 60 καί 90 ἡμερῶν καί, τέλος, ἕν μικρόν γράμμα τοῦ ἀλφαβήτου, ἀρχῆς γενομένης πάντοτε ἐκ τοῦ (α). Τά μικρά γράμματα ἐχρησιμοποιήθησαν διά νά διαστέλλουν τάς διαφορετικάς ἀπομονώσεις ἐκ τῆς ἰδίας ἄλμης (B-1α καί B-1β ἐπί παραδείγματι).

Εἰς ὅλας τάς ἀπομονώσεις ἐχρησιμοποιήθησαν δεῖκται εἰς τά μικρά γράμματα πολύ σπανίως, καί μόνον ὅταν ἐπρόκειτο νά διασταλοῦν παραλλαγαί τῆς ἰδίας ἀπομόνωσεως (A-5α₁ καί A-5α₂) ἦσαν παραλλαγαί τῆς ζύμης A-5α, ἡ ὁποία εἶχεν ἀπομονωθῆ ἀπό τό ὑπ' ἀριθμόν πέντε ὑάλινον βάζον μετὰ κίτρων ἐκ Μεσσηνίας).

Τέλος, εἰς τήν φάσιν αὐτήν, συμπεριελήφθησαν καί δείγματα ἄλμης, τά ὁποῖα μάς ἀπεστάλησαν ὑπό τοῦ Δενδροκομικοῦ Σταθμοῦ Ἐρεῦνης Χανίων τόν Ἰανουάριον τοῦ 1969 καί τά ὁποῖα συνεκεντρώθησαν, ἀσηπτικῶς, εἰς τήν περιοχὴν Χανίων. Αἱ ἀπομονώσεις τῆς κατηγορίας αὐτῆς ἔχουν, ὁμοίως, ὡς πρῶτον διακριτικόν τό κεφαλαῖον γράμμα Β (ζύμωσις ὑπό βιομηχανιάς συνθήκας), τό ὁποῖον ἀκολουθεῖται ἀπό τόν ἀριθμόν 6 (καί διά τά τέσσαρα δείγματα ἄλμης τῆς περιοχῆς Χανίων) καί ἀπό ἕνα μικρόν γράμμα τοῦ ἀλφαβήτου, προκειμένου νά διακριθῶσιν μεταξύ των αἱ ἀπομονωθείσαι εἰς τήν περίπτωσιν αὐτήν καθαράι καλλιέργειαι. Ἡ ἄλμη κατά τήν ὥραν τῆς εἰσαγωγῆς ἐντός τῶν βαρελίων ἦτο 20 Be καί κατά τήν ὥραν τῆς δειγματοληψίας 12-13 Be, λόγῳ ἀποκαταστάσεως ἰσοζυγίου.

II. Χ ρ η σ ι μ ο π ο ι η θ ἔ ν τ α θ ρ ε π τ ι κ ἄ ὑ λ ι κ ἄ

Τά θρεπτικά ὑλικά, τά ὁποῖα ἐχρησιμοποιήθησαν κατά τάς ἀπομονώσεις καθαρῶν καλλιεργειῶν, ἦσαν τά ἀ-

κόλουθα:

- 1) Θρεπτικόν ύλικόν περιέχον άγαρ-ζυμόν γεωμήλων καί γλυ-
κόζην, γνωστόν ώς PDA.
- 2) Θρεπτικόν ύλικόν περιέχον έκχύλισμα βύνης καί άγαρ.
- 3) Θρεπτικόν άγαρ (Difco nutrient agar).
- 4) Θρεπτικόν ύλικόν μέ βάσιν τόν χυμόν τομάτας.
- 5) Θρεπτικόν ύλικόν μέ βάσιν τόν χυμόν πορτοκαλίων.

Τά ώς άνω θρεπτικά ύλικά παρεσκευάσθησαν βάσει τών οδηγίων τής βιβλιογραφίας (Difco Manual, 1953) καί έχρη-
σιμοποιήθησαν, τά μέν τρία πρώτα διά τήν άπομόνωσιν καθα-
ρών καλλιεργειών ζυμών καί εύρώτων, τά δέ δύο τελευταία
διά τήν άπομόνωσιν γαλακτοβακίλλων. Ο χυμός τομάτας ή πορ-
τοκαλίου παρελαμβάνετο έπειτα έπό είκοσιτετράωρον δράσιν
πηκτολυτικών ένζύμων εις άντίστοιχον χυμόν καί διήθησιν
μέσω ήθμοϋ έκ γής διατόμων ή selite.

III. Τ ε χ ν ι κ ή τ ή ς ά π ο μ ο ν ώ σ ε ω ς τ ω ν μ ι κ ρ ο β ί ω ν

Η άπομόνωσις τών καθαρών καλλιεργειών ζυμών έγένετο
διά τής μεθόδου τής έξαπλώσεως, ήτοι διά παραλαβής έκά -
στοτε μιας σταγόνας άλμης, άσηπτικώς, διά κρίκου καί έξα -
πλώσεως έφ' όλης τής έπιφανείας του στερεοποιημένου έκ
των προτέρων έντός τρυβλίων petri θρεπτικού ύλικού. Η έξ-
άπλωσις έγένετο δι' έλεπαλλήλων διαβάσεων του κρίκου από
τής μιας κατευθύνσεως πρός τήν άλλην κατά τήν έννοιαν τής
έφαπτομένης. Είς τήν περίπτωσιν άπομονώσεως βακτηριδίων
έπί στερεοποιημένου θρεπτικού άγαρ ήκολουθεϊτο ή ίδια δια-
δικασία μέ μόνην τήν διαφοράν, ότι ή σταγών έξηπλουτο διά
διαβάσεων του κρίκου επί του τρίτου τής έπιφανείας του
θρεπτικού ύλικού. Μετά ταϋτα, ό κρίκος άπεστειρουτο διά πυ-
ρακτώσεως, τό τρυβλίον έστρέφετο κατά 90° καί ή έξάπλωσις
συνεχίζετο διά διαβάσεων καθέτων πρός τάς άρχικάς, αί ό -
ποίαι μόλις έξφθανον τό άρχικώς έμβολιασθέν τρίτον τής έπι-
φανείας του θρεπτικού ύλικού. Διά τής ώς άνω τεχνικής
παρεσύροντο υπό του κρίκου, όσον τό δυνατόν όλιγώτερα βα-
κτηρίδια, πρός έξάπλωσιν επί του δευτέρου τρίτου τής έπι-
φανείας του θρεπτικού ύλικού. Τέλος, εις τό τελευταίον στά-

διον ὁ κρίκος ἀπεστεριούτο ἐκ νέου διὰ πυρακτώσεως καὶ ἡ ἐξάπλωσις συνεχίζετο ἐπὶ τοῦ τελευταίου τρίτου τῆς ἐπιφανείας κατὰ κατεύθυνσιν κάθετον τῆς προηγουμένης καί, ἐπομένως, παράλληλον τῆς ἀρχικῆς. Κατὰ μῆκος τῶν τελευταίων τούτων διαδρομῶν τοῦ κρίκου ἐνεφανίζοντο μεμονωμένα ἀποικία βακτηριδίων.

Κατὰ τὴν ἀπομόνωσιν τῶν γαλακτοβακίλλων ἠκολουθήθη ἰδίᾳ τεχνικῇ, ἡ ὁποία συνίστατο εἰς τὴν ἀσηπτικὴν μεταφορὰν 2-3 σταγόνων ἄλμης τῶν κίτρων ἐπὶ στερεοποιημένου θρεπτικοῦ ὑλικοῦ καὶ τὴν ἐν συνεχείᾳ ἐξάπλωσιν ἐφ' ὅλης τῆς ἐπιφανείας, τῇ βοθηθείᾳ ὑαλίνου ραβδίου, κεκαμμένου κατὰ τὸ ἄκρον ὑπὸ μορφὴν τριγώνου. Τὸ τελευταῖον ἀπεστεριούτο δι' ἐμβαπτίσεως ἐντός ἀπολύτου οἴνοπνεύματος καὶ ἐν συνεχείᾳ ἀναφλέξεως εἰς φλόγα φωταερίου. Ἡ διαδικασία ἀπομονώσεως συνεπληροῦτο δι' ἐνσταλάξεως 2-3 σταγόνων ἀνηθόλης ἐντός τοῦ καλύμματος τοῦ ἀεστραμμένου τρυβλίου, οἱ ἀτμοὶ τῆς ὁποίας προελάμβανον τὴν συνανάπτυξιν ζυμῶν, εὐρώτων καὶ τῶν θετικῶν εἰς καταλάσσην βακτηριδίων (Pederson, 1950 ; Gonzalez-Cancho, 1956).

Αἱ μεμονωμένα ἀποικία ἐνεφανίζοντο κατὰ μῆκος τῶν τελευταίων διαδρομῶν τοῦ κρίκου ἐπὶ τῆς ἐπιφανείας τοῦ στερεοποιημένου θρεπτικοῦ ὑλικοῦ τῶν τρυβλίων, ὁμοίαι ἢ διαφέρουσαι μεταξὺ των μακροσκοπικῶς. Ἐκ τῶν τελευταίων διεσπείροντο κύτταρα, τῇ βοθηθείᾳ μικροβιολογικοῦ κρίκου ἐντός ἀπεστερωμένου ὕδατος, ἐκ δὲ τοῦ ἐναιωρήματος ἐλαμβάνετο ἐνοφθάλμισμα δι' ἐπανάληψιν τῆς ὡς ἄνω διαδικασίας ἀπομονώσεως. Αἱ ἐπάλληλοι μετασποραὶ συνεχίζοντο, μέχρις ὅτου αἱ ἀποικία τοῦ τρυβλίου ἦσαν καθ' ὅλα ὁμοίαι μεταξὺ των καί, θεωρητικῶς τούλάχιστον, προήρχοντο ἐκ τοῦ ἰδίου μητρικοῦ κυττάρου. Ὡς κριτήριον καθαρότητος τῶν ἀπομονωθεισῶν εἰς ὅλας τὰς περιπτώσεις ἀποικιῶν ἐχρησιμοποιήθη ἡ μακροσκοπικὴ ὁμοιότης ἀπασῶν τῶν ἀποικιῶν τοῦ τρυβλίου, ὡς πρὸς τὸ σχῆμα, τὸ χρῶμα, τὴν ὑφήν, τὸ εἶδος τῆς διατομῆς καὶ τῆς περιφερείας. Συνήθως 2-3 μετασποραὶ (διαβάσεις) ἐπὶ στερεοποιημένου θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἐντός τρυβλίων ἦσαν ἀρκεταὶ διὰ τὴν κάθαρσιν τῶν καλλιεργειῶν. Αἱ ἀπομονώσεις εἰ τοῦ

ιδίου δείγματος άλλης επανελήφθησαν ανά ώρισμένα χρο-
νικά διαστήματα και διεκόπησαν μόνον όταν δέν ήτο δυ-
νατή περαιτέρω απομόνωση νέων καθαρών καλλιεργείων.

IV. Έπώασεις τών τρυβλίων τών
πρός απομόνωσιν καλλιεργεί-
ων

Τά τρυβλία κατά τήν διάρκειαν τής απομονώσεως, έτο-
ποθετοῦντο εἰς έπωαστήριον θερμοκρασίας 25-28°C ή εἰς
τόν ανοικτόν χώρον του Έργαστηρίου, δόσκις ή θερμοκρα-
σία του περιβάλλοντος ήτο άνωτέρα των 22 °C.

V. Διατήρησις τών καθαρών καλ-
λιεργείων

Αἱ καθαρά καλλιέργεια τών ζυμών μετεφέροντο επί
τής κεκλιμένης έπιφανείας θρεπτικοῦ υλικου PDA, στερεο-
ποιημένου έν τών προτέρων έντός δοκιμαστικῶν σωλήνων.
Εἰς τήν περίπτωσιν τών βακτηριδίων, άντί του PDA έχρησι-
μοποιήθη θρεπτικόν άγαρ. Η μετασπορά και εἰς τάς δύο
περιπτώσεις έγένετο υπό μορφήν χαραγής, ήμολούθει δέ έ-
πώασεις επί τριήμερον προς πλήρη ανάπτυξιν τής καλλιερ-
γείας και, τελικώς, τοποθέτησις εἰς ψυγειον θερμοκρασίας
2-4°C. Η άνανέωσις τών καλλιεργείων έγένετο ανά τρίμη-
νον διά τάς ζύμας και εἰς μικρότερα διαστήματα διά τά
βακτηρίδια. Υπό τάς ώς άνω συνθήκας αἱ απομονώσεις τών
ζυμών διετηρήθησαν καλώς καθ' όλην τήν περίοδον τής έ-
ρεύνης μας, λόγω ύψηλης τιμής του pH του ύποστρώματος.
Έξαίρεσιν άπετέλεσαν ώρισμέναί έν τούτων κυρίως λε-
μονοειδεῖς- αἱ όποῖαι άπωλέσθησαν διαρκούσης τής δια-
δικασίας τής κατατάξεως και του προσδιορισμου μέχρι του
είδους.

VI. Προσδιορισμός και κατάταξις
τών καθαρών καλλιεργείων ζυ-
μών

Ο χαρακτηρισμός και ό καθορισμός τής ταυτότητος των
απομονωθείσων καλλιεργείων ζυμών έβασίσθη επί τής παλαι-

ως κλειδός ταξινομήσεως τῶν ζυμῶν Lodder καί Kreger Van Rij (1952). Συμπληρωματικῶς, καί μόνον εἰς τήν περίπτωσιν τοῦ γένους *Hansenula*, ἐχρησιμοποιήθη καί ἡ μονογραφία ἐπί τῆς ταξινομήσεως τοῦ γένους τούτου τοῦ Wickerham (1951).

Ἡ μεταγενέστερον κυκλοφορήσασα κλεις ταξινομήσεως τῶν ζυμῶν (Lodder, 1970) ἐχρησιμοποιήθη ἐπιβοηθητικῶς καί μόνον εἰς ἄς περιπτώσεις ἢ παλαιά κλεις ταξινομήσεως ἀπεδεικνύετο ἐλλιπής, διὰ τήν ὀριστικὴν κατάταξιν ὠρισμένων καθαρῶν καλλιεργείων.

Γενικῶς, οἱ χαρακτήρες ἐπί τῶν ὁποίων ἐβασίσθη ὁ προσδιορισμός καί ἡ κατάταξις μέχρι τοῦ γένους καί εἴδους ἦσαν μορφολογικοί, βοτανικοί καί βιοχημικοί. Ἡ μελέτη τούτων ἐγένετο κατὰ τό περιγραφόμενον εἰς τήν ἐλληνικὴν (Λεγάκις, 1961 ; Μπαλατσούρας, 1966) καί ξένην βιβλιογραφίαν πρότυπον (Lodder καί Kreger Van Rij, 1952; Lodder, 1970 ; Society of American Bacteriologists, 1957)

1) Μελέτη μορφολογικῶν χαρακτηριστῶν

Ἐκ τῶν μορφολογικῶν χαρακτηριστῶν ἐμελετήθησαν: α) τό σχῆμα καί τό μέγεθος τῶν κυττάρων ἐκάστης καλλιέργειας, β) ὁ δακτύλιος καί ἡ μεμβράνη, τήν ὁποίαν ἐκάστη καθαρὰ καλλιέργεια ἐσχημάτιζε ἐπί ὑγροῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ, γ) οἱ μακροσκοπικοί χαρακτήρες τῶν ἀποικιῶν ἐπί στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ, καί δ) οἱ μακροσκοπικοί χαρακτήρες τῶν μετασπορῶν, ὑπό μορφῆν χαραγῆς, ἐπί κεκλιμένης ἐπιφανείας στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ.

Διὰ τήν μελέτην τοῦ σχήματος καί τήν μέτρησιν τῶν διαστάσεων τῶν κυττάρων μετεφέροντο ἐξ ἐκάστης ἀπομύσεως κύτταρα εἰς ἐκχύλισμα βύνης 15 ο/ο, τά ὁποῖα ἀφέντο πρός πολλαπλασιασμόν καί ἀνάπτυξιν, ἐπί τριήμερον, εἰς ἐπαστήριον θερμοκρασίας 25°C. Αἱ μετρήσεις ἐγένοντο μέ καταδυτικόν φακόν (μεγέθυνσις 10 X 105 = 1050) καί μικροκλίμακα εἰς τόν προσοφθάλμιον. Ἐκχύλισμα βύνης περιέχον ἐν διασπορᾷ τά κύτταρα ζύμης μετεφέρετο ἐπί ἀντικειμενοφόρου πλακῶς καί ἐκαλύπτετο διὰ καλυπτρίδος

είς τήν ἄνω ἐπιφάνειαν τῆς ὁποίας ἐτοποθετεῖτο στύγων κεδρελαίου διά τήν ἐμβάπτισιν τοῦ καταδυτικοῦ φακοῦ. Τυπικόν, δι' ἐκάστην μελετηθεῖσιν ζύμην, σχῆμα ἐθεωρήθη ἐκεῖνο τοῦ μεγαλύτερου ἀριθμοῦ κυττάρων, τά ὁποῖα ἐνεφανίζοντο τούλάχιστον εἰς πέντε ὀπτικά πεδία.

Κατά σειράν ὁ δακτύλιος καί ἡ μεμβράνη ἐμελετήθη - θησαν, ὁμοίως, εἰς ὑγρόν θρεπτικόν ὑλικόν ἐκχυλίσματος βύνης περιεκτικότητος 15 ο/ο, αἱ δέ παρατηρήσεις ἐγένοντο μετὰ τρεῖς, ἐπτά, δεκαπέντε καί τριάκοντα ἡμέρας ἀπό τοῦ ἐμβολιασμοῦ. Τέλος, οἱ μακροσκοπικοί χαρακτήρες τῶν ἀποικιῶν καί τῆς μετασπορας ὑπό μορφήν χαραγῆς, ἐμελετήθησαν ἐπί στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ, περιέχοντος 5 ο/ο ἐκχύλισμα βύνης.

2) Μελέτη βοτανικῶν χαρακτήρων

Ἐκ τῶν βοτανικῶν χαρακτήρων ἐμελετήθησαν ἡ σποριογονία καί ἡ ἰκανότης σχηματισμοῦ ψευδομυκηλίου. Ἡ σποριογονία ἐμελετήθη εἰς τά πρῶτα στάδια τῆς ἀπομονώσεως τῶν καθαρῶν καλλιεργείων ἐπί τῶν συνήθων, ἀλλά καί εἰδικῶν διά σποριογονίαν θρεπτικῶν ὑλικῶν καί, ἀργότερον, διά μεταφορᾶς κυττάρων ἐπί σφηνοειδῶν καρῶτων καί γεωμήλων, τά ὁποῖα ἀπεστεيروῦντο προηγουμένως εἰς θαν 121 °C, τοποθετούμενα ἐντός δοκιμαστικῶν σωλήνων περιεχόντων καί 2-3 κυβικά ἑκατοστά ὕδατος. Ἐπίσης ἡ μελέτη τοῦ ψευδομυκηλίου ἐγένετο κατά τήν γνωστήν ἐκ τῆς βιβλιογραφίας μέθοδον (Wickerham, 1951), ἥτοι διά τῆς χρησιμοποίησεως τριγωνικῶς κεκαμμένης ὑαλίνης ράβδου, ἐπί τῆς ὁποίας ἐστηρίζοντο δύο ἀντικειμενοφόροι πλάκες, κατά τρυβλίον. Αἱ τελευταῖαι, ὁμοῦ μετὰ τοῦ τριγωνικοῦ στηρίγματός των, ἀπεστεيروῦντο εἰς ξηρόν κλίβανον ἐπί τετράωρον εἰς τήν θερμοκρασίαν τῶν 180°C καί μετὰ ταῦτα ἐπί τῆς ἐπιφανείας αὐτῶν ἤπλοῦτο λεπτόν στρώμα ρευστοποιημένου θρεπτικοῦ ὑλικοῦ PDA, τό ὁποῖον ἐστερεοποιεῖτο ὑπό μορφήν λεπτοῦ στρώματος. Ἐπ' αὐτοῦ μετεφέροντο διά βακτηριδιολογικῆς βελόνης κύτταρα ἐξ ἀποικιῶν τῆς ὑπό μελέτην ζύμης ὑπό μορφήν συνεχοῦς γραμμῆς, χαρασσομένης εἰς τό μέσον περίκου τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ καί

κατά διεύθυνσιν παράλληλον πρὸς τὴν μεγάλην πλευρὰν τῆς ἀντικειμενοφόρου. Εἰς τὸ μέσον τῆς χαραγῆς ἐτοποθετεῖτο καὶ ἀπεστειωμένη καλυπτρίς, προκειμένου νὰ δημιουργηθῶσιν εἰς τὴν περιοχὴν αὐτὴν ἡμιαναερόβιοι συνθήκαι. Τὰ τρυβλία, μετὰ προσθήκην ἐντὸς τούτων δύο ἕως τριῶν κυβικῶν ἑκατοστῶν ἀπεστειωμένου ὕδατος, ἐτοποθετοῦντο ἐντὸς τοῦ ἐπώαστηρίου ἐπὶ 7-10 ἡμέρας.

Παρατηρήσεις διὰ σχηματισμὸν ψευδομυκηλίου ἐγένοντο μετὰ φακοῦ, μεσαίας καὶ μικρᾶς μεγεθύνσεως, εἰς τὸ γυμνὸν τμῆμα τῆς χαραγῆς καὶ μετὰ καταδυτικοῦ, εἰς τὸ κεκαλυμμένον διὰ καλυπτρίδος ἐπὶ τῆς ὁποίας ἐτοποθετεῖτο καὶ σταγὼν κεδρελαίου. Διὰ τοῦ καταδυτικοῦ φακοῦ παρατηροῦντο λεπτομέρειαι τῆς δομῆς τοῦ ψευδομυκηλίου, ὡς καὶ σπόρια, τὰ ὁποῖα ὄρισμένα ἐκ τῶν σποριογόνων ζυμῶν ἐσχημάτιζον ὑπὸ τὴν καλυπτρίδα. Ἡ ἱκανότης σχηματισμοῦ ψευδομυκηλίου εἶναι χαρακτήρ μεγάλης σημασίας εἰς τὴν ταξινομῆσιν καὶ τὸν καθορισμὸν τῆς ταυτότητος τῶν ζυμῶν.

3) Μελέτη βιοχημικῶν χαρακτήρων

Ἐκ τοῦ συνόλου τῶν βιοχημικῶν χαρακτήρων ἐμελετήθησαν:

- α) Ἡ ζυμωτικὴ ἱκανότης δι' ὄρισμένα σάκχαρα
 - β) Ἡ ἀφομοιωτικὴ ἱκανότης δι' ὄρισμένας πηγὰς ἀνθρακος
 - γ) Ἡ ἀφομοιωτικὴ ἱκανότης διὰ τὰ νιτρικὰ ἄλατα, ὡς μόνον πηγὴν ἀζώτου
 - δ) Ἡ ἱκανότης αὐξήσεως ἀπουσία βιταμινῶν καὶ
 - ε) Ἡ ἱκανότης διασπάσεως τῆς ἀρβουτίνης
- α) Ζύμωση τῶν σακχάρων

Ἐχρησιμοποιήθη ὡς βᾶσις τὸ προϊόν αὐτολύσεως κυττάρων ζύμης ἀρτοποιίας (*Saccharomyces cerevisiae*), τὸ ὁποῖον παρεσκευάζετο διὰ διασπορᾶς πεπιεσμένης ζύμης εἰς ἀπεσταγμένον ὕδωρ ὑπὸ ἀναλογία 1:1. Τὸ παραλαμβανόμενον γαλάκτωμα ἐτοποθετεῖτο εἰς τὸ ἐπώαστήριον, ἐπὶ τριήμερον, εἰς θερμοκρασίαν 55°C μετὰ προσθήκην, κατ' ἐπιφάνειαν, ἐνὸς στρώματος τολουόλης πρὸς πρόληψιν πάσης μολύνσεως. Διαρκούσης τῆς ἐπώασεως ἐγένοντο δύο ἢ τρεῖς

ἀναταράξεις τοῦ γαλακτώματος πρὸς ἐναιώρησιν τῶν κυττάρων, τὰ ὁποῖα καθίζανον πρὸς τὸν πυθμένα. Μετὰ τὴν πάροδον τοῦ τριημέρου τὸ γαλάκτωμα ἐζέετο ἐπὶ τρία λεπτά καὶ ἀφίετο ἐν ἡρεμίᾳ μέχρι τῆς ἐπομένης ἡμέρας, ὅποτε αἱ κυτταρικαὶ μεμβράναι τῶν αὐτολυθέντων κυττάρων καθίζανον πρὸς τὸν πυθμένα. Εἰς τὴν τελευταίαν περίπτωσιν, διηθεῖτο ἡ ἐπιπολάζουσα φάσις μέσω ἡθμοῦ ἐκ γῆς διατόμων ὑπὸ κενόν καὶ τὸ διήθημα ἦτο προϊόν αὐτολύσεως πλήρους δυνάμεως. Τοῦτο ἡραιούτο εἰς ἀναλογία 1:9 δι' ἀπεσταγμένου ὕδατος καὶ ἀπετέλει τὸ βασικὸν ὕλικόν ἐντὸς τοῦ ὁποίου διελύοντο τὰ ὑπὸ δοκιμὴν σάκχαρα εἰς ποσοστὸν 2 ο/ο, ἐξαιρέσει τῆς ραφινόζης, ἡ ὁποία διελύετο εἰς ποσοστὸν 4 ο/ο.

Τὸ προϊόν αὐτολύσεως κυττάρων ζύμης, πλήρους δυνάμεως ἢ ἡραιωμένον, περιεῖχεν ἅπαντα τὰ ἀναγκαζοῦντα διὰ τὴν ἀνάπτυξιν τῶν ζυμῶν συστατικά, ἐξαιρέσει τῶν σακχάρων. Τρεαλόζη, ἡ ὁποία τυχόν ἅπαντ' εἰς τὰ κύτταρα τοῦ σακχαρομύκητος τοῦ ἐλλειφοειδοῦς, διεσπᾶτο κατὰ τὴν αὐτόλυσιν καὶ δέν μετεφέρετο εἰς τὴν ὑγράν φάσιν εἰς ποσότητα δυνάμενας νὰ ὑποστηρίξουν ζύμωσιν. Ἐν τούτοις, πρὸς μεγαλυτέραν ἀσφάλειαν, ἐγένετο ἔλεγχος παρουσίας τρεαλόζης δι' ἐμβολιασμοῦ προϊόντος αὐτολύσεως μετὰ κυττάρων τοῦ εἴδους *Candida tropicalis*.

Τὰ ζυμώσιμα σάκχαρα (σάκχαρα ἐν διαλύσει ἐντὸς προϊόντος αὐτολύσεως ζύμης) διενέμοντο εἰς δοκιμαστικούς σωλήνας, ἐντὸς τῶν ὁποίων εἶχον ἐκ τῶν προτέρων ἀναστραφῆ κώδωνες συλλογῆς διοξειδίου τοῦ ἄνθρακος (*Durham vials*) καὶ ἀπεστεירוῦντο ἐπὶ 15 λεπτά εἰς θερμοκρασίαν 121 °C. Οἱ δισακχαρίται ἀπεστεירוῦντο, μέσω βακτηριδιοστατικοῦ φίλτρου, ὑπόμορφην πυκνοῦ διαλύματος καὶ προσετίθεντο εἰς ἀπεστερωμένον προϊόν αὐτολύσεως τῶν ζυμῶν, ὑπὸ ἀναλογία 1:9 κυβικὰ ἐκατοστά (διὰ νὰ ἀποκλεισθῇ ἡ περίπτωσις ὑδρολύσεως κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς ἀποστερώσεως). Ἐδοκιμάσθησαν τὰ σάκχαρα: γλυκόζη, σακχαρόζη, γαλακτόζη, λακτόζη, μαλτόζη καὶ ραφινόζη διὰ ἐμβολιασμοῦ μετὰ ἀκμαίων κυττάρων τῶν καθ' ἕκαστα καθαρῶν καλλιεργειῶν καὶ παρατηρήσεως καθημερινῆς ἐπὶ χρονικὸν διάστημα ἐνός μηνός. Ἡ ζύμωσις ἐχαρακτηρίζετο θετικὴ εἰς ἣν περίπτωσιν συνελέγετο ἐντὸς τοῦ ἀνεστραμμένου κώδωνος διοξειδίου τοῦ ἄνθρακος.

Είδικῶς, εἰς τὴν περίπτωσιν τῆς ραφινόζης οἱ θετικοὶ σωλῆνες, μετὰ πάροδον μηνός ἀπὸ τοῦ ἐμβολιασμοῦ, ἀπεστεירוῦντο διὰ δευτέραν φοράν πρὸς ἀδρανοποίησιν τῶν κυττάρων τῆς μελετωμένης ζύμης καὶ ἐνεβολιάζοντο ἐκ νέου διὰ κυττάρων τοῦ εἴδους *Saccharomyces carlsbergensis* θετικοῦ εἰς τὴν ζύμωσιν τῆς μελιβιόζης. Ἐπανάληψις τῆς ζυμώσεως καὶ ἐκ νέου σχηματισμός διοξειδίου τοῦ ἀνθρακός ἐσήμαινεν, ὅτι ἡ ἀρχικὴ ζύμη εἶχε ζυμώσει τὸν πρῶτον δακτύλιον τοῦ μορλιού (φρουκτόζη) καὶ εἰς τὴν ἀντίθετον περίπτωσιν, ὀλόκληρον τὸ μόριον τῆς ραφινόζης (3/3), ὁπότε ἡ ὑπὸ μελέτην ζύμη διέθετεν ἐν τῷ κυττάρῳ τῆς τὸ ἐνζυμον μελιβιάση.

β) Ἀ φ ο μ ο ι ω σ ι ς π η γ ῶ ν ἄ ν θ ρ α κ ο ς

Ἡ ἀφομοιωτικὴ ἰκανότης τῶν ἀπομονωθειῶν καθαρῶν καλλιιεργειῶν ζύμης διὰ τὰ πέντε σάκχαρα, ἴτοι τὴν γλυκόζην, τὴν μαλτόζην, τὴν σακχαρόζην, τὴν γαλακτόζην καὶ τὴν λακτόζην, ἐμελετήθη εἰς στερεόν θρεπτικόν ὑλικόν, τὸ ὁποῖον περιείχε, κατὰ λίτρον, 6,7 γραμμάρια βάσεως ἀζώτου διὰ ζύμας (*yeast carbon base*) καὶ 20 γραμμάρια ἄγαρ. Τὸ ἄγαρ, πρὸ τῆς χρησιμοποίησεώς του, διεσπείρετο ἐντός ἀπεσταγμένου ὕδατος ὑπὸ ἀναλογίαν 40 γραμμαρίων κατὰ λίτρον, ἐρευστοποιεῖτο διὰ βρασμοῦ καὶ ἐχύνετο ἐντός ἀβαθοῦς χύτρας. Μετὰ τὴν στερεοποίησιν ἐκόπτετο εἰς κύβους ἀκμῆς 3 ἑκατοστῶν περίπου καὶ ὑπὸ τὴν μορφήν αὐτὴν ἐπλύνετο ἐπὶ ἓνα μῆνα περίπου, διὰ τοποθετήσεως ἐντός εὐρυστόμων ὑαλίνων βάζων φρασσομένων διὰ τουλουπανίου. Ἡ πλύσις ἐγένετο δι' ἀπεσταγμένου ὕδατος, τὸ ὁποῖον ἠλλάσσετο τρεῖς φορές τὴν ἡμέραν, ἀποχυνομένου μέσω τοῦ τουλουπανίου.

Μετὰ τὸ πέρας τῆς ἐκπλύσεως οἱ κύβοι ἐτοποθετοῦντο ἐντός ποτηρίου ζέσεως καὶ ἐρευστοποιοῦντο εἰς ὑδρόλουτρον. Παραλλήλως, εἰς 500 κυβικὰ ἑκατοστά ἀπεσταγμένου ὕδατος, διελύοντο 6,7 γραμμάρια βάσεως ἀζώτου διὰ ζύμας, τὸ δὲ παραλαμβανόμενον διάλυμα ἀνεμιγνύετο μετὰ 500 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρευστοποιημένου ἄγαρ (περιεκτικότητος 4 τοῖς ἑκατόν). Ἡκολούθει διανομὴ εἰς δοκιμαστικούς σωλήνας ἀνά 15-20 κυβικὰ ἑκατοστά καὶ ἀποστείρωσις κατὰ τὰ γνωστά.

Προκειμένου να δοκιμασθῆ ἡ ἀφομοιωτικὴ διὰ τὰ διάφορα σάκχαρα ἱκανότης τῶν καθαρῶν καλλιεργείων, διεσπεύροντο κύτταρα ἀκμαῖα, ἡλικίας οὐχὶ ἀνωτέρας τῶν τριῶν ἡμερῶν, ἐντός 2-3 κυβικῶν ἑκατοστῶν ἀπεστειωμένου ὕδατος, τὸ δὲ προκύπτον γαλάκτωμα ἀνεμιγνύετο, καλῶς, ἐντός τρυβλίων, μετὰ 15-20 κυβικῶν ἑκατοστῶν ρευστοποιημένης βάσσεως ἀζώτου, θερμοκρασίας 40-50°C. Τὰ σάκχαρα προσετίθεντο μετὰ τὴν στερεοποίησιν καὶ δὴ ὑπὸ μορφὴν πέντε διακεκριμένων, δι' ἕνα ἕκαστον τούτων, κηλίδων ἐπὶ τῆς ἐπιφανείας τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ, ἡ θέσις τῶν ὀπῶν ἐσημειοῦτο, ἀντιστοίχως, κάτω ἐπὶ τῆς βάσεως τοῦ τρυβλίου.

Θετικὰ ἐχαρακτηρίζοντο αἱ κηλίδες ἐπὶ τῶν ὀπῶν ἐσχηματίζοντο πολλαὶ ἀποικίαι συγχεόμεναι μεταξὺ τῶν καὶ ἀρνητικῶν, αἱ κηλίδες ἐπὶ τῶν ὀπῶν δὲν παρατηρεῖτο οὐδεμίαν ἀνάπτυξιν. Ὡς μάρτυς ἐπιτυχοῦς διεξαγωγῆς τοῦ ἐλέγχου τῆς ἀφομοιωτικῆς ἱκανότητος ἐχρησιμοποιεῖτο ἡ κηλὶς τῆς γλυκόζης, ἡ ὁποία ἔπρεπε νὰ ἦτο εἰς ὅλας τὰς περιπτώσεις θετικὴ, ἄλλως τὸ αὐξανόγραμμα ἐπανελαμβάνετο.

Θὰ πρέπει νὰ σημειωθῆ ὅτι, ἐκτός τῶν ἀναφερθέντων 5 σακχάρων, διὰ τὸν προσδιορισμὸν καὶ τὴν κατάταξιν ὠρισμένων γενῶν μέχρι τοῦ εἴδους, βάσει τῆς νέας κλειδῶς ταξινομήσεως (Lodder, 1970), ἐδοκιμάσθη ἡ ἀφομοιωτικὴ ἱκανότης τῶν ἀκολουθῶν πηγῶν ἄνθρακος: Ραφινόζης, Κελλοβιόζης, Μελιζιτόζης, Μελιβιόζης, Ραμνόζης, Σορβόζης, Τρεαλόζης, Ξυλόζης, Ἴνωση, Ἐρυθρίτου, Ἴνουλίνης, Ἀμύλου, Γλυκίτου καὶ Σαλισίνης. Αἱ ἀνωτέρω πηγαὶ ἄνθρακος ἀνεμιγνύοντο μετὰ τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ (βάσεως ἀζώτου) εἰς ποσοστὸν 5 τοῖς χιλίοις καὶ ἡ δοκιμὴ ἐγένετο δι' ἐμβολιασμοῦ μετὰ τῶν καθαρῶν καλλιεργείων, ὅποτε ὡς θετικὰ ἐχαρακτηρίζοντο αἱ καλλιέργειαι, αἱ ὁποῖαι ἀνεπτύσσοντο ἐπ' αὐτοῦ τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ.

Ὁ ἔλεγχος τῆς ἀφομοιωτικῆς διὰ τὰ σάκχαρα καὶ τὰ νιτρικὰ ἅλατα ἱκανότητος τῶν ζυμῶν διὰ τῆς τεχνικῆς τῶν αὐξανογράμμων, εἰσαχθείσης τὸ πρῶτον ὑπὸ τοῦ Beijerinck, παρουσιάζει ἀδυναμίαν, τὰς ὁποίας ἐπεσήμαναν κατὰ καιροὺς οἱ διάφοροι ζυμολόγοι καὶ, κυρίως, ὁ ἀμερικανὸς Wickerham

(1951). 'Ο τελευταῖος εἰσηγήθη τροποποίησιν τῆς τεχνικῆς, συνισταμένην εἰς τὴν χρῆσιν ὑγρᾶς ἀντὶ στερεᾶς βάσεως ἀζώτου ἢ ἄνθρακος τῆς ἰδίας, ὅμως, συνθέσεως, ἐντὸς τῆς ὁποίας διελύοντο εἴτε τὰ σάκχαρα εἴτε τὸ νιτρικὸν κάλιον, ἀναλόγως τῆς ἐκάστοτε περιπτώσεως.

Ἡ ὑγρά φάσις ἀζώτου, προκειμένου διὰ τὸν ἔλεγχον τῆς ἀφομοιώσεως τῶν σακχάρων, παρεσκευάζετο διὰ διαλύσεως ἐντὸς ἐνὸς λίτρου ὕδατος 6,7 γραμμαρίων βάσεως ἀζώτου διὰ ζύμας τῆς ἐταιρίας Difco, κυκλοφορούσης εἰς τὸ ἐμπόριον ὑπὸ μορφήν κόνωσης. Ἡ κόνις αὕτη περιέχει τὰ ἀναγκαιούτατα διὰ τὴν ἀνάπτυξιν τῶν ζυμῶν ἰχνοστοιχεῖα, βιταμίνες, τρία βασικὰ ἀμινοξέα, ἅλατα καὶ ἐπιπλέον πέντε γραμμάρια θειικοῦ ἀμμωνίου. Ἐάν, ἐντὸς τῆς ὑγρᾶς βάσεως ἀζώτου, διαλυθῇ ἓν γραμμάριον γλυκόζης κατὰ λίτρον, τότε αὕτη μετατρέπεται πρὸς ὑγρὸν ὑπόστρωμα διὰ τὴν προετοιμασίαν τοῦ ἐνοφθαλμίσματος, ἐπειδὴ ἐπιτρέπει τὴν ἀσθενῆ ἀνάπτυξιν τοῦ συνόλου τῶν ζυμῶν. Τέλος, ἐάν ἐντὸς τῆς ὑγρᾶς βάσεως, διαλυθῶσι πέντε γραμμάρια γλυκόζης κατὰ λίτρον ἢ ἡ ἰσοδύναμος ποσότης ἐξ ἄλλων ἀνθρακούχων οὐσιῶν, μετατρέπεται αὕτη πρὸς ἀφομοιώσιμον μορφήν τῶν ἀντιστοίχων σακχάρων ἢ ἄλλων οὐσιῶν, αἱ ὁποῖαι πρόκειται νὰ χρησιμεύσουν ὡς μοναδική πηγὴ ἄνθρακος. Ἀπαντα τὰ ὡς ἄνω ὑγρά ὑποστρώματα διενέμοντο ἀνά 10 κυβικὰ ἑκατοστὰ ἐντὸς δοκιμαστικῶν σωλήνων καὶ ἀπεστεριροῦντο ἐπὶ 15 λεπτά εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν 121 °C.

Ὁ ἔλεγχος εἰς τὴν ἡμετέραν περίπτωσιν τῆς ἀφομοιωτικῆς ἰκανότητος διὰ τὰ σάκχαρα, κατὰ τὴν μέθοδον Wickerham, ἤρχιζε μὲ τὴν μετασποράν τῆς ὑπὸ δοκιμὴν ζύμης ἐπὶ κεκλιμένης ἐπιφανείας στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ καὶ τὴν ἐπάσιν ἐπὶ 24 ἕως 48 ὥρας. Ἀνεπτύσσοντο τότε κύτταρα, τὰ ὁποῖα διασπειρόμενα ἐντὸς ἐνὸς κυβικοῦ ἑκατοστοῦ ἐκ τοῦ ὑγροῦ ὑποστρώματος διὰ τὴν προετοιμασίαν τοῦ ἐνοφθαλμίσματος (ὑγρά βάσις ἀζώτου περιέχουσα καὶ ἓν γραμμάριον γλυκόζης κατὰ λίτρον) ἔδιδον ἐναιώρημα διὰ τοῦ ὁποῖου ἐνεβολιάζοντο τὰ ὑπόλοιπα ἐννέα κυβικὰ ἑκατοστὰ τοῦ ἰδίου ὑγροῦ ὑποστρώματος. Κατὰ κανόνα 0,2-0,4 κυβικοῦ ἑκατοστοῦ τοῦ ἐναιωρήματος ἦσαν ἀρκετά διὰ τὸν ἐμβολια-

σμόν, αναλόγως τῆς λαβούσης χώραν ἀναπτύξεως. Ἠκολούθει ἐπὶ 48 ὥρας ἐπάσις εἰς θαν 25°C καὶ μετὰ ταῦτα ἀραίωσις τοῦ ἐνοφθαλμίσματος μετὰ ὑγρᾶς βάσεως ἀζώτου ἀπηλλαγμένης γλυκόζης), ὥστε νὰ περιέχη δέκα ἕως δέκα πέντε ἑκατομμύρια κυττάρων ζύμης. Ἐναιώρημα μέ τήν ὡς ἄνω πυκνότητα κυττάρων, ὅταν ἐμετρήτο εἰς τὸ φωτόμετρον καὶ εἰς μῆκος κύματος 420mμ ἐπέτρεπε 55 ο/ο δίοδον φωτός. Ἀντί φωτομέτρου ἐχρησιμοποιεῖτο τεμάχιον χάρτου φέρον χαραγμένας διὰ σινικῆς μελάνης παραλλήλους εὐθείας πᾶ - χους 0,75 χιλιοστ. περίπου, τὸ ὁποῖον ἐτίθετο ὀπισθεν τοῦ περιέχοντος τὸ ἠραιωμένον ἐνοφθάλμισμα δοκιμαστικοῦ σωλήνος. Ἡ ἀραίωσις ἦτο ἡ ἐνδεδειγμένη, ὅταν αἱ ὡς ἄνω γραμμαί, λόγῳ διασκεδασμοῦ τοῦ φωτός, ἐνεφανίζοντο ὡς σκοτειναὶ διάχυτοι ταινίαι. Κατὰ κανόνα ἀπητοῦντο δύο ὄγκοι ὑγρᾶς βάσεως ἀζώτου κατὰ ἕνα ὄγκον ἐκ τοῦ ἐναιωρήματος τῶν κυττάρων. Μέ τὸ τελευταῖον ἠραιωμένον ἐνοφθάλμισμα ἐνεβολιάζοντο τὰ πρὸς ἀφομοίωσιν σάκχαρα μέ μεταφοράν 0,1 κυβ. ἐκ. ἐκάστοτε.

Τὸν ἐμβολιασμόν ἠκολούθουν ἐπάσις εἰς θαν 25 °C καὶ παρατηρήσεις δι' ἀνάπτυξιν τῆς ζύμης, γενόμεναι μετὰ παρέλευσιν 7,20 καὶ 24 ἡμερῶν ἀπὸ τοῦ ἐμβολιασμοῦ. Ὁ ἔλεγχος τῆς ἀναπτύξεως ἐγένετο μέ τοποθέτησιν ὀπισθεν τοῦ δοκιμαστικοῦ σωλήνος τοῦ ἰδίου, ὡς καὶ προηγουμένως χαρτονίου, αἱ μελαναὶ γραμμαί τοῦ ὁποῦ ἐνεφανίζοντο διαφορετικαὶ ἀναλόγως τοῦ ἀριθμοῦ τῶν ἐν ἐναιωρήσει κυττάρων. Οὕτως, ἡ ἀνάπτυξις ἐβαθμολογεῖτο μέ (+3), ὅταν αἱ γραμμαί δέν διεκρίνοντο, μέ (+2), ὅταν αἱ γραμμαί ἐνεφανίζοντο ὡς διακεκριμένα ταινίαι, μέ (+1), ὅταν αἱ γραμμαί διετήρουν τήν ἀτομικότητά των, ἀλλὰ ἐνεφάνιζον συγχεόμενα τὰ πέρατά των καὶ μέ (-), ὅταν οἱ ἐμβολιασμένοι σωλήνες δέν ἐνεφάνιζον διαφοράν, ὡς πρὸς τὸν μάρτυρα.

γ) Ἀφομοίωσις νιτρικῶν ἀλάτων

Ὁ ἔλεγχος ἐπὶ στερεᾶς βάσεως τῆς ἀφομοιωτικῆς διὰ τὰ νιτρικὰ ἄλατα ἱκανότητος ἐγένετο εἰς αὐξανόγραμμα ἀζώτου, τὰ ὁποῖα παρεσκευάζοντο μέ τήν ἰδίαν διαδικασίαν, ἐξαιρέσει τῆς ἐνσωματώσεως εἰς ρευστοποιημένον

Άγαρ 11,7 γραμμάρων βάσεως άνθρακος διά ζύμας (yeast carbon base) της ιδίας Έταιρίας Difco, αντί της βάσεως άζώτου. Τό νιτρικό κάλιο προσετίθετο μετά την στερεοποίηση, όμοίως, υπό μορφή κηλίδος μέ μάρτυρα κηλίδα έκ πεπτόνης. Η τελευταία έπρεπε νά ήτο πάντοτε θετική εις την περίπτωση επιτυχούς διεξαγωγής της δοκιμής, άλλως ή όλη διαδικασία επανελαμβάνετο.

Είς την περίπτωση έλέγχου επί ύγρας βάσεως της άφομοιωτικής διά τό νιτρικό κάλιο ικανότητας διελύοντο κατά λίτρον άπεσταγμένου ύδατος 11,7 γραμμάρια βάσεως άνθρακος διά ζύμας, της ιδίας Έταιρίας Difco καί επί πλέον 0,78 γραμμάρια νιτρικού καλίου. Ηκολούθει διανομή, ανά 5 κυβικά εκατοστά, εις δοκιμαστικούς σωλήνας καί άποστείρωσις κατά τά γνωστά. Η προετοιμασία του ένοφθαλμίσματος, ως καί ό έμβολιασμός του άφομοιωσίμου νιτρικού καλίου, έγένοντο κατά τον ίδιον τρόπον, ως καί προκειμένου περί των σακχάρων (των πηγών άνθρακος γενικώτερον). Η διαφορά συνίστατο εις τό ότι οι σωλήνες του άφομοιωσίμου νιτρικού καλίου ένεφανίζοντο άπαντες θετικοί μετά έπώασιν έπτά ήμερών, λόγω αναπτύξεως κυττάρων, την όποίαν υπεστήριζον διαλυταί άζωτούχοι ούσαι έκκρινόμεναι υπό των κυττάρων του ένοφθαλμίσματος καί τό έλάχιστον θειικό άμμώνιον, τό όποίον περιέχει ή βάση άνθρακος διά ζύμας. Δι' ό καί ό τελικός έλεγχος της άφομοιωτικής διά τά νιτρικά ικανότητας έγένετο εις δευτέραν σειράν σωλήνων περιεχόντων νιτρικό κάλιο, οι όποιοι ένεβολιάζοντο μέ μίαν σταγόνα έκ των άντιστοίχων δοκιμαστικών της πρώτης σειράς, μεταφερομένην άσηπτικώς διά μικροβιολογικού κρίκου. Επί των τελευταίων δοκιμαστικών σωλήνων έγένοντο παρατηρήσεις, ως πρός τό θόλωμα, καί έκτίμησις του βαθμού αναπτύξεως, κατά τό ίδιον, ως καί προκειμένου περί των σακχάρων, πρότυπον.

δ) Α ύ ξ η σ ι ς ά π ο υ σ ί α β ι τ α μ ι ν ω ν

Η ικανότης αύξήσεως άπουσία βιταμινών, έμελετήθη εις ύγρόν θρεπτικό υπόστρωμα, τό όποίον παρεσκευάσθη διά διάλύσεως 16,7 γραμμάρων βάσεως διά ζύμας άπηλλαγμένης βιταμινών (Difco - vitamin free base)

έντός απεσταγμένου ύδατος καί συμπληρώσεως εἰς τόν ὄγκον τῶν 100 κυβικῶν ἑκατοστῶν. Ἡκολούθει ἀποστείρωσις μέσω βακτηριδιοστατικού φίλτρου, διανομή ἀνά 0,5 κυβ. ἐκ. ἐκ τοῦ ἀνωτέρω διαλύματος, ἀσηπτικῶς, ἐντός δοκιμαστικῶν σωλῆνων περιεχόντων 4,5 κυβ. ἐκ. ἀπεστερωμένου ύδατος, καί, τελικῶς, ἀνάμιξις, ὅτε τό διάλυμα ἦτο ἕτοιμον δι' ἐμβολιασμόν. Ὁ ἐμβολιασμός ἐγένετο μέ κύτταρα καθαρῶν καλλιεργείων, ἀκμαία, ἡλικίας ὄχι ἀνωτέρας τῶν 3 ἡμερῶν.

Τόν ἐμβολιασμόν ἠκολούθουν ἐπάσεις εἰς θαν 25-28 °C καί παρατήρησις μετά 7 ἡμέρας. Εἰς ὅλας σχεδόν τάς περιπτώσεις εἴχομεν ἀνάπτυξιν τῶν καλλιεργείων. Πρός τοῦτο, διά τόν τελικόν ἔλεγχον τῆς ἱκανότητος ἀναπτύξεως τῶν καλλιεργείων, ἀπουσία βιταμινῶν, ἠκολούθει δευτέρα μεταφορά μίας σταγόνας διὰ κρίκου εἰς νέον θρεπτικόν ὑπόστρωμα, ὁπότε μετά ἐπάσιν 7 ἡμερῶν ἐάν παρατηρήτο ἀνάπτυξις, ἐν συγκρίσει πάντοτε μέ μάρτυρα, αἱ καλλιέργεια ἔχαρακτηρίζοντο ὡς θετικά.

ε) Δ ι ἄ σ π α σ ι ς τ ῆ ς ἄ ρ β ο υ τ ῖ ν η ς

Ἡ ἱκανότης διασπάσεως τῆς ἄρβουτίνης ἐμελετήθη εἰς θρεπτικόν ὑπόστρωμα ἐκ προϊόντος αὐτολύσεως κυττάρων ζύμης, ἡραιωμένον δι' ύδατος 1:9, τό ὁποῖον περιεῖχε 500 χιλιοστά τοῦ γραμμαρίου ἄρβουτίνης καί 2 γραμμάρια ἄγαρ τοῖς ἑκατόν. Ἡκολούθει διανομή ἀνά 5-7 κυβικά ἑκατοστά εἰς δοκιμαστικούς σωλῆνας καί ἀποστείρωσις κατὰ τά γνωστά. Μετά τήν ἀποστείρωσιν προσετίθεντο, κατὰ δοκιμαστικόν σωλῆνα, 2-5 σταγόνες ἀπεστερωμένης διαλύσεως 1 ο/ο κιτρικού σιδηριαμμωνίου, αἱ ὁποῖαι ἀνεμιγνύοντο μέ τό ρευστόν ὑπόστρωμα δι' ἰσχυράς ἀναταράξεως. Ἀκολούθως, οἱ σωλῆνες ἐτοποθετοῦντο πλαγίως, προκειμένου τό θρεπτικόν ὑλικόν νά σπερεοποιηθῆ ὑπό μορφήν κεκλιμένης ἐπιφανείας.

Ὁ ἐμβολιασμός ἐγένετο μέ κύτταρα ζύμης εὐρισκομένης εἰς τό στάδιον τῆς ἐντόνου ἀναπτύξεως καί ἠκολουθεῖτο ἀπό ἐπάσιν εἰς θαν 25-28 °C ἐπί 2-7 ἡμέρας. Θετικά ὡς πρός τήν διάσπασιν τῆς ἄρβουτίνης ἔχαρακτηρίζοντο ὅσαι καλλιέργεια ἐνεφάνιζον σκοτεινόν καστανόν χρῶμα εἰς τήν περιόχην ἀναπτύξεώς των συγκριτικῶς πάντοτε πρός μάρτυρα.

VII. Προσδιορισμός και κατάταξη
ξιστών καθάρων καλλιεργείων
ων βακτηριδίων

Είς τήν περίπτωσιν τοῦ περιωρισμένου ἀριθμοῦ καθάρων καλλιεργείων βακτηριδίων ἐμελετήθησαν ὠρισμένα μορφολογικά καί φυσιολογικά χαρακτηριστικά προκειμένου νά διαπιστωθῇ ἐάν τά βακτηρίδια ἀνήκουν εἰς τήν ὁμάδα τῶν γαλακτοβακίλλων. Οὕτως, ἐμελετήθησαν τά ἀκόλουθα χαρακτηριστικά:

1) Τό σχῆμα τῆς βλαστικῆς μορφῆς

Ἐμελετήθη διά μικροσκοπήσεως παρασκευασμάτων ἐντός σταγόνας ὕδατος, πάντοτε ὑπό καταδυτικόν φακόν, ἢ παρασκευασμάτων προσηλωμένων καί κεχρωσμένων κατά Gram. Ἡ σταγὼν κεδρελαίου ἐτοποθετεῖτο, εἴτε ἐπὶ τῆς καλυπτρίδος εἰς τήν περίπτωσιν τῶν ζώντων παρασκευασμάτων, εἴτε κατά εὐθειαν ἐπὶ τῆς ἀντικειμενοφόρου πλακός, εἰς τήν περίπτωσιν καθ' ἣν εἶχε προηγηθῇ προσήλωσις καί χρώσις.

2) Ἡ σποριογονία

Ἐμελετήθη, εἴτε διά χρώσεως καί μικροσκοπήσεως παρασκευασμάτων ὑπό καταδυτικόν φακόν (ἄμεσος διαπίστωσις), εἴτε διά θερμάνσεως ἐναιωρήματος κυττάρων εἰς ἀπεσταγμένον ὕδωρ περιέχον καί μικράν ποσότητα ὀξειδίου τοῦ ἄσβεστίου ἐπὶ 20' εἰς θερμοκρασίαν 80°C (Manual of Microbiological Methods, 1957). Μετασπορά ἐνός κυβικοῦ ἑκατοστοῦ ἐναιωρήματος εἰς θρεπτικόν ὑλικόν, ἢ ὁποῖα κατέληγεν εἰς σχηματισμόν ἀποικιῶν ὁμοίων πρὸς τάς μητρικάς, ἦτο ἐνδεικτικὴ τῆς ὑπάρξεως ἐν τῷ ἐναιωρήματι σπορίων. Ἐν ἑναντία περιπτώσει ἡ ἀρχικὴ καλλιέργεια ἐχαρακτηρίζετο ὡς ἀσποριογόνος.

3) Ἡ χρώσις κατά Gram

Ἐγένετο κατὰ τὸν συνήθη τρόπον δι' ἐφαρμογῆς τῆς τεχνικῆς τοῦ Gram, ὡς αὕτη ἐτροποποιήθη ὑπό τοῦ Nyfeldt.

4) Ο σχηματισμός οργανικών όξεων εις ζυμόν Pederson

Ἡ ἐν λόγῳ δοκιμὴ εἰσῆχθη τὸ πρῶτον ὑπὸ τοῦ Pederson κατὰ τὴν μελέτην τῆς μικροχλωρίδος τῶν ἐν ζυμώσει ἀγγουριῶν καὶ βασίζεται εἰς τὸν σχηματισμὸν ὀξεων ἐκ τῆς γλυκόζης, μέχρι ποσοστοῦ 0,5-1 ο/ο (β/ο), ὅσακις ἐπρόκειτο περὶ βακτηριδίων τῆς ομάδος τῶν γαλακτοβακίλλων, ἢ ποσοστῶν σαφῶς μικροτέρων ἢ μηδαμινῶν, ὅσακις ἐπρόκειτο περὶ βακτηριδίων ἀνηκόντων εἰς ἄλλας ομάδας ἢ γένη (Pederson, 1950).

Βάσει τῆς μελέτης τῶν τεσσάρων προαναφερθέντων χαρακτηριστικῶν, κατετάγησαν αἱ τέσσαρες καθαραὶ καλλιέργειαι (ἀπομονώσεις βακτηριδίων) ὑπὸ τὰ διακριτικά: K, 1β, 4δ καὶ 4ε, ὡς ἐξῆς: Αἱ μὲν δύο πρῶται εἰς τοὺς σποριογόνους βακίλλους, αἱ δὲ δύο τελευταῖαι εἰς τοὺς μικροκόκκους.

Ἀπασαι αἱ ὡς ἄνω καλλιέργειαι βακτηριδίων ἀπεδείχθησαν ἄνευ σημασίας διὰ τὴν ζύμωσιν τῶν κίτρων καὶ θὰ πρέπει νὰ ἀποδοθοῦν εἰς μόλυνσιν τούτων. Ἡ ἀνίχνευσίς των εἰς τὴν ἄλμην διήρκεσε μόνον ὀλίγας ἡμέρας, ἐνωρὶς δὲ ταῦτα ἐξηφανίσθησαν, λόγω τῆς χαμηλῆς τιμῆς τοῦ pH καὶ τῆς ἠύξημένης συγκεντρώσεως τοῦ χλωριούχου νατρίου.

Ἀνεξήγητος παραμένει ἡ ἀπουσία τῶν γαλακτοβακίλλων ἀπὸ τὴν ἄλμην τῶν κίτρων, τὰ ὅποια ἐπεξεργάσθησαν ὑπὸ ἐργαστηριακῆς συνθήκας, ἥτοι ἐντὸς ἄλμης ἀπηλλαγμένης διοξειδίου τοῦ θείου.

Πρὸς ἐπαλήθευσιν τῆς ἀπουσίας γαλακτοβακίλλων ἀπὸ τὴν μικροχλωρίδα τῶν κίτρων ἐγένετο ἡ ἀκόλουθος δοκιμὴ: Δι' ἀπεστερωμένων σιφωνίων ἐλήφθησαν ποσότητες ἄλμης, τόσον ἐκ τοῦ πυθμένου τῶν βάζων ζυμώσεως ὑπὸ ἐργαστηριακῆς συνθήκας, ὅσον καὶ ἐκ τοῦ πυθμένου τῶν δειγμάτων ἄλμης τῆς βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας. Αἱ ληφθεῖσαι οὕτω ποσότητες ἄλμης ὑπεβλήθησαν εἰς φυγοκέντησιν, ἢ ὑποστάθμη τούτων ἐμικροσκοπήθη ὑπὸ καταδυτικὸν φακὸν καὶ, οὕτω, διεπιστώθη ἡ ἀπουσία κυττάρων βακτηριδίων. Ἀξιοσημείωτον εἶναι, ὅτι ἡ αὐτὴ δοκιμὴ, εἰς ἄλμην ζυμωθειῶν ἐλαιῶν εἶχεν ὡς ἀποτέλεσμα τὴν ἐμφάνισιν βακτηριδίων (κυττάρων γαλακτοβακίλλων).

B. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΕΠΙ ΤΗΣ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΕΩΣ

I. Σ υ ν ο λ ι κ ό ς ά ρ ι θ μ ό ς κ α ί κ α τ η γ ο -
ρ ί α ι ά π ο μ ο ν ω θ ε ι σ ῶ ν κ α λ λ ι ε ρ -
γ ε ι ῶ ν

Είς τήν παρούσαν ἐργασίαν δι' ἐφαρμογῆς τῶν τεχνικῶν ἀπομονώσεως, αἱ ὁποῖαι περιεγράφησαν εἰς τὰς προηγουμένας σελίδας, ἀπεμονώθησαν τεσσαράκοντα τρεῖς (43) ἐν συνόλῳ καθαρά καλλιέργειαι, ἐκ τῶν ὁποίων τριάκοντα ἑννέα (39) ἀνήκον εἰς τὰς ζύμας καί αἱ ὑπόλοιποι τέσσαρες (4) εἰς τὰ βακτηρίδια. Ὁ χαρακτηρισμός τῶν ἐν λόγῳ καθαρῶν καλλιερ-
γειῶν ἐγένετο ὡς ἀκολούθως:

A-1 , A-1α , A-1γ , A-1δ , A-1ε , A-2 , A-2α , A-2β ,
A-2γ₁, A-2γ₂, A-2δ , A-2ε , A-2ζ , A-3α , A-3γ , A-3δ ,
A-4α , A-4β , A-4γ , A-5 , A-5α₁, A-5α₂, A-5β , A-5γ ,
B-1α , B-1β , B-1γ , B-2α , B-2β , B-2γ , B-3α, B-3γ, B-3δ ,
B-3ε , B-4α , B-4β , B-5α , B-6α , B-6β , K, 1β, 4δ καί 4ε.

Ἐκ τούτων αἱ 24 πρῶται καθαρά καλλιέργειαι μέ πρῶ-
τον διακριτικόν τό A εἶναι ζῦμαι ἐκ τῆς ἐξωτερικῆς ἐπι -
φανείας τῶν κίτρων καί ἀπεμονώθησαν ἀπό δείγματα κίτρων
ἐπεξεργασθέντα ὑπό ἐργαστηριακῆς συνθήκας. Αἱ ὑπόλοιποι 15
κατά σειράν καθαρά καλλιέργειαι, μέ διακριτικόν τό B, ἤ-
σαν ζῦμαι ἀπομονωθεῖσαι ἀπό δείγματα ἄλλης κίτρων ἐπεξερ-
γασθέντων ὑπό βιομηχανικῆς συνθήκας, ἐνώ αἱ τέσσαρες τε -
λευταῖαι ἀπομονώσεις ἦσαν καθαρά καλλιέργειαι βακτηρι -
δίων ἀπομονωθεῖσαι ἀπό ἄλλην κίτρων ἐκ Κρήτης, τὰ ὁποῖα εἶ-
χον ζυμωθῆ ὑπό ἐργαστηριακῆς συνθήκας.

II. Κ α τ ά τ α ξ ι ς τ ῶ ν χ α ρ α κ τ η ρ ι σ θ ε ι -
σ ῶ ν ὡ ς ζ υ μ ῶ ν κ α θ α ρ ῶ ν κ α λ λ ι ε ρ -
γ ε ι ῶ ν

Αἱ ἀπομονωθεῖσαι τριάκοντα ἑννέα (39) καθαρά καλ -
λιέργειαι ζυμῶν, μέ βάσιν τήν δυνατότητα ἢ μή σχηματισμοῦ
σπορίων, κατετάγησαν εἰς σποριογόνους καί ἀσποριογόνους.

Είς τήν πρώτην ομάδα (τῶν σποριογόνων) κατετάγησαν δέκα πέντε (15) καλλιέργειαι, ἦτοι αἱ A-2ε, A-3δ, A-4γ, B-1α, B-2α, B-2β, B-2γ, B-3α, B-3γ, B-3δ, B-3ε, B-4α, B-4β, B-5α καί B-6β καί εἰς τήν δευτέραν, τῶν ἀσποριογόνων, εἴκοσι τέσσαρες (24), ἦτοι αἱ: A-1, A-1α, A-1γ, A-1δ, A-1ε, A-2, A-2α, A-2β, A-2γ₁, A-2γ₂, A-2δ, A-2ζ, A-3α, A-3γ, A-4α, A-4β, A-5, A-5α₁, A-5α₂, A-5β, A-5γ, B-1β, B-1γ καί B-6α.

Ἄπασαι αἱ σποριογόνοι ζύμαι κατετάγησαν, βάσει τῶν βοτανικῶν, μορφολογικῶν καί φυσιολογικῶν χαρακτήρων, εἰς τήν οἰκογένειαν *Saccharomycetaceae*, καί τήν ὑποοικογένειαν *Saccharomycetoideae*, κατανεμηθεῖσαι μεταξύ τῶν τριῶν γενῶν, *Saccharomyces*, *Hansenula* καί *Pichia* ἀνά 6, 6 καί 3, ἀντιστοίχως.

Ἐξ ἄλλου, αἱ ἀσποριογόνοι καλλιέργειαι κατετάγησαν, ἅπασαι πλὴν τριῶν, εἰς τήν οἰκογένειαν *Cryptococcaceae* καί τήν ὑποοικογένειαν *Cryptococcoideae*, καταταγεῖσαι μεταξύ τῶν γενῶν *Candida* καί *Kloeckera*, ἀνά 16 καί 5, ἀντιστοίχως.

Τέλος, αἱ ὑπόλοιποι τρεῖς καλλιέργειαι, ὑπό τὰ διακριτικά A-1α, A-1γ καί A-5, δέν ἀνήκον εἰς τὰς τυπικάς ζύμας, ἀλλά εἰς τήν ομάδα τῶν ὁμοιοζόντων πρὸς τὰς ζύμας μικροοργανισμῶν (*yeast-like*) καί κατετάγησαν αἱ μὲν δύο πρῶται εἰς τό γένος *Pullularia*, ἡ δέ τελευταία εἰς τό γένος *Geotrichum* (ζυμοειδεῖς μικροοργανισμοί).

Εἰς τήν νέαν κλεῖδα ταξινομήσεως τῶν ζυμῶν διὰ τήν κατάταξιν τῶν τυπικῶν ζυμῶν δέν γίνεται πλέον ἡ χρήση οἰκογενειῶν καί ὑποοικογενειῶν, τό δέ σύνολον τῶν γενῶν κατατάσσεται εἰς τέσσαρας ομάδας, ἦτοι εἰς :

- α) Γένη ἀνήκοντα εἰς τοῦς ἀσκομύκητας
 - β) Γένη ἀνήκοντα εἰς τήν τάξιν τῶν *Ustilaginales*
 - γ) Γένη ἀνήκοντα εἰς τήν οἰκογένειαν τῶν *Sporobolomycetaceae*.
 - δ) Γένη ἀσποριογόνων ζυμῶν, πλὴν ἐκεῖνων τῆς οἰκογενείας τῶν *Sporobolomycetaceae*.
- Αἱ τυπικαί ζύμαι, σποριογόνοι καί μή, ἀνήκουν εἰς τὰς

ομάδας α και δ, ενώ αί υπόλοιποι τῶν ομάδων β και γ εἶναι μικροοργανισμοί ὁμοιάζοντες πρὸς τὰς ζύμας (yeast-like).

Αἱ ἀπομονωθεῖσαι καλλιέργειαι ζυμῶν ἐχαρακτηρίσθησαν ἐν τῷ συνόλω των μέχρι τοῦ γένους, αἱ περισσότεραι δέ τούτων καὶ μέχρι τοῦ εἴδους.

III. Π ε ρ ι γ ρ α φ ῆ τ ῶ ν χ α ρ α κ τ η ρ ι σ τ ι -
κ ῶ ν τ ῶ ν κ α θ ' ἕ κ α σ τ α ε ἰ δ ῶ ν
ζ υ μ ῶ ν

1. Κ α λ λ ι ἔ ρ γ ε ι α ι τ οῦ γ ἑ ν ο υ ς Saccharomyces

Ἐξ ἐν συνόλω καθαρά καλλιέργειαι, ὑπὸ τὰ διακριτικά: A-3δ, B-1α, B-2α, B-3α, B-3γ καὶ B-3ε, κατετάγησαν εἰς τὸ γένος *Saccharomyces*. Κοινὸν χαρακτηριστικὸν ὄλων ἦτο ἡ ἱκανότης των νὰ σχηματίζουν σφαιρικὰ ἀσκοσπόρια 1-4 κατ' ἀσκόν, ἡ ἔντονος ζυμωτικὴ των ἱκανότης διὰ τὰ περισσότερα τῶν σακχάρων καὶ, τέλος, ἡ ἀδυναμία των νὰ ἀφομοιώνουν τὸ νιτρικὸν κάλιον, ὡς μόνην πηγὴν ἀζώτου, καὶ νὰ σχηματίζουν τυπικὸν ψευδομυκήλιον. Αἱ καλλιέργειαι αὗται, κυρίως βάσει τῶν σακχάρων, τὰ ὁποῖα ἐκάστη τούτων ἐζύμωνε καὶ δευτερευόντως τῶν μορφολογικῶν των χαρακτηριστικῶν, κατενεμήθησαν ἀνά 3 μεταξὺ τῶν δύο εἰδῶν *Saccharomyces cerevisiae* καὶ *Saccharomyces rosei*.

α) Κ α λ λ ι ἔ ρ γ ε ι α ι τ οῦ ε ἰ δ ο υ ς

Saccharomyces cerevisiae

Εἰς τὸ εἶδος τοῦτο κατετάγησαν τρεῖς καθαρά καλλιέργειαι, ἦτοι αἱ B-1α, B-2α καὶ B-3α. Ἀπασαι ἀπεμονώθησαν ἀπὸ ἄλμην κίτρων ζυμωθέντων ὑπὸ βιομηχανικὰς συνθήκας.

Ἀπασαι ἐσχημάτιζον, εἰς ὑγρὸν ἐκχύλισμα βύνης, κύτταρα σφαιρικὰ καὶ ἐλάχιστα ὠοειδῆ. Εἰς τὸ ἴδιον θρεπτικὸν ὑλικὸν δέν ἐσχημάτιζον οὔτε ὑμένιον οὔτε δακτύλιον. Ἐπίσης, δέν ἐσχημάτιζον ψευδομυκήλιον, ὑπὸ τὰς ἡμετέρας

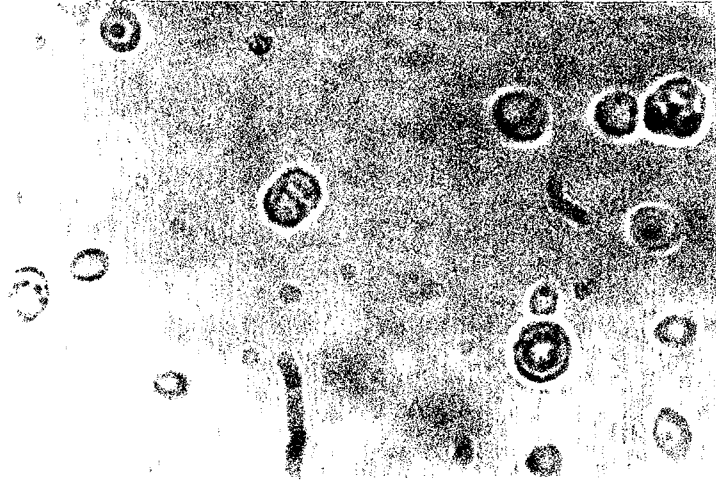
συνθήκας έργασίας. Αί διαστάσεις τῶν κυττάρων έκυμάνθησαν μεταξύ: (4, 52-6, 56) μX(5, 74-9, 02) μ διά τήν καλλιέργειαν Β-1α, μεταξύ (3, 28-6, 56) μX(4, 92-6, 56) μ διά τήν καλλιέργειαν Β-2α καί μεταξύ (3, 28-6, 56) μX(4, 92-6, 56) μ διά τήν καλλιέργειαν Β-3α. Τά άσκοσπόρια καί εις τάς τρεῖς περιπτώσεις ἦσαν σφαιρικά καί 2-3 κατ' άσκόν, πολύ δέ σπανίως 1 ἢ 4. Γενικῶς, ἦσαν περισσότερον άσυνήθεις οἱ άσκοί μέ 4 σφαιρικά άσκοσπόρια εις τάς καλλιεργείας Β-1α καί Β-2α καί όλιγώτερον εις τήν καλλιέργειαν Β-3α (βλ. εἰκ. 7, 8 καί 9, σελ. 125α, καί 125β). Ἡ σποριογόνοσ ικανότησ, καί εις τάς τρεῖς περιπτώσεις, διετηρήθη επί σειράν έτών.

Αί μεμονωμέναί άποικίαι επί στερεοῦ υλικοῦ έκχυλί - σματος βύνης ἦσαν μετρίου ἔως μεγάλου μεγέθους, σχήματος κατά τό μάλλον ἢ ἥττον στρογγύλου, καταλήγουσαι εις έλαφρῶς λοβῶδη περιφέρεια. Ἦσαν χρώματος φαιολεύκου στιλπνοῦ, έλαφρῶς κυρτής διατομής, μέ καταφανῶς ἡγερμένον τό κέντρον αὐτῶν. Ἡ ύφή τῶν άποικιῶν ἦτο πηκτώδης καί τά κύτταρα διεσπείροντο, εύκόλως, εις ὕδωρ σχηματίζοντα γαλακτωμα.

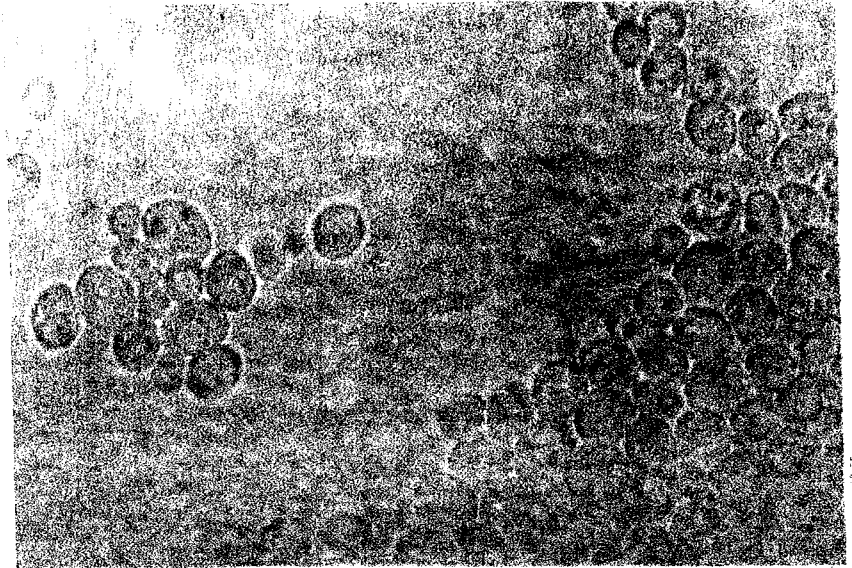
Ἐπίσης, αί μετασποράί διά χαραγῆς ἦσαν άναπτύξεις λευκοφαίου στιλπνοῦ χρώματος, έπίπεδοι, αί όποῖαι κατέληγον εις περισσότερον ἢ όλιγώτερον όμαλόν χεῖλος.

Τέλος, εις ὅ, τι άφορᾷ εις τούς βιοχημικούς χαρακτήρας καί αί τρεῖς καθαράί καλλιέργειαι άπεδείχθησαν άρνητικά, ὡς πρός τήν άφομοίωσιν τοῦ νιτρικοῦ καλίου, ὡς μόνης πηγῆς άζώτου, καί θετικά, ὡς πρός τήν άφομοίωσιν τῆς γλυκόζης, γαλακτόζης, σακχαρόζης καί μαλτόζης. Τά ἴδια σάκχαρα έζύμωνον έντόνως, καί έντός τῆς πρώτης άπό τοῦ έμβολιασμοῦ έβδομάδος, έπίσης καί τήν ραφινόζην κατά 1/3. Μέ σχετικήν καθυστέρησιν έζυμοῦτο μόνον ἡ μαλτόζη άπό τάς καλλιεργείας Β-1α καί Β-2α. Καί αί τρεῖς καλλιέργειαι άπεδείχθησαν άρνητικά εις τήν ζύμωσιν τοῦ διαλυτοῦ άμύλου, τήν άφομοίωσιν τῆς μελιβιόζης, τῆς κελλοβιόζης καί τῆς σαλίσίνης, ὡς καί κατά τήν διάσπασιν τῆς άρβουτίνης.

Ψευδομυκήλιον έσχημάτιζε μόνον ἡ καλλιέργεια Β-3α, τό όποῖον συνεκροτεῖτο άπό ίσομεγέθη κυλινδρικά κύτταρα



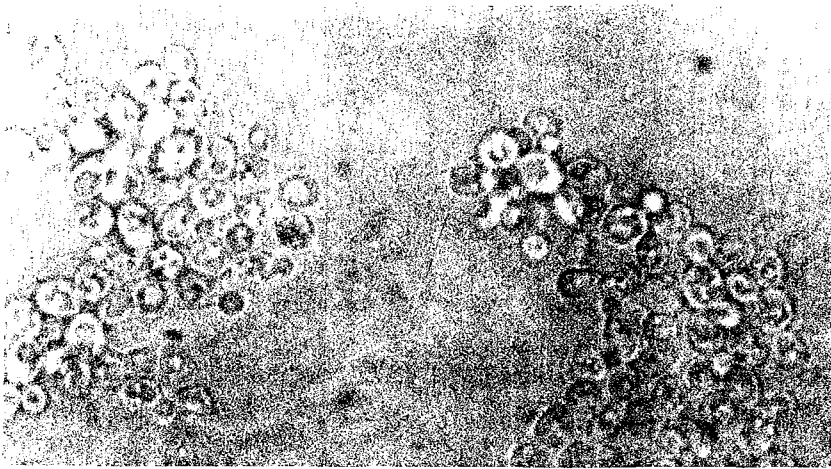
Εικ. 7. Άσκολ και άσκοσπόρια τής καλλιεργείας Β-1α υπό καταδυτικόν φακόν :X1000.



Εικ. 8. Άσκολ και άσκοσπόρια τής καλλιεργείας Β-2α υπό καταδυτικόν φακόν :X1000.



Εικ. 9. Άσχοι καί άσκοσπόρια τής καλλιεργείας
B-3α ύπό καταδυτικόν φακόν :X1000



Εικ. 10. Άσχοι καί άσκοσπόρια τής καλλιεργείας
B-3γ ύπό καταδυτικόν φακόν :X1000.

εις αλύσεις, ένλιότε διακλαδιζόμενας. Κατά κανόνα, δέν παρετηρήθη διαφορά μεταξύ των κυττάρων του κορμού και των πλευρικών διακλαδώσεων.

β) Καλλιέργεια του είδους

Saccharomyces rosei

Εις τό είδος τούτο κατετάγησαν τρεῖς καθαρά καλλιέργειαι υπό διακριτικά : Α-3δ , Β-3γ και Β-3ε έκ των οποίων ή πρώτη άπεμονώθη από άλλην κίτρων ζυμωθέντων υπό έργαστηριακάς συνθήκας και αί υπόλοιποι δύο από άλλην κίτρων βιομηχανικής έπεξεργασίας. Κοινόν χαρακτηριστικόν και των τριών καθαρών καλλιιεργειών ήτο ό σχηματισμός 2 , 3 και 4 σφαιρικών άσκοσπορίων κατ' άσκόν και ή άδυναμία των νέ σχηματίζουν μεμβράνην ή δακτύλιον εις ύγρόν υπόστρωμα έκχυλίσεως βύνης. Εις τό ίδιον θρεπτικόν ύλικόν τά κύτταρα ήσαν σφαιρικά και έσχημάτιζον χαρακτηριστικάς πολλαπλάς έμβλαστήσεις εις τήν καλλιέργειαν Α-3δ και χαρακτηριστικάς αλύσεις έξ όμοιομεγέθων κυττάρων εις τάς καλλιιεργείας Β-3γ και Β-3ε (βλ. εικ. 10, σελ. 125β).

Αί μεμονωμέναί άποικίαι επί στερεοῦ θρεπτικοῦ ύλικου βύνης ήσαν και εις τάς τρεῖς περιπτώσεις μετρίου μεγέθους, στρογγύλαι και κατέληγον εις όμαλήν περιφέρειαν. Το κέντρον των ήτο έλαφρώς ήγερμένον και κατέληγεν εις κορυφήν, τό δέ χρώμα των ήτο λευκόφαιον. Τέλος, αί άποικίαι ήσαν "παστώδους" ύφης και τά κύτταρά των διεσπείροντο, εύκόλως, εις τό ύδωρ σχηματίζοντα γαλάκτωμα.

Αί διαστάσεις των κυττάρων έκυμαίνοντο μεταξύ (3, 28-4, 92) μ X (3, 28-5, 74) μ διά τήν καλλιίεργειαν Α-3δ, μεταξύ (3, 28-6, 56) μ X (3, 28-6, 56) μ διά τήν καλλιίεργειαν Β-3γ και μεταξύ (3, 28-4, 92) μ X (3, 28-4, 92) μ διά τήν καλλιίεργειαν Β-3ε.

Ψευδομυκήλιον δέν έσχημάτιζον εις ούδεμίαν περίπτωση, ένώ αί μετασποράί διά χαραγής ήσαν χρώματος λευκοφαίου στιλπνου και κατέληγον εις λοβώδες χείλος άπηλλαγμένον ψευδομυκηλιακών ύφών.

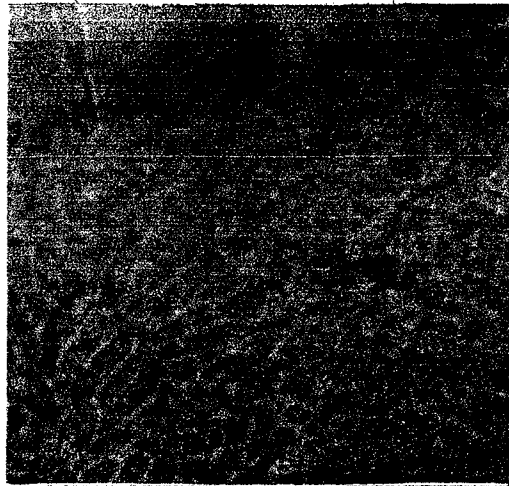
Από πλευράς βιοχημικών χαρακτήρων και αι τρείς καθαραί καλλιέργειαι ένεφανίσθησαν όμοιόμορφοι, ήτοι άρνητικά ως προς την άφομοίωσιν νιτρικού καλίου, ως μόνης πηγής άζώτου, και θετικά ως προς την άφομοίωσιν μόνον της γλυκόζης και της σακχαρόζης. Τα ίδια σάκχαρα έζύμωνον έντόνωσ έντός της πρώτης από του έμβολιασμού έβδομάδος και έπιπλέον την ραφινόζην κατά 1/3. Η καλλιέργεια A-3δ άφομοίωσεν άσθενώς και μέ καθυστέρησιν την μάτίζην.

Έκ των τριών καλλιεργειών ή πρώτη A-3δ διεκρίθη από τάς δύο ύπολοίπους, ως έκ του σχηματισμού άσκών φερόντων άγόνους έκβλαστήσεις και περικλειόντων 2 ή 3 και, σπανίως, 4 σφαιρικά άσκοσπόρια. Χαρακτηριστικά ήσαν άκόμη εις τάς δύο τελευταίας καλλιεργείας αι μικράι άλύσεις κυττάρων, πολλά των όποιων έφερον και έκβλαστήσεις. Αι έν λόγω άλύσεις δέν είναι χαρακτηριστικά διά τό τυπικόν είδος, ως τουτο περιγράφεται εις την κλειδα ταξινομήσεως των ζυμών των Lodder και Kreger-Van Rij (1952).

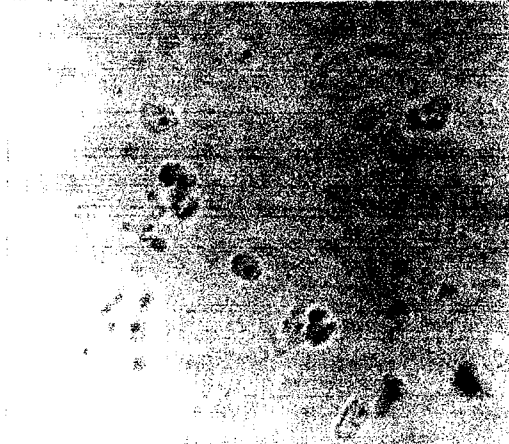
Αι καλλιέργειαι αυται θα ήδύναντο να καταταγούν εις τό είδος *Saccharomyces cerevisiae*, συμφώνως προς την νεώτεραν κλειδα ταξινομήσεως των ζυμών (Lodder, 1970). Αμφότεραι, όμως, αι καλλιέργειαι αυται άπωλέσθησαν έν τη πορεία της έργασίας και δέν κατέστη δυνατή ή διεξαγωγή των συμπληρωματικών δοκιμών διά τυχόν κατάταξίν των εις τό είσαχθέν νέον είδος ζύμης.

2) Καλλιέργειαι του γένους *Hansenula*

Εις τό γένος τουτο κατετάγησαν έξ έν συνόλω καθαί ραί καλλιέργειαι ύπό διακριτικά B-2β, B-3δ, B-4α, B-4β, B-5α και B-6β, άπασαι άπομονωθείσαι από άλλην κίτρων βιομηχανικής έπεξεργασίας. Κοινόν χαρακτηριστικόν όλων ήτο ό σχηματισμός πιλομόρφων, κατά κανόνα, άσκοσπορίων και, κατ' έξαιρέσιν, σφαιρικών, γυμνών και, σπανίως, έντός άσκών. Έξαιρέσιν άπετέλεσεν ή καλλιέργεια B-4β τά σπόρια της όποίας ήσαν σχήματος κρόνου (*saturnus*). Εις τάς σελίδας 128 και 129, εις μέν τάς εικόνας 12, 14 και 16 έμφαίνονται άσκόβ και άσκοσπόρια των καλλιεργειών B-2β, B-4α και B-6β, εις δέ τάς εικόνας 11, 13 και 15, ψευδομυκήλιον των ίδιων καλλιεργειών.



Εικ. 11. Ψευδομυκήλιον
της καλλιεργείας Β-2β
υπό καταδυτικού φακόν: X1000

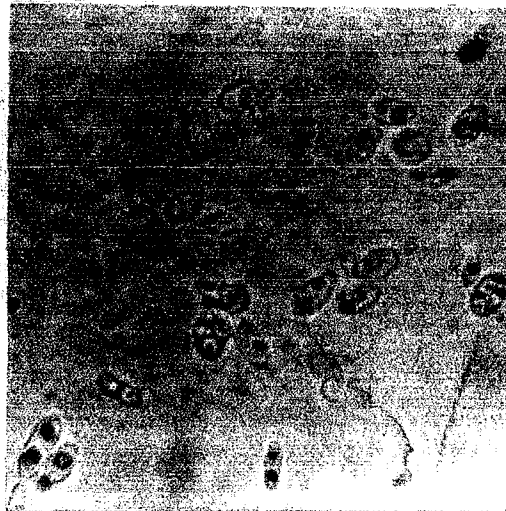


Εικ. 12. Άσκοι και άσπο-
σπόρια της καλλιεργείας Β-2β
υπό καταδυτικού φακόν: X 1000

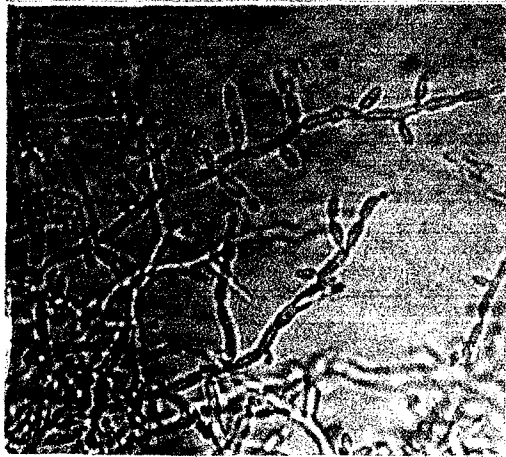


Εικ. 13. Ψευδομυκήλιον
της καλλιεργείας Β-4α
υπό καταδυτικού φακόν: X1000

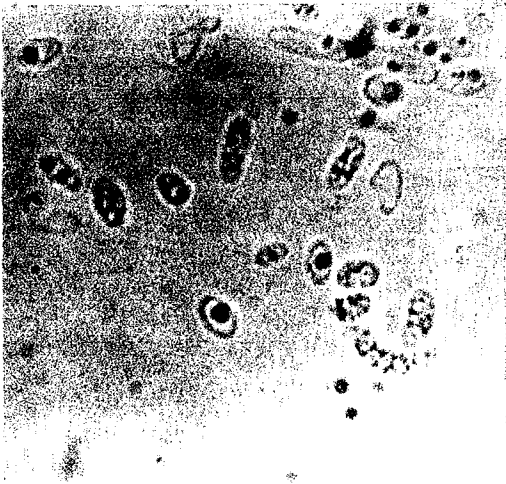
Εικ. 14. Άσκοι και άσκο-
σπόρια τής καλ-
λιεργείας Β-4α
ύπό καταδυτικόν
φακόν: X 1000



Εικ. 15. Ψευδομυκήλιον
τής καλλιερ-
γείας Β-6β
ύπό φακόν με-
σαίας μεγεθύν-
σεως : X 400



Εικ. 16. Άσκοι και άσκο-
σπόρια τής καλ-
λιεργείας Β-6β
ύπό καταδυτικόν
φακόν: X 1000



Είς ύγρόν υπόστρωμα έκχυλίσματος βύνης έσχημάτιζον πλήρη δακτύλιον καί ένίοτε νησίδας (ώς ή καλλιέργεια Β-5α), ούδέποτε, όμως, μεμβράνην καλύπτουσαν τήν έλευθέραν έπιφάνειαν. Τά κύτταρα ήσαν σφαιρικά έως ώοειδής, μεμονωμένα, ανά δύο καί, σπανίως, είς άλύσεις, αί διαστάσεις τών όποίων έκυμαίνοντο μεταξύ (4, 14-6, 56) μ X (4, 92-6, 56) μ διά τήν καλλιέργειαν Β-2β, μεταξύ (3, 28-8, 20) μ X (4, 92-8, 20) μ διά τήν καλλιέργειαν Β-3δ, μεταξύ (4, 92-8, 20) μ X (4, 92-9, 84) μ διά τήν καλλιέργειαν Β-4α, μεταξύ (3, 28-4, 92) μ X (4, 92-8, 20) μ διά τήν καλλιέργειαν Β-4β, μεταξύ (4, 92-8, 20) μ X (4, 92-8, 50) μ καί μεταξύ (4, 10-6, 56) μ X (4, 92-8, 20) μ διά τάς καλλιέργειας Β-5α, Β-6β.

Ψευδομυκήλιον έσχημάτιζον καί αί έξ καθαρά καλλιέργειαι υπό τήν καλυπτρίδα, ήτο δέ τοϋτο άφθονον, τύπου *Mycotoxuloides*, ήτοι μέ κύτταρα κυλινδρικά, είς τήν περιοχήν τών κεντρικών διακλαδώσεων, καί μέ σφαιρικά έως ώοειδής, είς τήν περιοχήν τών δευτερευουσών διακλαδώσεων. Αί μεμονωμένα άποικία επί στερεού θρεπτικού ύλικού έκχυλίσματος βύνης ήσαν μεγάλου έως μετρίου μεγέθους, αναλόγως τών περιπτώσεων, σχήματος κυκλικού, στιλπνά γαλακτόχροοι, αί όποια κατέληγον είς όμαλήν καί πλήρη περίμετρον. Αί άποικία ήσαν επίπεδοι είς τάς καλλιέργειας Β-2β, Β-4β καί Β-5α καί έλαφρώς κυρτά μέ σαφώς ήγερμένον τό μέσον των είς τάς καλλιέργειας Β-3δ, Β-4α καί Β-6β. Η ύφή ήτο, είς όλας τάς περιπτώσεις, πηκτώδης καί τά κύτταρα διεσπείροντο είς σταγόνα ύδατος καί έσχημάτιζον γαλάκτωμα. Διαφορά άκρόμη έσημειώθη, ως πρός τόν σχηματισμόν ψευδομυκηλιακών ύφών, περίξ τών μεμονωμένων άποικιών, αί όποια ένεφανίζοντο υπό μορφήν περιμετρικής άλω περισσότερο φαειού χρώματος από ό, τι ή καθ' αυτό άποικία. Τοιαύτη περιμετρική άλω παρατηρήθη είς τάς καλλιέργειας Β-2β, Β-4α καί Β-5α, ούχι, όμως, είς τάς καλλιέργειας Β-3δ, Β-4β καί Β-6β. Έξ άλλου, αί μετασποράι διά χαραγής ήσαν αναπτύξεις λευκάι, γαλακτόχροοι μέ γλοιώδη εμφάνισιν, αί όποια κατέληγον πάντοτε είς λοβώδες χείλος. Είς τό σημεί-

ον τούτο άλλοτε μὲν ἦσαν καταφανεῖς αἱ ψευδομυκηλιακαὶ ὑφαλ (καλλιέργειαι B-2β, B-4α καὶ B-5α) καὶ άλλοτε ὄχι (καλλιέργεια B-3δ, B-4β καὶ B-6β).

Εἰς ὅ,τι ἀφορᾷ εἰς τοὺς βιοχημικοὺς χαρακτῆρας καὶ αἱ ἕξ καθαρά καλλιέργειαι ἀφωμοίωνον τὸ νιτρικὸν κάλιον, ὡς μόνην πηγὴν ἀζώτου, ἀνεπτύσσοντο εἰς θρεπτικὸν ὑλικὸν ἀπουσία βιταμινῶν καὶ διέσπων τὴν ἀρβουτίνην.

Ὡς πρὸς τὴν ἀφομοίωσιν καὶ ζύμωσιν τῶν σακχάρων, αἱ πέντε καλλιέργειαι μὲ τὰ πιλόμορφα σπόρια (B-2β, B-3δ, B-4α, B-5α καὶ B-6β) ἀφωμοίωνον μὲν τὴν γλυκόζην, σακχαροδόζην καὶ μαλτόζην, ἐζύμωνον δὲ τὰ ἴδια σάκχαρα μὲ διαφοράν μόνον ὡς πρὸς τὸν ρυθμὸν ζυμώσεως τῆς μαλτόζης, δοθέντος ὅτι αἱ καλλιέργειαι B-2β, B-3δ καὶ B-4α ἐζύμωνον αὐτὴν ταχέως καὶ ἐντόνως, ἐνῶ αἱ καλλιέργειαι B-5α καὶ B-6β μὲ καθυστέρησιν, ἀλλὰ ἰσχυρῶς. Ἀπασαὶ δὲ ἀφωμοίωνον τὴν ἰνουλίνην. Μὲ βάσιν τοὺς ὡς ἄνω μορφολογικοὺς καὶ βιοχημικοὺς χαρακτῆρας αἱ πέντε αὐταὶ καθαρά καλλιέργειαι κατετάγησαν εἰς τὸ εἶδος *Hansenula anomala* var. *anomala*. Σημειωτέον, ὅτι αἱ πέντε αὐταὶ καλλιέργειαι ἐζύμωνον καὶ τὴν ραφινόζην κατὰ τὸ 1/3.

Ἡ καλλιέργεια B-4β, ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὰς ὑπολοίπους, δὲν ἐζύμωνεν οὔτε ἀφωμοίωνε τὴν μαλτόζην καὶ ὡς ἐκ τούτου κατετάγη εἰς τὸ εἶδος *Hansenula saturnus* varietas *saturnus*.

3) Καλλιέργειαι τοῦ γένους *Pichia*

Εἰς τὸ γένος τούτο κατετάγησαν τρεῖς καθαρά καλλιέργειαι ὑπὸ διακριτικὰ A-2ε, A-4γ καὶ B-2γ. Ἐκ τούτων αἱ δύο πρῶται ἀπεμονώθησαν ἀπὸ ἄλμην κίτρων ἐπεξεργασθέντων ὑπὸ συνθήκας ἐργαστηριακῆς καὶ ἡ τρίτη ἀπὸ ἄλμην κίτρων βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας.

Κοινὸν χαρακτηριστικὸν ὄλων ἦτο ὁ σχηματισμὸς ἀσκοσπορίων σχήματος πύλου, σφαιρικῶν ἢ ἡμισφαιρικῶν καὶ ἡ ἀδυναμία των νὰ ἀφομοιώνουν τὸ νιτρικὸν κάλιον, ὡς μόνην πηγὴν ἀζώτου. Τὰ ἀσκοσπόρια ἦσαν γυμνά εἰς τὴν καλλιέργειαν A-4γ καὶ γυμνά ἢ ἐντὸς ἀσκῶν εἰς τὰς καλλιέργειας A-2ε καὶ B-2γ (βλ. εἰκ. 18 καὶ 21, σελ. 133 καὶ 134).

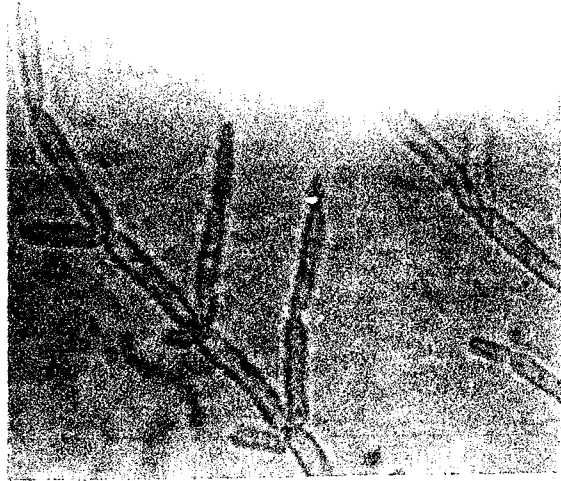
Είς υγρόν θρεπτικόν υλικόν έκχυλίσματος βύνης έ-
σχημάτιζον, έντός των πρώτων ήμερών, παχείαν μεμβράνην
βουτυρώδους συστάσεως, ή όποία μέ τήν πάροδον του χρό-
νου καθίζανε προς τον πυθμένα. Κατ' έξαιρέσιν είς τήν
καλλιέργειαν Β-2γ ήτο αύτη λεπτή και ένλοτε μή πλήρης.
Είς τό ίδιον θρεπτικόν υλικόν τά κύτταρα ήσαν διαφό-
ρων σχημάτων και διαστάσεων, ήτοι ώοειδή, έπιμήκη ώοει-
δή και κυλινδρικά έως σχήματος ραβδίου. Αί διαστάσε-
ως αυτών εκυμάνθησαν μεταξύ (2,46-4,92) μ X (5,74-8,20) μ
διά τήν καλλιέργειαν Α-2ε, μεταξύ (2,46-4,10) μ X (5,74 έως
9,84) μ διά τήν καλλιέργειαν Α-4γ και μεταξύ (4,15 έως
6,56) μ X (6,56-9,84) μ διά τήν καλλιέργειαν Β-2γ.

Ψευδομυκήλιον έσχηματίζετο άφθονον είς όλας τάς
περιπτώσεις και ήτο πλουσίως διακλαδισμένον τύπου
Mycosandida, ήτοι μέ έπιμήκη κυλινδρικά κύτταρα και
κατά τάς κεντρικάς και κατά τάς δευτερευούσας διακλα-
δώσεις (βλ. εικ. 17, 19 και 20, σελ. 133 και 134).

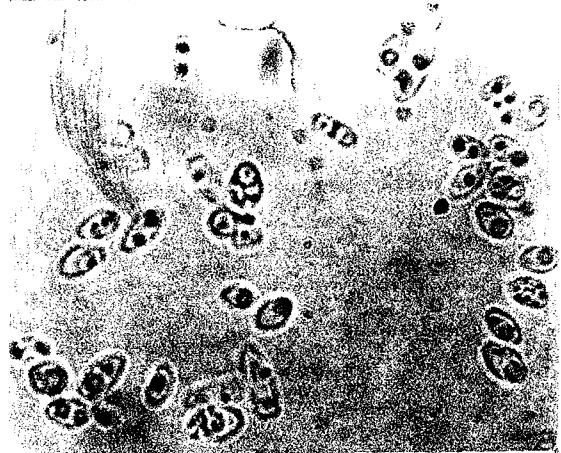
Αί μεμονωμέναί άποικίαι επί στερεού θρεπτικού υ-
λικού έκχυλίσματος βύνης ήσαν μετρίου μεγέθους, σχήμα-
τος άκανονίστου και χρώματος φαιοκαστανού. Κατέληγον
αύται είς λοβώδη περίμετρον και ήσαν συρρικνωμέναί πτυ-
χωτά, μέ έλαφρώς κυρτήν διατομήν. Είς τήν καλλιέργειαν
Β-2γ τό μέσον των άποικιών ήτο έλαφρώς ήγερμένον και
καταφανώς συρρικνωμένον, τό όποιον περιεβάλλετο από επί-
πεδον τμήμα και έν συνεχεία από έτερον συρρικνωμένον
και περισσότερον φαιού χρώματος. Η ύφή, είς όλας τάς
περιπτώσεις, ήτο πηκτώδης ξηρά, τά δέ κύτταρα διεσπεί-
ροντο μέ σχετικήν δυσκολίαν είς τό ύδωρ και δέν έσχη-
μάτιζον όμοιογενές γαλάκτωμα. Επίσης αί μετασποράί διά
χαραγής ήσαν επίπεδοι άναπτύξεις, χρώματος φαιού άκα-
θάρτου, αί όποίαι κατέληγον είς όμαλόν έως έλαφρώς λο-
βώδες χειλος. Είς τό σημείον τουτο ήσαν έκδηλοι αί μυ-
κηλιακαί ύφαί χρώματος έντόνως φαιού, ίδιαιτέρως είς
τάς καλλιεργείας Α-2ε και Α-4γ.

Ός προς τους βιοχημικούς χαρακτήρας αί δύο πρώ-
ται καλλιέργειαι Α-2ε και Α-4γ ήσαν όξειδωτικά και
άφωμοζωνον μόνον τήν γλυκόζην και ούδόλως τήν κελλο -

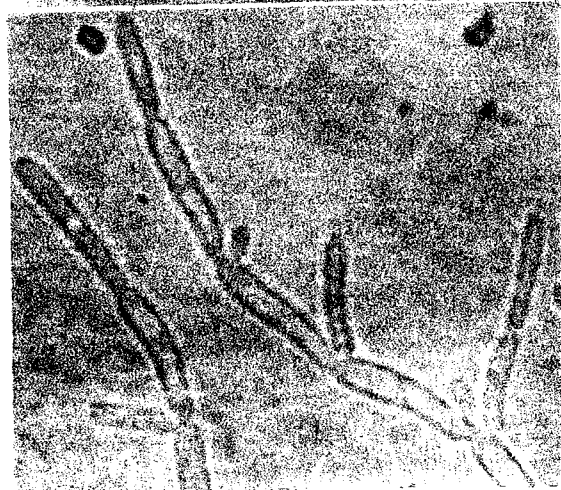
Εικ. 17. Ψευδομυκήλιον
τῆς καλλιερ -
γείας Α-2ε
ὑπό καταδυτι-
κόν φακόν: X1000

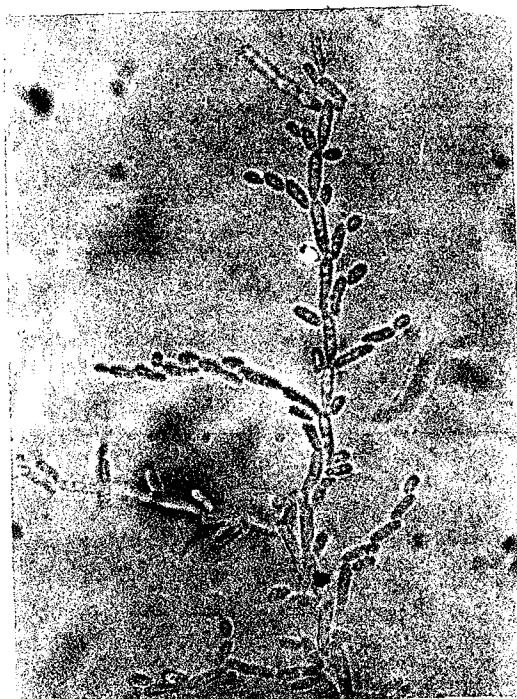


Εικ. 18. Ἄσκοι καὶ ἀσκο-
σπόρια τῆς καλ-
λιεργείας Α-2ε
ὑπό καταδυτικόν
φακόν: X 1000



Εικ. 19. Ψευδομυκήλιον
τῆς καλλιερ -
γείας Α-4γ
ὑπό καταδυτι-
κόν φακόν: X1000





Εικ.20.Ψευδομυκήλιον
τῆς καλλιερ -
γείας B-2γ ὑπό
φακόν μεσαίας
μεγεθύνσεως :
X 400



Εικ.21. Ἄσκοι καὶ ἄσκο-
σπόρια τῆς καλ-
λιεργείας B-2γ
ὑπό καταδυτικόν
φακόν: X 1000

βιοζην, τόν μαννίτην καί τόν γλυκίτην. Αί ἴδιαι δέν διέσπων τήν ἄρβουτίνην καί ἀνεπτύσσοντο εἰς θρεπτικόν ὕλικόν ἄνευ βιταμινῶν. Μέ βάσιν τά ὡς ἄνω μορφολογικά καί φυσιολογικά χαρακτηριστικά κατετάγησαν εἰς τό εἶδος *Pichia membranaefaciens*.

Ἡ τρίτη καλλιέργεια Β-2γ ἐζύμωσε ταχέως καί ἀφωμόλωνε τήν γλυκόζην. Ἡ ἴδια δέν διέσπα τήν ἄρβουτίνην καί δέν ἀφωμόλωνε τήν κελλοβιοζην, τόν ἐρυθρίτην, τόν μαννίτην καί τόν γλυκίτην, ἀφωμόλωνεν ὅμως τήν ξυλόζην. Μέ βάσιν τά ἀνωτέρω μορφολογικά καί φυσιολογικά χαρακτηριστικά κατετάγη εἰς τό εἶδος *Pichia fermentans*.

4) Καλλιέργειαι τοῦ γένους *Kloeckera*

Εἰς τό γένος τοῦτο κατετάγησαν πέντε ἐν συνόλῳ καθαρά καλλιέργειαι, ὑπό τά διακριτικά Α-2, Α-2α, Α-2β, Α-4α καί Α-4β, αἱ ὁποῖαι εἶχον ἀπομονωθῆ ἀπό τήν ἐξωτερικήν ἐπιφάνειαν τῶν κίτρων, ἥτοι ἀπό ἄλλην τῶν ἐπεξεργασθέντων ὑπό ἐργαστηριακᾶς συνθήκας. Αἱ καλλιέργειαι αὗται ἅπασαι κατετάγησαν εἰς τό εἶδος *Kloeckera apiculata*.

α) Καλλιέργειαι τοῦ εἴδους

Kloeckera apiculata

Εἰς τό εἶδος τοῦτο κατετάγησαν αἱ προαναφερθεῖσαι πέντε καθαρά καλλιέργειαι. Κοινόν χαρακτηριστικόν ὧν ἦτο ὁ σχηματισμός ἀπιομόρφων ἢ λεμονοειδῶν κυττάρων μέ δύο ταυτοχρόνους ἐπί τῶν πόλων ἐκβλαστήσεις καί ἡ μικρή ζυμωτική των ἱκανότης.

Τά κύτταρα τῶν ἐν λόγω καλλιεργειῶν εἰς ὑγρόν θρεπτικόν ὕλικόν ἐκχυλίσματος βύνης ἐνεφανίζοντο, κατὰ κανόνα μεμονωμένα, σπανίως ἀνά δύο καί, οὐδέποτε, εἰς ἀλύσεις. Αἱ διαστάσεις ἐκυμαίνοντο μεταξύ (1,64-3,28) μ X (3,28-11,48) μ διά τήν καλλιέργειαν Α-2, μεταξύ (1,64 ἕως 3,28) μ X (1,64-6,56) μ διά τήν καλλιέργειαν Α-2α, μεταξύ (1,64-4,10) μ X (4,92-6,56) μ διά τήν καλλιέργειαν Α-2β, μεταξύ (2,46-3,28) μ X (4,92-7,38) μ διά τήν καλλιέργειαν Α-4α καί μεταξύ (2,46-4,10) μ X (4,92-9,84) μ διά τήν

καλλιέργειαν Α-4β. Τό τυπικόν σχῆμα ἦτο λεμονοειδέες ἢ ἀπιδόμορφον χωρίς, ὅμως, νά εἶναι ἀσυνήθη καί τά ἀντωειδοῦς, τά ἐπιμήκη-ώοειδοῦς καί τά κυλινδρικά. Εἰς τό ἴδιον θρεπτικόν ὑλικόν ἐσχημάτιζον ἕζημα καί μή πλήρη δακτύλιον.

Αἱ μεμονωμένα ἀποικίαι ἐπὶ στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἐκχυλίσματος βύνης ἦσαν μετρίου ἕως μικροῦ μεγέθους, ἐπίπεδοι, στρογγύλαι, καταλήγουσαι εἰς ἐλαφρῶς ἀνώμαλον περίμετρον. Τό χρῶμα των ἦτο φαιόν, στιλπνόν καί ἡ ὑφή των μαλακή, πηκτώδης, μέ ἀποτέλεσμα νά διασπείρωνται τά κύτταρα εὐκόλως εἰς σταγόνα ὕδατος καί νά σχηματίζουσι γαλάκτωμα. Ἐξ ἄλλου, αἱ μετασποραί διὰ χαραγῆς ἦσαν ἀναπτύξεις ἐπίπεδοι, μικροῦ πάχους, λεῖαι καί χρώματος βαθέος φαιοῦ. Τό χεῖλος ἦτο ἐλαφρῶς ἀνώμαλον καί τό χρῶμα ἐλάχιστα στιλπνόν.

Ψευδομυκήλιον δέν ἐσχημάτιζεν οὐδεμίαν τῶν πέντε καλλιεργειῶν, οὔτε καί ἀλύσεις κυττάρων.

Ἐπίσης, ἡ ἀφομοιωτική των ἱκανότης περιωρίζετο μόνον εἰς τήν γλυκόζην. Τό ἴδιον σάκχαρον ἐζύμωνον, ταχέως καί ἐντόπως, ἐντός τῆς πρώτης ἀπό τοῦ ἐμβολιασμοῦ ἑβδομάδος, ἐνῶ ἅπασαι δέν ἀφομωῶνόν τό νιτρικόν κάλιον, ὡς μόνον πηγὴν ἀζώτου.

Καλλιέργειαι τοῦ εἴδους *Kloeckera apiculata* δέν ἀπεμονώθησαν ἀπό ἄλλην κίτρων βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας καί τοῦτο, ἀσφαλῶς, ὀφείλεται εἰς τήν εὐαισθησίαν των ἔναντι τοῦ χλωριούχου νατρίου, τοῦ διοξειδίου τοῦ θείου καί ἄλλων ἀντιξοοτήτων τοῦ περιβάλλοντος. Μεγάλην, ἐπίσης, εὐαισθησίαν ἐνεφάνισαν αἱ ἐν λόγῳ καθααί καλλιέργειαι κατὰ τήν διατήρησίν των ἐντός τοῦ φυγείου καί τήν μεταφοράν των εἰς νέον θρεπτικόν ὑλικόν, ἀπωλεσθεῖσαι εἰς τό σύνολόν των κατὰ τήν πορείαν τῆς ὅλης ἐρεῦνης μας.

5) Καλλιέργειαι τοῦ γένους *Candida*

Δέκα ἕξ ἐν συνόλῳ καθααί καλλιέργειαι κατετάγησαν εἰς τό γένος *Candida*, βάσει τῶν μορφολογικῶν, βοτανικῶν καί φυσιολογικῶν των χαρακτηριστικῶν. Αἱ καλλιέργειαι αὗται δέν ἐσχημάτιζον ἀσκοσπόρια ὑπό τάς ἡμετέ-

ρας συνθήκας εργασίας, ενώ έσχημάτιζον ψευδομυκήλιον και ούδέποτε άρθροσπόρια. Τά βλαστικά κύτταρά των ήσαν διαφόρων σχημάτων και διαστάσεων, ούδέποτε, όμως, λεμονοειδή ή άπιόμορφα. Τέλος, οι φυσιολογικοί των χαρακτηρες διέφερον από της μιας καθαρής καλλιέργειας εις την άλλην. Έκ των καλλιεργειών τούτων δύο κατετάγησαν εις τό είδος *Candida pulcherrima* (*Metschnikowia pulcherrima*) τρεις εις τό είδος *Candida membranaefaciens*, μία εις τό είδος *Candida guilliermondii*, δύο εις τό είδος *Candida parapsilosis*, τρεις εις τό είδος *Candida krusei*, μία εις τό είδος *Candida melini*, ενώ τέσσαρες κατετάγησαν εις τό είδος *Candida magii*. Τά ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των καθ' ένα στα καλλιεργειών είχον ως άκολούθως:

α) Κ α λ λ ι έ ρ γ ε ι α ι τ ο υ ε ί δ ο υ ς

Candida pulcherrima (*Metschnikowia pulcherrima*)

Αί δύο καθαρά καλλιέργειαι υπό διακριτικά Α-1γ και Α-3α, αί όποίαι κατετάγησαν εις τό είδος τούτο, άπεμονώθησαν από κίτρα έπεξεργασθέντα υπό εργαστηριακάς συνθήκας. Κοιλόν χαρακτηριστικόν ήτο ή έκκρισις υπό των άποικιών μιας έλαφρώς ροδίνης χρωστικής εις θρεπτικόν υλικόν PDA, έμφανιζομένης υπό μορφήν άλω, και τά κύτταρα τύπου *pulcherrima*.

Τά βλαστικά κύτταρα εις υγρόν θρεπτικόν υλικόν έκχυλίσιματος βύνης ήσαν σφαιρικά, βραχεία-ώοειδή έως έπιμήκη-ώοειδή. Τά τυπικά σφαιρικά ήσαν τά μεγαλύτερα εις μέγεθος και πλήρη σταγόνων έλαίου (κύτταρα τύπου *pulcherrima*). Σχεδόν πάντοτε, ένεφανίζοντο μεμονωμένα, σπανίως ανά δύο και αί διαστάσεις έκυμαίνοντο μεταξύ (2,46-6,56) μΧ 3,28 έως 7,38) μ διά την καλλιέργειαν Α-1γ και μεταξύ (2,46 έως 4,10) μΧ (2,48-5,74) μ διά την καλλιέργειαν Α-3α.

Αί μεμονωμένοι άποικίαι επί στερεού θρεπτικού υλικού έκχυλίσιματος βύνης ήσαν μετρίου μεγέθους κυκλικαί και κατέληγον εις όμαλήν περιφέρεια. Τό χρώμα των ήτο λευκόφαιον στιλπνόν, μέ τό μέσον των καταφανώς ήγεγμένον. Χαρακτηριστική ήτο άκόμη και μία άβαθής αύλαξ, ή όποία διήκε καθ' άπασαν την περίμετρον. Η ύφή ήτο μαλακή παστώ -

δης καί τά κύτταρα διεσπείροντο εύκόλως εἰς ὕδωρ καί ἐσχημάτιζον γαλάκτωμα. Ἐπίσης, αἱ μετασποραί διά χαραγῆς ἦσαν ἐπίπεδοι ἀναπτύξεις, λευκόφαίλου στιλπνοῦ χρώματος, αἱ ὁποῖαι κατέληγον εἰς λοβῶδες χεῖλος.

Τυπικόν ψευδομυκήλιον δέν ἐσχημάτιζε καμμία ἐκ τῶν δύο καλλιεργείων, ἀλλά μόνον ὑποτυπῶδες, εἰς τό χεῖλος τῆς χαραγῆς ὑπό τήν καλυπτρίδα. Ἐπίσης, εἰς ὑγρόν θρεπτικόν ὑλικόν ἐκχυλίσματος βύνης ἡ μέν πρώτη καλλιέργεια οὐδέν ἐσχημάτιζεν, ἡ δέ δευτέρα λεπτότατον δακτύλιον.

Τέλος, εἰς ὃ, τι ἀφορᾷ εἰς τούς βιοχημικούς χαρακτῆρας καί αἱ δύο καλλιέργειαι ἀφωμοίωνον τήν γλυκόζην, τήν γαλακτόζην, τήν μαλτόζην καί τήν σακχαρόζην, οὐχί, ὅμως, τό νιτρικόν κάλιον, ὡς μόνην πηγὴν ἀζώτου. Αἱ δύο καλλιέργειαι, ἐξ ὅλων τῶν σακχάρων, ἐζύμωννον μόνον τήν γλυκόζην.

Τό εἶδος τοῦτο, εἰς τήν νέαν κλεῖδα ταξινομήσεως, ἔχει μεταφερθῆ εἰς τὰς σποριογόνους ζύμας ὑπό τό ὄνομα *Metchnikowia pulcherrima*. Χαρακτηριστικόν τοῦ εἴδους εἶναι τά χλαμυδοσπόρια, ἥτοι τά κύτταρα τύπου

β) Κ α λ λ ι ἔ ρ γ ε ι α ι τ ο ὦ ε ἶ δ ο υ ς
Candida membranaefaciens

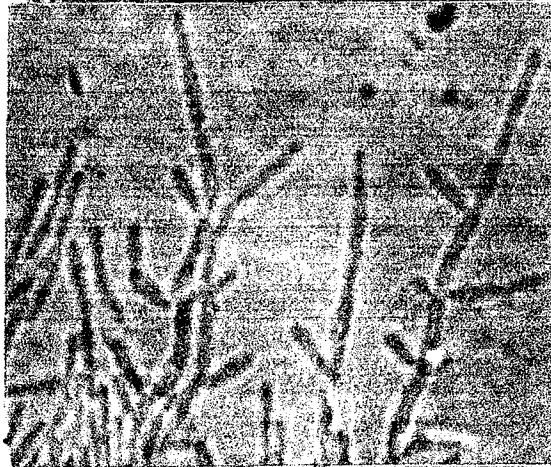
Εἰς τό εἶδος τοῦτο κατετάγησαν τρεῖς καθαραί καλλιέργειαι ὑπό τὰ διακριτικά A-2γ₁, A-2γ₂ καί A-3γ, αἱ ὁποῖαι, ἐν τῷ συνόλω των, ἀπεμονώθησαν ἀπό ἄλμην κίτρων ἐπεξεργασθέντων ὑπό συνθήκας ἐργαστηριακᾶς. Κοινόν χαρακτηριστικόν ἀπασῶν τῶν ὡς ἄνω ἀπομονώσεων ἦτο ἡ ηὔξημένη ζυμωτική ἱκανότης διά τὰ περισσότερα τῶν σακχάρων καί ὁ σχηματισμός ἀφθόνου ψευδομυκηλίου (βλ. εἰκ. 22, 23 καί 24, σελ. 139). Θά πρέπει, ἐν τούτοις, νά σημειωθῆ ὅτι αἱ μικροσκοπικαί διαφοραί μεταξύ τούτων ἦσαν μεγάλαι.

Εἰς ὑγρόν θρεπτικόν ὑλικόν ἐκχυλίσματος βύνης ἐσχημάτιζον βλαστικά κύτταρα διαφόρων σχημάτων καί διαστάσεων, μεταξύ τῶν ὁποίων ἐδέσποζον τὰ κυλινδρικά καί τὰ ὠοειδῆ, ἐνῶ τά κύτταρα τῆς καλλιέργειας A-2γ₁ ἦσαν ἐπιμήκη ἕως κυλινδρικά καί τῆς καλλιέργειας A-2γ₂, σφαιρικά μέ στα

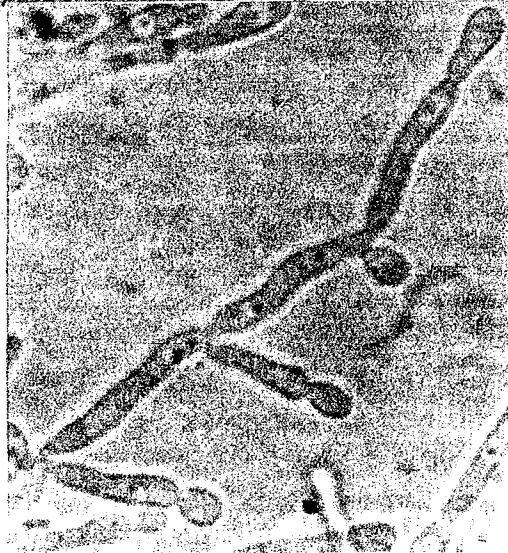
Εικ. 22. Ψευδομυκήλιον
τῆς καλλιερ -
γείας A-2γ₁
ὑπὸ φακὸν με-
σαίας μεγεθύν-
σεως: X 400



Εικ. 23. Ψευδομυκήλιον
τῆς καλλιερ -
γείας A-2γ₂
ὑπὸ καταδυτικὸν
φακὸν: X 1000



Εικ. 24. Ψευδομυκήλιον
τῆς καλλιερ -
γείας A-3γ
ὑπὸ καταδυτικὸν
φακὸν: X 1000



γδνα έλαιου. Ίδιαιτέρως μικρά ήσαν τά κύτταρα τής καλλι-
εργείας Α-3γ.

Αί διαστάσεις τών κυττάρων έκυμάνθησαν μεταξύ (2,46
έως 4,10)μ Χ (4,92-12,8)μ διά τήν καλλιέργειαν Α-2γ1, με-
ταξύ (2,46-4,10)μ Χ (6,50-11,20)μ διά τήν καλλιέργειαν
Α-2γ2 καί μεταξύ (2,46-4,10)μ Χ (2,46-5,74)μ, διά τήν καλ-
λιέργειαν Α-3γ. Είς τό ίδιον θρεπτικόν ύλικόν αί άπομονώ-
σεις Α-2γ1, καί Α-2γ2 έσχημάτιζον παχειάν μεμβράνην, βου-
τυρώδους συστάσεως, έντός τής πρώτης από του έμβολιασμού
έβδομάδος. Καί μόνον ή καθαρή καλλιέργεια Α-3γ έσχημάτι-
ζεν άντί μεμβράνης πλήρη δακτύλιον καί ένίοτε νησίδας.

Αί μεμονωμέναί άποικίαι επί στερεού θρεπτικού ύλι-
κού έκχυλίσματος βύνης τής καλλιέργειας Α-2γ1 ήσαν μι-
κρού μεγέθους, στρογγύλαι, συρρικνωμέναί, αί όποίαι κατέλη-
γον είς περιφέρειαν όμαλήν κροσσωτήν, ώς έκ του σχηματι-
σμού ψευδομυκηλιακών ύφών.

Τό μέσον τών άποικιών ήτο ήγερμένον, συρρικνωμένον,
χρώματος κιμωλίας, ένώ ή περιμετρική ζώνη ήτο χρώματος φαι-
ου καί έκειτο είς στάθμην χαμηλοτέραν από ό,τι τό ύπόλοι-
πον τμήμα. Η ύφή ήτο παστώδης, μάλλον σκληρά, καί τά κύτ-
ταρα έσχημάτιζον δυσκόλως γαλάκτωμα, όσάκις διεσπείροντο
είς σταγόνα ύδατος.

Αντιθέτως, αί μεμονωμέναί άποικίαι τής καλλιέργειας
Α-2γ2 ήσαν μικρού μεγέθους, στρογγύλου σχήματος, γαλακτό-
χροοι στιλπναί, κυρτής διατομής, αί όποίαι κατέληγον είς
όμαλήν περίμετρον υπό μορφήν άλλω. Η ύφή των ήτο παστώ-
δης καί τά κύτταρα, μεταφερόμενα είς σταγόνα ύδατος, έσχη-
μάτιζον εύκόλως γαλάκτωμα.

Τέλος, αί άποικίαι τής καλλιέργειας Α-3γ ήσαν με-
τρίου μεγέθους, όμοίως στρογγύλαι, έλαφρώς κυρτής διατο-
μης, αί όποίαι κατέληγον είς όμαλήν περιφέρειαν. Έν τού-
τοις, μέ τήν πάροδον του χρόνου, ή περίμετρος τών άποικι-
ών ένεφανίζετο έλαφρώς "ξεφτισμένη", ώς έκ του σχηματι-
σμού προεκβολών υπό μορφήν όδόντων καί έπιπλέον άναπτύ-
ξεως ψευδομυκηλίου υπό μορφήν άλλω. Τό μέσον τών άποικιών
ήτο έλαφρώς ήγερμένον καί ή ύφή αύτών ήτο παστώδης, μέ

κύτταρα εύκόλως διασπειρόμενα εις τό ύδωρ καί σχηματίζοντα όμοιογενές γαλάκτωμα.

Ανομοιομορφίαν ένεφάνισαν καί αι μετασποραί δια χαραγής. Ούτως, ή ανάπτυξις τής καλλιέργειας Α-2γ₁ ήτο έλαφρώς ήγερμένη, κατά τόν κεντρικόν άξονα, ή όποια κατέληγεν εις λοβώδες καί κροσσωτόν χειλος. Τό χρώμα ήτο λευκόφαιον κατά τό χειλος, όπου ήσαν έκδηλοι αι μυκηλικά υφαί. Είς τήν καλλιέργειαν Α-2γ₂ ή ανάπτυξις ήτο έλαφρώς κοίλη καί κατέληγεν εις χειλος μέ βαθείς λοβούς. Τό χρώμα ήτο λευκόφαιον, έξαιρέσει του χείλους, τό όποιον ήτο χρώματος λευκοϋ κιμωλίας, ως έκ της άναπτύξεως τών ψευδομυκηλιακών υφών. Τέλος, εις τήν καλλιέργειαν Α-3γ, ή ανάπτυξις ήτο λευκόφαιος γλοιώδης μέ έλαφρώς ανώμαλον έπιφάνειαν, ή όποια κατέληγεν εις λοβώδες χειλος.

Καί αι τρεΐς άπομονώσεις έσχημάτιζον άφθονον ψευδομυκήλιον καί ήτο τύπου *Mycocandida* εις τάς καλλιέργειας Α-2γ₁ καί Α-2γ₂ καί τύπου *Mycotoryloides* εις τήν καλλιέργειαν Α-3γ. Είς τήν πρώτην περίπτωση τα ψευδομυκηλιακά τμήματα ήσαν έπιμήκη κυλινδρικά καί κατά τόν κορμόν καί τάς διακλαδώσεις, ένω εις τήν δευτέραν ήσαν έκδηλα τά συσσωματώματα σφαιρικών βλαστοσπορίων εις τήν περιοχήν τών δευτερευουσών διακλαδώσεων.

Είς όπι άφορά εις τούς βιοχημικούς χαρακτήρας καί αι τρεΐς καθαρά καλλιέργειαι ένεφανίσθησαν όμοιόμορφοι καί άφωμοίωνον μέν τήν γλυκόζην, τήν γαλακτόζην, τήν σακχαρόζην καί τήν μαλτόζην, έξύμνον δέ τά τρία πρώτα σάκχαρα (πλήν τής μαλτόζης) καί έπιπλέον τήν ραφινόζην κατά 1/3. Τό νιτρικόν κάλιον δέν άφωμοίωνον, ως μόνην πηγήν άζώτου. Αί ίδιαι καλλιέργειαι άφωμοίωνον τήν κελλοβιδόζην, τήν ραφινόζην, τήν μελιβιδόζην, τήν μελιζιτόζην, τόν έρυθρίτην καί τήν ίνουλίτην, ούχι, όμως, τόν ίνοσίτην.

Μέ βάσιν τά ως άνω μορφολογικά καί φυσιολογικά χαρακτηριστικά κατετάγησαν άπασαι εις τό είδος *Candida membranaefaciens*, τό είσαχθέν εις τήν νέα κλειδα ταξινομήσεως τών ζυμών.

γ) Καλλιέργεια του είδους

Candida guilliermondii

Είς τό είδος τουτο κατετάγη μία μόνον καλλιέργεια μέ διακριτικά A-2ζ, ή όποία άπεμονώθη άπό άλλην κίτρων έπεξεργασθέντων υπό συνθήκας έργαστηριακάς.

Είς ύγρόν θρεπτικόν ύλικόν έκχυλίσματος βύνης έσχημάτιζε βλαστικά κύτταρα διαφόρων σχημάτων, ήτοι κυλινδρικά έως έπιμήκη καί έλάχιστα ώοειδή. Αί διαστάσεις τουτων έκυμάνθησαν μεταξύ (2,46-4,92) μ X (6,56-16,40) μ. Είς τό ίδιον θρεπτικόν ύλικόν έσχημάτιζε λεπτήν μεμβράνην.

Αί μεμονωμέναί άποικίαι επί στερεοῦ θρεπτικοῦ ύλικου έκχυλίσματος βύνης ήσαν μεγάλου μεγέθους, στρογγύλαι, μέ τό κεντρικόν των τμήμα έπίπεδον, έλαφρῶς ήγερμένον καί περιβάλλοντο υπό άλλω, χρώματος λευκοῦ (κιμωλίας), έν τῇ όποία ήσαν καταφανείς αί μυκηλιακαί ύφαί. Η ύφή ήτο παστώδης καί τά κύτταρα, διασπειρόμενα είς σταγόνα ύδατος, έσχημάτιζον εύκόλως γαλάκτωμα. Η μετασπορά διά χαράγης ήτο ανάπτυξις έπίπεδος, γλοιώδης, χρώματος λευκοφαίου ή όποία, όμως, κατέληγεν είς λοβώδες χείλος χρώματος λευκοῦ, συνεπεία άναπτύξεως τῶν ψευδομυκηλιακῶν ύφῶν. Ψευδομυκήλιον έσχηματίζετο πάντοτε καί ήτο τύπου *Mycocandida*, ήτοι μέ ψευδομυκηλιακά τμήματα έπιμήκη κυλινδρικά κατά τόν κορμόν καί τάς κυρίας διακλαδώσεις (βλ. είκ. 25, σελ. 143).

Είς ό,τι άφορᾷ είς τούς βιοχημικούς χαρακτήρας ή καλλιέργεια A-2ζ άφωμοίλωνε μέν τήν γλυκόζην, τήν γαλακτόζην, τήν σακχαρόζην καί τήν μαλτόζην ούχί, όμως, τό νιτρικόν κάλιον, ώς μόνην πηγήν άζώτου, έζύμωνε δέ τά ίδια σάκχαρα καί έπιπλέον τήν ραφινόζην κατά 1/3, έξαιρέσει τῆς μαλτόζης. Χαρακτηριστικῶς έντονος ήτο ή ζύμωσις τῆς σακχαρόζης.

Η ίδια καλλιέργεια άφωμοίλωνε τήν κελλοβιδόζην, τήν ραφινόζην, τήν μελιβιδόζην, ούχί, όμως, τόν ινοσίτην καί τόν έρυθρίτην.

Μέ βάσιν τά ώς άνω μορφολογικά καί φυσιολογικά χα-



Εικ. 25. Ψευδομυκήλιον τῆς καλλιεργείας A-2ζ ὑπό φακόν μεσαίας μεγεθύνσεως : X 400

ρακτηριστικά, ἡ καλλιέργεια A-2ζ κατετάγη εἰς τό εἶδος *Candida guilliermondii* var. *guilliermondii*.

δ) Κ α λ λ ι ἔ ρ γ ε ι α ι τ ο ὦ ε ἶ δ ο υ ς
Candida parapsilosis

Εἰς τό εἶδος τοῦτο κατετάγησαν δύο καθαρά καλλιέργειαι ὑπό διακριτικά A-5α₁ καὶ A-5α₂, αἱ ὁποῖαι ἀπεμονώθησαν ἀπὸ ἄλλην κίτρων ἐπεξεργασθέντων ὑπὸ συνθήκας ἐργαστηριακῆς. Ἐνεφάνισαν αὗται ταυτότητα βιοχημικῶν χαρακτήρων, ἀλλὰ ἐλαφράν διαφοράν, ὡς πρὸς τὰ μορφολογικά χαρακτηριστικά. Οὕτως, εἰς ὑγρὸν θρεπτικὸν ὑλικὸν ἐκχυλίσματος βύνης ἐσχημάτιζον βλαστικά κύτταρα, κυλινδρικά ἕως ὠοειδῆ, διαστάσεων (1,64-4,92) μ X (4,10 ἕως 8,20) μ, προκειμένου περὶ τῆς καλλιεργείας A-5α₁ καὶ (2,46-4,92) μ X (4,92-9,02) μ, προκειμένου περὶ τῆς καλλιεργείας A-5α₂. Εἰς τό αὐτὸ θρεπτικὸν ὑλικὸν ἐσχημάτιζον πλήρη δακτύλιον ἐντὸς τῆς πρώτης ἀπὸ τοῦ ἐμβολιασμοῦ ἑβδομάδος.

Αἱ μεμονωμένα ἀποικία ἐπὶ στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ τῆς καλλιεργείας A-5α₁ ἦσαν μικροῦ μεγέθους, κυ-

κλικού σχήματος και έπιπέδου διατομής, αι οποίαι κατέληγον εις περιμετρικήν άλω. Το χρώμα των ήτο λευκόφαιον στιλπνόν και ή ύφή των παστώδης, μαλακή, μέ άποτέλεσμα να διασπείρωνται τά κύτταρα εύκόλως εις σταγόνα ύδατος και να σχηματίζουν γαλάκτωμα.

Αντιθέτως, αι άποικίαι τής καλλιεργείας A-5a₂ ήσαν μεγάλου μεγέθους, κυκλικού σχήματος, αι οποίαι κατέληγον εις καταφανώς λοβώδη περιφέρεια.

Αι άποικίαι κατά τό μέσον των ήσαν σαφώς ήγευμέναι, συρρικνωμέναι, πτυχωταί, χρώματος λευκού κιμωλίας, έξαιρέσει τής περιμέτρου, ή οποία ήτο συμπαγής, άχυρώδης και τά κύτταρα μεταφερόμενα εις σταγόνα ύδατος δέν έσχημάτιζον γαλάκτωμα.

Η μετασπορά διά χαραγής τής καλλιεργείας A-5a₁ ήτο γαλακτόχρους γλοιώδης ανάπτυξις, έλαφρώς βυθισμένη κατά τόν κεντρικόν άξονα, ή οποία κατέληγεν εις λοβώδεις χείλος φαιού χρώματος. Εις τήν περιοχήν αύτήν ήσαν έκδηλοι αι μυκηλιακαί ύφαί. Έξ άλλου, ή ανάπτυξις τής καλλιεργείας A-5a₂ ήτο καταφανώς συρρικνωμένη, ή οποία κατέληγεν εις λοβώδεις χείλος. Το χρώμα αύτης ήτο λευκόν κιμωλίας, καθ' όλην τήν έπιφάνειαν και λευκόφαιον εις τό χείλος, συνεπεία των άναπτυσσομένων μυκηλιακών ύφών.

Ψευδομυκήλιον έσχηματίζετο εύκόλως και από τάς δύο άπομονώσεις εις θρεπτικόν ύλικόν PDA και ήτο άφθονον, πλουσίως διακλαδισμένον τύπου *Mycocandida* (βλ. εικ. 26).



Εικ. 26. Ψευδομυκήλιον τής καλλιεργείας A-5a₁ υπό καταδυτικόν φακόν : X 1000

Τέλος, ως προς τούς βιοχημικούς χαρακτήρας, δέν ένεφάνιζαν αί δύο άπομονώσεις διαφοράν καί άφωμοίωνον τήν γλυκόζην, τήν γαλακτόζην, τήν σακχαρόζην καί τήν μαλτόζην, ούχί, όμως, τό νιτρικόν κάλιον, ως μόνην πηγήν άζώτου. Έκ τών ως άνω σακχάρων έζύμωνον τά δύο πρώτα, ήτοι τήν γλυκόζην καί τήν γαλακτόζην. Αί ίδιαι καλλιέργειαι δέν άφωμοίωνον τόν ίννοσίτην, τήν κελλοβιδόζην, τόν έρυθρίτην καί τό διαλυτόν άμυλον. Χαρακτηριστικόν καί τών δύο καλλιέργειών, ήτο ή άδυναμία ζυμώσεως τής σακχαρόζης (έλλειψις του ένζύμου "ίμπερτάση").

Μέ βάσιν τά ως άνω μορφολογικά καί φυσιολογικά χαρακτηριστικά αί δύο καλλιέργειαι κατετάγησαν εις τό είδος *Candida parapsilosis*. Τό είδος τουτο διετηρήθη καί εις τήν νέαν κλείδα ταξινομήσεως, τήν έκδοθεισαν υπό του Lodder (1970), μέ τούς ίδίους βασικούς φυσιολογικούς καί μορφολογικούς χαρακτήρας.

ε) Κ α λ λ ι έ ρ γ ε ι α ι τ ο υ ε ι δ ο υ ς

Candida krusei

Εις τό είδος τουτο κατετάγησαν τρεΐς καθαράί καλλιέργειαι υπό τά διακριτικά Α-5β, Α-5γ καί Β-6α. Έκ τούτων, αί δύο πρώται άπεμονώθησαν από κίτρα έπεξεργασθέντα εις τό έργαστήριο καί ή τρίτη από κίτρα βιομηχανικής έπεξεργασίας. Κοινόν χαρακτηριστικόν καί τών τριών ήτο ή περιωρισμένη ζυμωτική καί άφομοιωτική ικανότης (μόνον διά τήν γλυκόζην) καί ή εύκολία σχηματισμού ψευδομυκηλίου.

Εις ύγρόν θρεπτικόν ύλικόν έκχυλίσματος βύνης έσχημάτιζον καί αί τρεΐς άπομονώσεις κύτταρα κυλινδρικά έως έπιμήκη καί κατά ένα ποσοστόν ώοειδή. Καί μόνον εις τήν καλλιέργειαν Α-5β τά κύτταρα ήσαν εις τό σύνολόν των ώοειδή, μεμονωμένα, ανά δύο καί ένίοτε εις άλύσεις. Αί διαστάσεις τούτων έκυμαίνοντο μεταξύ (2,46-4,92)μ X (3,28 έως 6,50)μ διά τήν καλλιέργειαν Α-5β, μεταξύ (2,46-4,92)μ X (4,10-6,50)μ διά τήν καλλιέργειαν Α-5γ καί, τέλος, μεταξύ (3,28-4,92)μ X (4,92-8,20)μ διά τήν καλλιέργειαν Β-6α. Εις τό ίδιον θρεπτικόν ύλικόν έσχημάτιζον λεπτήν καί συρ-

ρικνωμένην μεμβράνην εντός τῆς πρώτης ἀπό τοῦ ἐμβολιασμοῦ ἑβδομάδος.

Ἐξ ἄλλου, αἱ μεμονωμένα ἀποικίαι ἐπὶ στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἐκχυλίσματος βύνης τῆς καλλιεργείας Α-5β ἦσαν μικροῦ μεγέθους, σχήματος ἀκανονίστου καὶ κατέληγον εἰς ἐλαφρῶς λοβώδη περιφέρειαν. Τὸ χρῶμα τῶν ἦτο λευκοφαίον ἀνοικτόν κατὰ τὸ κέντρον τῶν ἀποικιῶν καὶ φαίον, κατὰ τὸ μᾶλλον ἢ ἦττον, εἰς τὴν περιμετρικὴν ζώνην. Τέλος, ἡ ὑφὴ τῶν ἦτο παστώδης καὶ τὰ κύτταρα, διασπειρόμενα εἰς σταγόνα ὕδατος, ἐσχημάτιζον, εὐκόλως, γαλάκτωμα.

Ἐπὶ τοῦ ἰδίου θρεπτικοῦ ὑλικοῦ αἱ μεμονωμένα ἀποικίαι τῆς καλλιεργείας Α-5γ ἦσαν μεγάλου μεγέθους, ἐπιπέδου διατομῆς καὶ κυκλικοῦ σχήματος, καταλήγουσαι εἰς ἀνώμαλον καὶ λοβώδη περίμετρον. Τὸ κέντρον τῶν ἀποικιῶν ἦτο καταφανῶς ἠγεγμένον ὑπὸ μορφὴν στίγματος καὶ τὸ χρῶμα φαίον στιλπνόν καθ' ἅπασαν τὴν ἐπιφάνειαν. Ἡ ὑφὴ τῶν ἦτο παστώδης μαλακὴ καὶ τὰ κύτταρα ἐσχημάτιζον εὐκόλως γαλάκτωμα.

Τέλος, αἱ ἀποικίαι τῆς καλλιεργείας Β-6α ἦσαν ὁμοίως μεγάλου μεγέθους, κυκλικοῦ σχήματος, ἐπίπεδοι, χρώματος φαιοῦ ἀκαθάρτου καὶ κατέληγον εἰς καταφανῶς λοβώδες χεῖλος.

Ἡ μετασπορά διὰ χαραγῆς τῆς μὲν καλλιεργείας Α-5β ἦτο ἐπίπεδος ἀνάπτυξις, χρώματος φαιοῦ ἀκαθάρτου, ἡ δὲ ποία κατέληγεν εἰς ἀνώμαλον χεῖλος, τῆς δὲ καλλιεργείας Α-5γ ἦτο ὁμοίως ἐπίπεδος, χρώματος φαιοῦ στιλπνοῦ, ἡ δὲ ποία, κατέληγεν εἰς πλήρες σχεδόν χεῖλος. Τέλος, ἡ μετασπορά διὰ χαραγῆς τῆς καλλιεργείας Β-6α ἦτο ὡς ἡ πρώτη, ἦτοι φαιοῦ ἀκαθάρτου χρώματος καὶ κατέληγεν εἰς καταφανῶς λοβώδες χεῖλος.

Ψευδομυκήλιον ἐσχημάτιζον καὶ αἱ τρεῖς ἀπομονώσεις καὶ ἦτο ἐλάχιστος ὁ βαθμὸς διαφορισμοῦ τῶν ψευδομυκηλιακῶν κυττάρων, προκειμένου περὶ τῶν καλλιεργειῶν Α-5β καὶ Α-5γ καὶ καλῶς ἀνεπτυγμένον, τύπου *Mycotoxina*, προκειμένου περὶ τῆς καλλιεργείας Β-6α (βλ. εἰς. 27, σελ. 147).



Είκ.27. Ψευδομυκήλιον τῆς καλλιέργειας Β-6α ὑπό καταδυτικόν φακόν : X 1000

Οἱ βιοχημικοὶ χαρακτήρες τούτων ἦσαν περιορισμένοι καὶ συνίσταντο εἰς τὴν ἀφομοίωσιν καὶ ζύμωσιν τῆς γλυκόζης. Ἄλλαι ἀνθρακούχοι οὐσαι, αἱ ὁποῖαι ἐδοκιμάσθησαν (τρεαλόζη, κελλοβιδόζη, σορβίτης, ξυλόζη), δέν ἀφομοιοῦντο. Ἐπίσης θερμοκρασία ἄνω τῶν 25 °C παρημποδίζε τὴν ἀνάπτυξιν καὶ τῶν τριῶν καλλιέργειῶν.

Μέ βάσιν τὰ ὡς ἄνω μορφολογικά καὶ φυσιολογικά χαρακτηριστικά αἱ τρεῖς καλλιέργειαι κατετάγησαν εἰς τὸ εἶδος *Candida krusei*.

στ)Κ α λ λ ι ἔ ρ γ ε ι α ι τ ο ὺ ε ἴ δ ο υ ς

Candida melinii

Εἰς τὸ εἶδος τοῦτο κατετάγη ἡ ὑπό διακριτικά Β-1β καλλιέργεια, ἡ ὁποία ἀπεμονώθη ἀπὸ ἄλλην κίτρων βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας.

Ἡ καλλιέργεια αὕτη, εἰς ὑγρὸν θρεπτικὸν ὑλικὸν ἐκχυλίσματος βύνης, ἐσχημάτιζε κύτταρα διαφόρων μεγεθῶν καὶ σχημάτων, ἥτοι ὠοειδῆ, κυλινδρικά καὶ ἐπιμήκη. Αἱ διαστάσεις αὐτῶν ἐκυμαίνοντο ἐντὸς εὐρέων ὁρίων, ἥτοι μεταξύ

(3, 28-4, 92) μ X (4, 92-8, 90) μ.

Είς τό αὐτό θρεπτικόν ὑλικόν ἐσχημάτιζεν αὕτη μεμβράνην βουτυρώδους συστάσεως μετὰ πάροδον 20-30 ἡμερῶν.

Αἱ μεμονωμένα ἀποικίαι ἐπὶ στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἐκχυλίσματος βύνης ἦσαν μετρίου μεγέθους, σχήματος στρογγύλου, ἐπίπεδοι, καταλήγουσαι εἰς ὀμαλὸν χεῖλος. Ἡ ὕψὴ ἦτο παστώδης, τὰ δὲ κύτταρα ἐναιωροῦντο εὐκόλως εἰς τὸ ὕδωρ καὶ ἐσχημάτιζον γαλάκτωμα.

Εἰς τὸ ἴδιον θρεπτικόν ὑλικόν ἡ μετασπορά διὰ χαραγῆς ἦτο ἐπίπεδος ἀνάπτυξις, χρώματος φαλιοῦ ἀνοικτοῦ.

Ψευδομυκήλιον ἐσχηματίζετο πάντοτε εἰς θρεπτικόν ὑλικόν PDA καὶ ἦτο ἄφθονον μὲ πλουσίαν διακλάδωσιν τύπου *Mycotoruloides*.

Ἡ καθαρὰ αὕτη καλλιέργεια ἀφωμοίλωνε τὴν γλυκόζην καὶ τὴν σακχαρόζην, ἐλάχιστα δὲ τὴν μαλτόζην. Ἡ ἰδίᾳ ἀφωμοίλωνε τὸ νιτρικὸν κάλιον ὡς μόνην πηγὴν ἀζώτου. Ἡ καλλιέργεια αὕτη ἦτο ὀξειδωτικὴ καὶ ἐζύμωνε λίαν ἀσθενῶς τὴν γλυκόζην.

Θὰ πρέπει νὰ σημειωθῆ, ὅτι εἰς τὴν νέαν κλεῖδα ταξινομήσεως τῶν ζυμῶν τὸ εἶδος *Candida melinii* εἶναι καθαρῶς ὀξειδωτικὸν καὶ δέν ζυμώνει οὔτε τὴν γλυκόζην. Εἰς τὴν ἰδίαν κλεῖδα ἔχει συμπεριληφθῆ τὸ νέον εἶδος *Candida bimundalis*, τὸ ὁποῖον ἐμφανίζει τὰ ἴδια χαρακτηριστικὰ μὲ ἐκεῖνα τῆς ἀπομονώσεως B-1β (ζύμωσις γλυκόζης, ἀφωμοίωσις γλυκόζης, σακχαρόζης, μαλτόζης καὶ νιτρικοῦ καλίου, σχηματισμὸς μεμβράνης κηρώδους συστάσεως κτλ.). Δυστυχῶς, ἡ ἀπομόνωσις αὕτη ἀπωλέσθη κατὰ τὴν πορείαν τῆς ἐργασίας καὶ δέν εἶναι δυνατὴ ἡ περαιτέρω μελέτη διὰ τὴν ὀριστικὴν κατάταξιν, συμφώνως μὲ τὴν νέαν κλεῖδα ταξινομήσεως τῶν ζυμῶν.

ζ) Κ α λ λ ι ἔ ρ γ ε ι α ι τ ο ὦ ε ἴ δ ο υ ς

Candida rhagii

Εἰς τὸ εἶδος τοῦτο κατετάγησαν τέσσαρες καθαρὰ καλλιέργειαι ὑπὸ τὰ διακριτικὰ A-1, A-1δ, A-1ε καὶ A-2δ, αἱ ὁ-

ποῖαι ἐν τῷ συνόλω των ἀπεμονώθησαν ἀπὸ ἄλλην κίτρων ἐπεξεργασθέντων ὑπὸ ἐργαστηριακᾶς συνθήκας. Κοινὸν χαρακτηριστικὸν ὄλων ἦτο ὁ σχηματισμὸς ροπαλοειδῶν ψευδομυκηλιακῶν κυττάρων καὶ ἡ μετρία ζυμωτικὴ καὶ ἀφομοιωτικὴ ἱκανότης των.

Εἰς ὑγρὸν θρεπτικὸν ὑλικὸν ἐκχυλίσματος βύνης καὶ αἱ τέσσαρες καθαρά καλλιέργειαι ἐσχημάτιζον σφαιρικὰ ἕως ὠοειδῆ κύτταρα, ἀλλὰ καὶ λεμονοειδῆ ἕως φιαλοειδῆ. Ἐπεκράτουν ἐντὸς τῶν κυττάρων σταγόνες ἐλαίου. Ἐπίσης, κατὰ τρόπον ἀκανόνιστον ἐσχηματίζοντο καὶ κύτταρα μεγάλᾳ ψευδομυκηλιακᾶ, σχήματος ροπάλου. Ἐνεφανίζοντο ταῦτα μεμονωμένα, ἀνά δύο καὶ ἐνίοτε ὑπὸ μορφὴν βραχέων ἀλύσεων, αἱ δὲ διαστάσεις ἐκυμάνθησαν μεταξύ (3, 28-4, 10) μ X (3, 28-4, 92) μ διὰ τὴν καλλιέργειαν A-1, μεταξύ (3, 28-4, 10) μ X (3, 28-4, 92) μ διὰ τὴν καλλιέργειαν A-1δ, μεταξύ (2, 46-4, 92) μ X (2, 46-5, 74) μ διὰ τὴν καλλιέργειαν A-1ε καὶ μεταξύ (3, 28-4, 10) μ X (3, 28-4, 92) μ διὰ τὴν καλλιέργειαν A-2δ.

Εἰς τὸ ἴδιον θρεπτικὸν ὑλικὸν ἐσχημάτιζον καὶ αἱ τέσσαρες καθαρά καλλιέργειαι πλήρη δακτύλιον, οὐδέποτε, ὅμως, μεμβράνην.

Αἱ μεμονωμένα ἀποικίαι ἐπὶ στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἐκχυλίσματος βύνης ἦσαν μετρίου μεγέθους, σχήματος κυκλικοῦ, γαλακτόχροοι στιλπναί, αἱ ὁποῖαι κατέληγον εἰς πλήρη περίμετρον. Ἦσαν αὗται κυρτῆς διατομῆς μέ καταφανῶς ἠγευμένον τὸ μέσον των ὑπὸ μορφὴν στίγματος καὶ περιεβάλλοντο ὑπὸ ἄλω, φαιοῦ χρώματος, ὀφειλομένην εἰς τὰς ψευδομυκηλιακᾶς ὑφάς. Ἡ ὑφή ἦτο παστώδης, μαλακὴ καὶ τὰ κύτταρα, διασπειρόμενα εἰς σταγὸνα ὕδατος, ἐσχημάτιζον ὁμοιογενές γαλάκτωμα.

Εἰς τὸ ἴδιον θρεπτικὸν ὑλικὸν αἱ μετασποραὶ διὰ χαραγῆς ἦσαν ἀναπτύξεις γαλακτόχροοι, γλοιώδους συστάσεως καὶ ἐλαφρῶς ἀνωμάλου ἐπιφανείας. Κατέληγον αὗται εἰς λοβῶδες κροσσωτὸν χεῖλος, χρώματος φαιοῦ ὅπου ἦσαν ἔκδηλοι αἱ μυκηλιακαὶ ὑφαί.

Ψευδομυκήλιον (έσχημάτιζον μετά μεγάλης δυσκολίας εις θρεπτικόν ύλικόν PDA εις τό χειλός τής καλυπτρίδος, πρός τά έξω, καί ούδέποτε εις τήν περιοχήν τήν καλυπτομένην ύπ'αύτής. Τό ψευδομυκήλιον άπηρτίζετο άπό μεγάλα ροπαλοειδή ψευδομυκηλιακά κύτταρα, τά όποία ήσαν σχεδόν όμοιόμορφα, άνεξαρτήτως άν μετεϊχον εις τήν δόμησιν του κορμου ή των πλευρικών διακλαδώσεων.

Είς ό,τι άφορᾷ εις τούς βιοχημικούς χαρακτήρας, άπασαι αι άπομονώσεις έξύμνον τήν γλυκόζην, τήν γαλακτόζην καί τήν ραφινόζην κατά τό 1/3 δύο δέ, ήτοι αι ύπό διακριτικά A-1ε καί A-2δ έξύμνον έπιπλέον άσθενώς καί τήν σακχαρόζην. Τά ίδια σακχαρά, ήτοι τήν γλυκόζην, τήν γαλακτόζην καί τήν σακχαρόζην καί έπιπλέον τήν μαλτόζην άφωμοίωνον άπασαι αι άπομονώσεις, ούχι, όμως, τό νιτρικόν κάλιον, ως μόνην πηγήν άζώτου. Αί ίδιαι καλλιέργειαι άφωμοίωνον τήν κελλοβιδόζην, τήν ραφινόζην καί τόν έρυθρίτην, ούχι, όμως, τόν ινοσίτην καί τήν μελιβιδόζην. Είς όλας τάς καλλιέργειας ήσαν χαρακτηριστικά τά ροπαλοειδή κύτταρα.

Μέ βάσιν τά ως άνω μορφολογικά καί φυσιολογικά χαρακτηριστικά καί αι τέσσαρες καλλιέργειαι κατετάγησαν εις τό είδος *Candida rhagii*.

6) Καλλιέργειαι του γένους Pullularia

Είς τό γένος τουτο κατετάγησαν δύο καθαράι καλλιέργειαι ύπό τά διακριτικά A-1α καί A-5, αι όποιαί άπομονώθησαν άπό άλμην κίτρων έπεξεργασθέντων ύπό έργαστηριακάς συνθήκας. Κοινόν χαρακτηριστικόν ήτο τό άφθονον πραγματικόν μυκήλιον καί ή μελανή χρωστική ούσία, ή όποία έσχημάτιζετο εις προκεχωρημένα στάδια άναπτύξεως των άποικιών.

Είς θρεπτικόν ύλικόν έκχυλίσματος βύνης τά κύτταρα ήσαν μεμονωμένα, άνά δύο ή τρία, μεγάλα λεμονοειδή, άπιόμορφα έως κυλινδρικά, ένλοτε μέ έγκάρσιον τοίχωμα. Είς τό ίδιον θρεπτικόν ύλικόν έσχημάτιζον καί ύφάς πραγματικού μυκηλίου, όμοίως μέ έγκάρσια τοιχώματα. Αί

διαστάσεις τῶν κυττάρων ἐκυμάνθησαν μεταξύ (3, 28-6, 50) μ X (6, 56-16, 4) μ, προκειμένου περί τῆς καλλιέργειας A-1α καί μεταξύ (4, 10-8, 20) μ X (8, 20-14, 76) μ, προκειμένου περί τῆς καλλιέργειας A-5. Χαρακτηριστική ἦτο ἀκόμη καί εἰς τὰς δύο περιπτώσεις ἡ παχεῖα καί γλοιώδης μεμβράνη, ἡ ὁποία ἐσχηματίζετο ἐντός τῶν πρώτων ἀπό τοῦ ἐμβολιασμοῦ ἡμερῶν.

Αἱ μεμονωμένα ἀποικίαι ἐπὶ στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἐκχυλίσματος βύνης ἦσαν γιγαντιαῖαι τὸ μέγεθος, σχήματος κυκλικοῦ ἀκανονίστου, αἱ ὁποῖαι κατέληγον εἰς ὀμαλήν περίμετρον, περιβαλλομένην ἀπὸ καταφανεῖς μυκηλιακὰς ὑφάς. Τὸ κεντρικόν τμήμα τῶν ἀποικιῶν ἦτο παστῶδες, σαφῶς ἡγερούμενον ὑπὸ μορφῆν στίγματος, χρώματος ἀρχικῶς λευκοφαίου καθισταμένου μέ τὴν πάροδον τοῦ χρόνου μελανοῦ. Μάλιστα ἡ μελανή χρωστικὴ ἐσχηματίζετο, ἀρχικῶς, εἰς τὸ κέντρον τῆς ἀποικίας καί, ἐν συνεχείᾳ, εἰς τὸ ὑπόλοιπον τμήμα αὐτῆς. Τὰ κύτταρα, εἰς τὰ πρώτα στάδια τῆς ἀναπτύξεως τῶν ἀποικιῶν, διεσπείροντο, εὐκόλως, εἰς σταγόνα ὕδατος καί ἐσχηματίζον γαλάκτωμα. Μέ τὴν πάροδον, ὅμως, τοῦ χρόνου αἱ ἀποικίαι καθίσταντο δερματώδεις τὴν ὑφήν καί ἦτο δύσκολος ἡ παραλαβὴ κυττάρων διὰ τοῦ μικροβιολογικοῦ κρίκου, ὡς καί ἡ διασπορὰ τούτων ἐντός ὕδατος.

Εἰς τὸ αὐτὸ θρεπτικὸν ὑπόστρωμα αἱ μετασποραὶ διὰ χαραγῆς ἦσαν ἀναπτύξεις λευκοφαῖοι βαμβακώδεις, αἱ ὁποῖαι κατέληγον εἰς κροσσατὸν χεῖλος, ὅπου ἦσαν ἔκδηλοι αἱ μυκηλιακαὶ ὑφάς. Ἡ μελανή οὐσία ἐνεφανίζετο μέ καθυστέρησιν 7-10 ἡμερῶν καί διεχέετο ἀπὸ τοῦ κεντρικοῦ ἄξονος πρὸς τὴν περιφέρειαν.

Πραγματικὸν μυκήλιον, ἀλλὰ καί ψευδομυκήλιον ἐσχηματίζετο εἰς θρεπτικὸν ὑπόστρωμα PDA, ἀλλὰ καί εἰς θρεπτικὸν ὑπόστρωμα ἐκχυλίσματος βύνης. Ἀπηρτίζετο δέ ἀπὸ μεγάλας ὑφάς μέ ἐγκάρσια τοιχώματα, αἱ ὁποῖαι δέν ἐνεφάνιζον ἰδιαιτέραν ὀργάνωσιν.

Καί αἱ δύο ἀπομονώσεις ἦσαν καθαρῶς ὀξειδωτικάι, μὴ ζυμώνουσαι οὔτε τὴν γλυκόζην, ἀφομοίωσον, ὅμως, τὴν γλυκόζην, τὴν σακχαρόζην καί τὴν μαλτόζην, ἐπιπλέον δέ καί τὸ

νιτρικόν κάλιο, ως μόνην πηγήν άζώτου. Η κατάταξις τών δύο καλλιεργειών εις τό είδος *Pullularia pullulans* έγένετο μέ βάσιν τήν κλειδα ταξινομήσεως τών άτελών μυκήτων τήν έκδοθεισαν υπό του H. Barnett (1962).

7) Καλλιέργειαι του γένους *Geotrichum*

Είς τό είδος τουτο κατετάγη ή υπό διακριτικά B-1γ καλλιέργεια, ή όποία άπεμονώθη από άλλην κίτρω βιομηχανικής έπεξεργασίας. Χαρακτηριστικόν τής καλλιέργειας ήτο τό πραγματικόν μυκήλιον, τά άρθροσπόρια καί ό αύστηρώς όξειδωτικός χαρακτήρ.

Είς ύγρόν θρεπτικόν ύλικόν έκχυλίσματος βύνης έ σχημάτιζεν αύτη ύφάς πραγματικού μυκηλίου, αί όποίαι κατετέμνοντο άρχικώς πρός όρθογωνικά άρθροσπόρια, τά όποία, όμως, μέ τήν πάροδον του χρόνου απέκτων πάντοτε σφαιρικόν έως ωοειδές σχήμα. Τά τελευταία άπήντων μεμονωμένα, ανά δύο ή υπό μορφήν αλύσεων.

Αί διαστάσεις τών άρθροσπορίων έκυμάνθησαν μεταξύ (6, 56-8, 20) μ X (8, 20-11, 48) μ. Είς τό ίδιον θρεπτικόν ύλικόν έσχηματίζετο δερματώδης μεμβράνη, έντός τριών από του έμβολιασμού ήμερών.

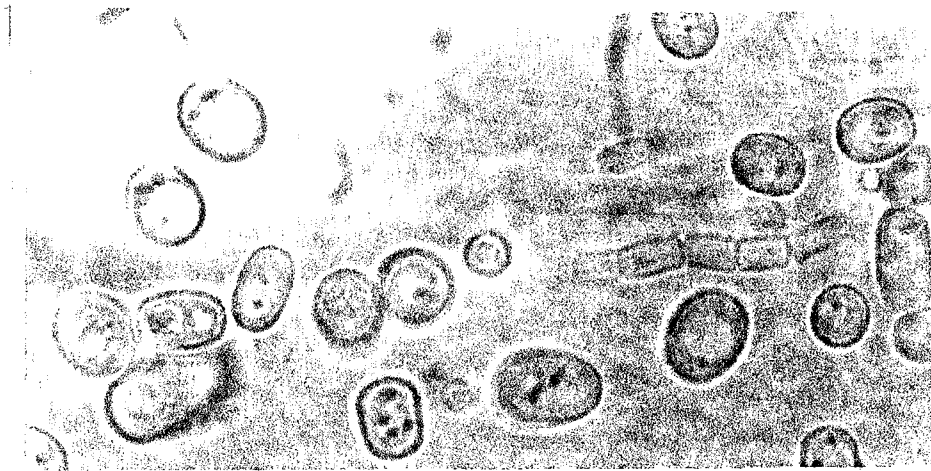
Αί μεμονωμένα άποικίαι επί στερεού θρεπτικού ύλικού έκχυλίσματος βύνης ήσαν μεγάλου μεγέθους, στρογγύλαι μέ όμαλήν περίμετρον, χρώματος φαιολεύκου. Είς τό μέσον των κατέληγον εις μικρόν στίγμα, καταφανώς ήγερμένον. Υπό μεγέθυνσιν ένεφανίζοντο έπιπασμένα διά λεπτής κόνεως, έξαιρέσει τής περιμέτρου, ή όποία περιεβάλλετο από ύαλώδεις μυκηλιακάς ύφάς. Γενικώς, ήσαν έπιπέδου διατομής καί συμπαγούς ύφής, μέ κύτταρα δυσκόλως διασπειρόμενα εις σταγόνα ύδατος.

Έξ άλλου, ή μετασπορά διά χαραγής εις τό αύτό θρεπτικόν ύλικόν ήτο λευκόφαιος, βαμβακώδης ανάπτυξις, καταλήγουσα εις έκδήλους μυκηλιακάς ύφάς καί έπιπασμένη καθ' όλην τήν έπιφάνειάν της διά λευκής κόνεως.

Πραγματικόν μυκήλιον έσχηματίζετο άφθονον , τόσον

είς θρεπτικόν ύλικόν PDA, ὅσον καί εἰς θρεπτικόν ύλικόν ἐκχυλίσματος βύνης, καί ἀπηρτίζετο ἀπό υαλώδεις ὑφάς μεγάλου διαμετρήματος μέ πλαγίας διακλαδώσεις χωρίς, ὅμως, αὐται νά παρουσιάζουν ἰδιαιτέραν ὀργάνωσιν.

Αἱ ὑφαί αὐται κατετέμνοντο εἰς τάς περισσότερας τῶν περιπτώσεων πρὸς ἀρθροσπόρια, ἐνῶ ἄλλοτε διετήρουν τό σχῆμα των καί ἐσχημάτιζον βλαστοσπόρια κατά τό πέρασ τῶν διακλαδώσεων τοῦ μυκηλίου (βλ. εἰκ. 28).



Εἰκ. 28. Βλαστικά κύτταρα καί ἀρθροσπόρια τῆς καλλιέργειας B-1γ ὑπὸ καταδυτικόν φακόν : X 1000

Ἡ καλλιέργεια αὕτη ἦτο καθαρῶς ὀξειδωτική καί οὐδέν σάκχαρον ἐξύμωνεν. Ἀφωμόλωνεν, ὅμως, τήν γλυκόζην, τήν γαλακτόζην, τήν σακχαρόζην καί τήν μαλτόζην, ἐνῶ δέν ἀφωμόλωνε τό νιτρικόν κάλιον, ὡς μόνην πηγὴν ἀζώτου.

Τά ὡς ἄνω μορφολογικά χαρακτηριστικά εἶναι τυπικά τοῦ γένους *Geotrichum* καί τοῦ εἴδους *Geotrichum candidum*, ὡς ταῦτα περιεγράφησαν τό πρῶτον ὑπὸ τοῦ A. Henrici τό ἔτος 1930 (Skinner καί ἄλλοι, 1951). Κατά τοῦς ἰδίους ὁ ὄρος *Oospora lactis* ἢ *Oidium lactis*, ὁ ὁποῖος ἐνλίτε χρησιμοποιεῖται, εἶναι ἀνεπιτυχής.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μέ βάσιν τὰ ἀποτελέσματα τῆς μελέτης τῆς μικρο - χλωρίδος τῶν κίτρων, ζυμωθέντων ὑπὸ ἐργαστηριακῆς καὶ βιομηχανικῆς συνθήκας, ὠδηγήθημεν εἰς τὰ ἀκόλουθα συμπεράσματα:

- 1) Ζῦμαι διαφόρων γενῶν ἀπαντοῦν, τόσον εἰς τὴν ἐξωτερικὴν ἐπιφάνειαν τῶν κίτρων, ὅσον καὶ εἰς τὴν ἄλλην τῆς βιομηχανικῆς τῶν ἐπεξεργασίας.
 - 2) Αἱ ζῦμαι τοῦ ἐξωτερικοῦ τῶν κίτρων εἶναι κατὰ κανόνα ὀξειδωτικά, ἐνῶ αἱ ζῦμαι, αἱ ὁποῖαι ἐπικρατοῦν κατὰ τὴν ζύμωσιν ὑπὸ βιομηχανικῆς συνθήκας εἶναι ζυμωτικά ἀνήκουσαι εἰς τὰ εἶδη *Saccharomyces cerevisiae* καὶ *Saccharomyces rosei* καὶ κατὰ δεύτερον λόγον, εἰς τὰ γένη *Hansenula* καὶ *Pichia*.
 - 3) Αἱ ζῦμαι τῆς βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας εἶναι κατὰ τὸ πλεῖστον σποριογόνοι καὶ τοῦτο θά πρέπει νὰ ἀποδοθῆ εἰς τὴν ἀντιξοότητα τῶν ἐπικρατουσῶν συνθηκῶν (ἐκ δέκα πέντε ἀπομονώσεων αἱ δώδεκα ἀνήκον εἰς σποριογόνα εἶδη). Ἀντιθέτως, αἱ ζῦμαι τῆς ἐξωτερικῆς ἐπιφανείας τῶν κίτρων εἶναι κατὰ πλειονότητα ἀσποριογόνοι καὶ μικρᾶς ζυμωτικῆς ἱκανότητος (ἐξ εἴκοσι τεσσάρων ἀπομονώσεων μόνον τρεῖς ἀνήκον εἰς σποριογόνα εἶδη).
 - 4) Αἱ ζῦμαι τῆς ἐξωτερικῆς ἐπιφανείας τῶν κίτρων καὶ τῆς ἄλλης βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας ἀνήκουν κατὰ κανόνα εἰς διαφορετικὰ εἶδη. Ἐξαίρεσιν ἀποτελοῦν τὰ εἶδη *Saccharomyces rosei*, *Pichia membranaefaciens* καὶ *Candida kru-sei*, τὰ ὁποῖα συμμετέχουν μὲ ἐκπροσώπους καὶ, εἰς τὰς δύο ομάδας ζυμῶν.
- Τοῦτο ὑποδηλοῖ, ὅτι ὑπὸ βιομηχανικῆς συνθήκας ἀσκειῖται σοβαρὴ ἐπιλογή, μὲ ἀποτέλεσμα νὰ ἐπικρατοῦν εἶδη ἀνθεκτικά, ὠρισμένα τῶν ὁποίων πιθανῶς νὰ μὴ προέρχονται ἀπὸ τὰ ἀκατέργαστα κίτρα.
- 5) Βακτηρίδια δέν ἀπεμονώθησαν, οὔτε ἀπὸ τὴν ἐξωτερικὴν ἐπιφάνειαν τῶν κίτρων, οὔτε ἀπὸ ἄλλην τῆς βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας, ἐκτός περιορισμένου ἀριθμοῦ ἀπομονώσεων

κατά τὰς πρώτας ἡμέρας τῆς τοποθετήσεώς των ἐν ἄλμῃ. Τὰ ἀπομονωθέντα ἐλάχιστα βακτηρίδια δὲν ἐθεωρήθησαν τυπικοί ἐκπρόσωποι τῆς μικροχλωρίδος τῶν κίτρων, ἡ δὲ παρουσία τούτων ἐθεωρήθη συμπτωματική.

β) Ἰδιαιτέρως, ἐπισημαίνεται ἡ παντελής ἀπουσία γαλακτοβακίλλων, τόσον ἀπὸ τῆν ἄλμην κίτρων ἐργαστηριακῆς, ὅσον καὶ βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας. Τοῦτο εἶναι ἀνεξήγητον, ὅταν ληφθῆ ὑπ' ὄψιν, ὅτι διαρκούσης τῆς ἐργαστηριακῆς ζυμώσεως ἐπεκράτησαν συνδῆκαι ιδεώδεις διὰ τῆν ἀνάπτυξιν τῶν γαλακτοβακίλλων.

Ἀνεφέρθη εἰς τὰς προηγουμένας σελίδας, ὅτι οἱ κατὰ καιροῦς μελετηταί τοῦ τρόπου ἐπεξεργασίας τῶν κίτρων (Hollande et Chadefaux, 1924; Cruess and Glickson, 1932) ὁμιλοῦν περὶ ζυμώσεως τούτων κατὰ τὸν χρόνον παραμονῆς τῶν ἡμισέων ἐντός βαρελίων πλήρων ἄλμης. Εἰς τὸ συμπέρασμα τοῦτο κατέληξαν, προφανῶς, βασιζόμενοι ἀφ' ἑνός εἰς τὸ διοξειδίον τοῦ ἄνθρακος, τὸ ὁποῖον ἐκλύεται εὐθὺς ὡς τὰ κίτρα ἐμβαπτιθοῦν ἐντός τῆς ἄλμης καὶ ἀφ' ἑτέρου εἰς τὴν παρουσίαν ἐν τῇ ἄλμῃ βακτηριδίων καὶ ζυμῶν.

Εἶναι γεγονός, ὅτι κίτρα ἐπεξεργαζόμενα κατὰ τὴν Κορσικανὴν μέθοδον εἶναι λογικόν νὰ ὑποστηρίζουν τὴν ἀναπτυξίαν ζυμῶν, ἀλλὰ καὶ γαλακτοβακίλλων.

Ἐν τούτοις ἡ Κορσικανὴ μέθοδος ἔχει ἀπὸ ἐτῶν τροποποιηθῆ, ἡ δὲ τροποποίησις συνίσταται εἰς τὴν αὐξήσιν τῆς ἀλατοπεριεκτικότητος τῆς ἄλμης (μέχρι 12-15 ο/ο ἢ καὶ περισσότερον), ὡς καὶ τὴν προσθήκην ηὔξημένων ποσοστῶν διοξειδίου τοῦ θείου. Ἡ τροποποιημένη δὲ αὕτη μέθοδος χρησιμοποιεῖται κατὰ τὴν ἐπεξεργασίαν τῶν κίτρων εἰς τὴν χώραν μας, τὴν Σικελίαν καὶ ἄλλαχοῦ.

Τὸ διοξειδίον τοῦ θείου, ὡς γνωστόν, εἶναι ἰσχυρὸς μικροβιοστατικὸς παράγων διὰ τοὺς γαλακτοβακίλλους, ἡ δὲ ηὔξημένη ἀλατοπεριεκτικότης (ἄνω τοῦ 12 ο/ο) παρεμποδίζει τὸν πολλαπλασιασμόν καὶ τὴν δρασίαν τῶν ὑπευθύνων διὰ τὴν ἀλκοολικὴν ζύμωσιν εὐγενῶν ζυμῶν.

Ἄξιον ἰδιαιτέρας προσοχῆς εἶναι τὸ γεγονός, ὅτι ἡ ζύμωσις τῶν κίτρων δέν ἔχει μελετηθῆ, ὡς πρὸς τὰ τελικὰ προϊόντα διασπάσεως τῶν σακχάρων καὶ διὰ τὸν λόγον αὐτὸν δέν διευκρινίζεται εἰς τὴν βιβλιογραφίαν, ἐάν πρόκειται περὶ ἀλκοολικῆς ἢ γαλακτικῆς ἢ μικτῆς ζυμώσεως.

Τὴν ἀπάντησιν εἰς τὰ ὡς ἄνω ἐρωτήματα ἀνεζητήσαμεν μὲ τὴν παρακολούθησιν τῆς πορείας ζυμώσεως κίτρων ὑπὸ ἐργαστηριακὴν καὶ βιομηχανικὴν κλίμακα.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ

I. Σ υ σ κ ε υ α σ ί α κ ί τ ρ ω ν τ ῆ ς έ ρ γ α σ τ η -
ρ ι α κ ῆ ς ζ υ μ ώ σ ε ω ς

Τά κίτρα τῆς ζυμώσεως ἐν σμικρῷ συνελέγησαν ἀσηπτικῶς εἰς τοὺς τόπους παραγωγῆς, συμφώνως πρὸς τεχνικὴν περιγραφήσαν εἰς τὸ πρῶτον κεφάλαιον. Ὁ τεμαχισμὸς τούτων εἰς δύο ἡμίση ἐγένετο ὁμοίως ἀσηπτικῶς, τῆς τελικῆς συσκευασίας γενομένης ἐντὸς ἀπεστερωμένης ἄλλης περιεκτικότητος 100/ο εἰς χλωριούχον νάτριον. Λεπτὸν στρώμα παραφινελαίου προσετίθετο πάντοτε κατ' ἐπιφάνειαν τῆς ἄλλης με σκοπὸν τὴν ἐξασφάλισιν ἀναεροβίου περιβάλλοντος καὶ τὴν παρεμπόδισιν τῆς ἀναπτύξεως ὀξειδωτικῶν ὀργανισμῶν.

Μετὰ πάροδον τεσσάρων ἡμερῶν ἀπὸ τῆς συσκευασίας ἐλήφθησαν τὰ πρῶτα δείγματα ἄλλης διὰ τὴν ἀπομόνωσιν τῶν μικροοργανισμῶν καὶ τὸν προσδιορισμὸν τῶν διαφόρων συστατικῶν αὐτῆς. Ἡ δειγματοληψία συνεχίζετο ἀνά τακτὰ χρονικὰ διαστήματα διὰ συνολικὸν διάστημα 9-12 μηνῶν.

Προσδιορίζοντο ἐκάστοτε ἡ τιμὴ τοῦ pH τῆς ἄλλης, ἡ τιμὴ τῆς ὀλικῆς ὀγκομετρομένης ὀξύτητος, ἡ τιμὴ τῆς περιεκτικότητος τῆς ἄλλης εἰς χλωριούχον νάτριον, ἡ τιμὴ τῶν ἀναγωγικῶν σακχάρων καὶ, τέλος, ἡ τιμὴ τῆς ἀλκοόλης ἐν τῇ ἄλλῃ.

II. Σ υ σ κ ε υ α σ ί α κ ί τ ρ ω ν τ ῆ ς β ι ο μ η χ α -
ν ι κ ῆ ς ζ υ μ ώ σ ε ω ς

Ἡ συσκευασία ἐν μεγάλῳ ἐγένετο εἰς τὸ κέντρον παραλαβῆς καὶ συσκευασίας κίτρων τοῦ Διακοπτοῦ κατὰ τὴν ἀκολουθουμένην ἐκεῖ μέθοδον. Ἐχρησιμοποιήθησαν πρὸς τὸν σκοπὸν τούτον βαρέλια χωρητικότητος 250 χιλιογράμμων ἐντὸς τῶν ὁποίων ἐτοποθετοῦντο τὰ κίτρα ὀλόκληρα. Ἡκολούθει ἀπογέμισμα διὰ θαλασσίου ὕδατος, ἐντὸς τοῦ ὁποίου διωχετεύοντο καὶ 6 χιλιάγραμμα διαλύματος διοξειδίου τοῦ θείου 6 ο/ο (περίπου 360 γραμμάρια διοξειδίου τοῦ θείου κατὰ βαρέλιον). Ἡ ποσότης τοῦ θαλασσίου ὕδατος κατὰ βαρέλιον ὑπελογίσθη εἰς 100 χιλιάγραμμα καὶ, ἐπομένως, ἡ περιεκτικότης αὐτοῦ εἰς διοξείδιον τοῦ θείου ἀνήρχετο εἰς 3,6 ο/ο ἢ 3600 p.p.m..

Συσκευασμένα, ως ανεφέρθη προηγουμένως, τὰ κίτρα παρέμενον επί δεκαήμερον, ἀκολουθῶς δὲ ἐξήγοντο ἐκ τῆς ἄλμης, ἐδιχοτομοῦντο κατὰ τὴν ἔννοιαν τοῦ μήκους καὶ ἐτοποθετοῦντο ἐντός βαρελίων. Τὸ ἀπογέμισμα εἰς τὸ στάδιον τοῦτο ἐγένετο δι' ἄλμης 16 Be (περιεκτικότητος περιόλου 16 ο/ο εἰς χλωριούχον νάτριον), περιεχούσης καὶ ἡμισυ λίτρον διαλύματος διοξειδίου τοῦ θείου 60/ο (30 γραμμάρια διοξειδίου τοῦ θείου). Ὑπολογιζομένου καὶ πάλιν τοῦ βάρους τῆς ἄλμης εἰς 100 χιλιόγραμμα ἢ περιεκτικότης εἰς διοξείδιον τοῦ θείου περιωρίζετο εἰς 0,3 ἐπὶ τοῖς χιλίοις ἢ 300 p.p.m. Κατὰ τὸν μετέπειτα χρόνον τὰ βαρέλια ἀπεγεμίζοντο κάθε δευτέραν ἡμέραν μὲ ἄλμην 16 ἕως 20 Be μέχρι τῆς ἐνάρξεως τῆς σακχαροπήξεως.

Δείγματα ἄλμης ἐκ τῶν βαρελίων τούτων ἐλήφθησαν ἀσηπτικῶς μετὰ 10, 20, 30, 60 καὶ 90 ἡμέρας ἀπὸ τῆς συσκευασίας, τὰ ὁποῖα ἀνελύθησαν εἰς τὸ ἐργαστήριον, ὡς πρὸς τὴν ὀγκομετρούμενην ὀξύτητα, τὸ pH, τὸ χλωριούχον νάτριον καὶ τὴν αἰθυλικὴν ἀλκοόλην.

III. Μέθοδοι ἀναλύσεως

1) Ὁ προσδιορισμὸς τοῦ pH τῆς ἄλμης ἐγένετο εἰς ἰονόμετρον Beckman zeromatic.

2) Ὁ προσδιορισμὸς τῆς ὀλικῆς ὀγκομετρούμενης ὀξύτητος ἐγένετο εἰς δείγμα 10 κυβικῶν ἑκατοστῶν διὰ προσθήκης δεκατοκανονικοῦ διαλύματος καυστικοῦ νατρίου, παρουσία δείκτου φαινολοφθαλεΐνης, μέχρις ἐμφανίσεως ροδίνης χροιάς.

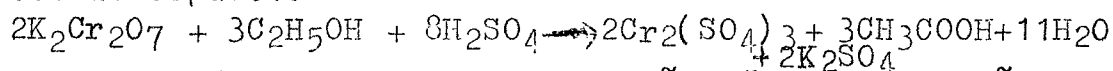
3) Ὁ προσδιορισμὸς τοῦ χλωριούχου νατρίου ἐγένετο κατὰ τὴν ἐπίσημον ἀμερικανικὴν μέθοδον τοῦ Mohr δι' ὀγκομετρῆσεως τοῦ χλωριούχου νατρίου ἐνός κυβικοῦ ἑκατοστοῦ ἄλμης διὰ δεκατοκανονικοῦ διαλύματος νιτρικοῦ ἀργύρου, παρουσία δύο κυβικῶν ἑκατοστῶν διαλύματος 2 ο/ο χρωμικοῦ καλίου.

4) Ὁ προσδιορισμὸς τῶν ἀναγωγικῶν σακχάρων ἐγένετο διὰ φελλιγγελοῦ ὕγρου, κατὰ τὴν μέθοδον Lane καὶ Eynon. Συγκριμένως, ἐξ ἐκάστου δείγματος ἐλαμβάνετο ὄγκος 100 κ-

βικίων εκατοστῶν. Ἠκολούθει διαύγασις διὰ προσθήκης τοῦ ἀναγκαιούντος διαλύματος οὐδετέρου ὀξεικοῦ μολύβδου. Ἡ ποσότης τοῦ τελευταίου, ἡ ὁποία προσετίθετο ἐκάστοτε, ἦτο σχετικῶς μεγάλη, λόγω τῆς παρουσίας τοῦ χλωριούχου νατρίου. Ὁ προσδιορισμὸς τῶν ἀναγωγικῶν σακχάρων ἐγένετο, ὡς περιγράφεται καὶ εἰς τὸ πρῶτον κεφάλαιον (βλ. σελ. 37).

5) Ὁ προσδιορισμὸς τῆς αἰθυλικῆς ἀλκοόλης ἐγένετο διὰ τῆς χημικῆς μεθόδου τῆς ὀξειδώσεως αὐτῆς πρὸς ὀξειδὸν ὀξύ, βάσει τῆς μεθόδου τῶν Semichon καὶ Planzy (1929), ὡς αὕτη ἐτροποποιήθη ὑπὸ τῶν Fessler (1941) καὶ τῶν Ameyne καὶ Joslyn (1951).

Ἡ μέθοδος αὕτη, ὡς γνωστὸν, βασίζεται εἰς τὸ γεγόνος, ὅτι εἰς ὀξινον περιβάλλον ἡ ἀλκοόλη ὀξειδοῦται ὑπὸ τοῦ διχρωμικοῦ καλίου πρὸς ὀξειδὸν ὀξύ, κατὰ τὴν ἀκόλουθον ἀντίδρασιν:

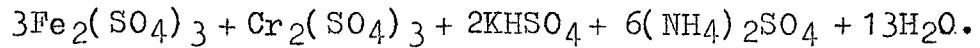
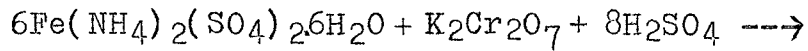


Εἰς ἐκάστην περίπτωσιν ἐμετρεῖτο ἄλλη 20 κυβικῶν ἐκατοστῶν καὶ μετεφέρετο εἰς τὸν ὑποδοχέα τῆς ἀποστακτικῆς συσκευῆς, ὁμοῦ μετὰ 30 κυβικῶν ἐκατοστῶν ἀπεσταγμένου ὕδατος. Ἠκολούθει ἀπόσταξις, μὲ βραδύν ρυθμὸν, μέχρι περιορισμοῦ τοῦ ὄγκου τοῦ δείγματος ἀπὸ 50 εἰς 5-7 κυβικά ἐκατοστά, τοῦ ἀποστάγματος συλλεγομένου εἰς ὀγκομετρικὴν φιάλην τῶν 100 κυβικῶν ἐκατοστῶν. Τὸ τελευταῖον συνεπληροῦτο μέχρι τῆς χαραγῆς δι' ἀπεσταγμένου ὕδατος.

Ἀκολούθως, ἐμετρεῖτο διὰ σιφωνίου ὄγκος 20 κυβικῶν ἐκατοστῶν διαλύματος διχρωμικοῦ καλίου (33,832 γραμμάρια εἰς τὸ λίτρον) καὶ μετεφέρετο εἰς ὀγκομετρικὴν φιάλην μετ' ἐσμυρισμένου πώματος, τοποθετουμένην ἐν συνεχείᾳ ἐν τῷς θρυμμάτων πάγου. Ἐντὸς τῆς ἰδίας ὀγκομετρικῆς φιάλης μετεφέροντο καὶ 10 κυβικά ἐκατοστά πυκνοῦ θειικοῦ ὀξέος (66 Be), μετρούμενα διὰ σιφωνίου. Τὸ διάλυμα διχρωμικοῦ καλίου καὶ τὸ θειικὸν ὀξύ ἀφίεντο ἐντὸς θρυμμάτων πάγου μέχρι νὰ ψυχθῶν τελείως. Τότε εἰσήγετο ἐντὸς τῆς ἰδίας κωνικῆς ἀπόσταγμα 5 κυβικῶν ἐκατοστῶν καὶ τὸ ὅλον παρέμενε ἐπὶ 10 λεπτά, προκειμένου ἡ ἀλκοόλη νὰ ὀξειδωθῆ πρὸς ὀξειδὸν ὀξύ (ποσότης 33,832 χιλιοσῶν τοῦ γραμμαρίου διχρωμι-

κοῦ καλίου ὀξειδῶνει 7,94 χιλιοστά τοῦ γραμμαρίου αἰθυλικῆς ἄλκοόλης).

Εἰς τὴν τελευταίαν φάσιν προσδιωρίζετο ἡ περίσσεια τοῦ διχρωμικοῦ καλίου διὰ βαθμιαίας προσθήκης διαλύματος ἑναμμωνίου θειικοῦ σιδήρου:



Ἐκ τῆς ἀνωτέρω ἀντιδράσεως συνάγεται ὅτι: Δύο κυβικά ἑκατοστά διαλύματος ἑναμμωνίου θειικοῦ σιδήρου (135,31 γραμμάρια/λίτρον) ἀντιστοιχοῦν πρὸς ἓν κυβικόν ἑκατοστόν διαλύματος διχρωμικοῦ καλίου (33,832 γρ. ἀνά λίτρον).

Ὁ ἔλεγχος τοῦ πέρατος τῆς ἀντιδράσεως ἐγένετο ὡς ἀκολούθως:

Κατὰ τὴν προσθήκην τοῦ διαλύματος τοῦ ἑναμμωνίου θειικοῦ σιδήρου, εἰς τὰ πρῶτα στάδια, τὸ περιεχόμενον τῆς φιάλης ἦτο καστανὸν ὑπομέλαν, συνεχιζομένης, ὅμως, τῆς προσθήκης τοῦ διαλύματος, τὸ χρῶμα τοῦτο καθίστατο πράσινον. Ἀπὸ τῆς στιγμῆς αὐτῆς ἐγένετο ἔλεγχος διὰ τὸ πέρασ τῆς ἀντιδράσεως. Πρὸς τὸν σκοπὸν αὐτὸν ἐχρησιμοποιεῖτο πλάξ πορσελάνης, τὰ βοθρία τῆς ὁποίας περιεῖχον διάλυμα σιδηρικού καλίου περιεκτικότητος 1 ο/ο (δείκτης). Ἐντὸς τῶν βοθρίων τούτων μετεφέροντο σταγόνες ἐκ τῆς φιάλης, αἱ ὁποῖαι ἀναμιγνύμεναι μὲ τὸν δείκτην ἔδιδον χρῶμα πορτοκαλίου, ἐφ' ὅσον ἡ ἀντίδρασις δὲν εἶχε φθάσει εἰς τὸ τέλος καὶ χρῶμα βαθύ κυανοῦν μετὰ τὴν συμπλήρωσιν αὐτῆς. Εἰς τὸ σημεῖον τοῦτο διεκδύετο ἡ προσθήκη διαλύματος τοῦ ἑναμμωνίου θειικοῦ σιδήρου, τὰ δὲ ἀναλυσκόμενα κυβικά ἑκατοστά, διαιρούμενα διὰ τοῦ 2, ἀφηροῦντο ἀπὸ τὰ εἴκοσι κυβικά ἑκατοστά τοῦ διαλύματος διχρωμικοῦ καλίου. Ἡ διαφορά ἐπολλαπλασιαζέτο ἐπὶ 7,94 καὶ ἔδιδε τὰ χιλιοστόγραμμα αἰθυλικῆς ἄλκοόλης, τὰ ὁποῖα περιείχοντο εἰς τὰ 5 κυβικά ἑκατοστά τοῦ ἀποστάγματος ἢ τὸ ἓν κυβικόν ἑκατοστόν τῆς ἄλμης. Τὸ ποσοστὸν τοῦτο, πολλαπλασιαζόμενον ἐπὶ 100, ἔδιδε τὴν ἑκατοστιαίαν περιεπι-

κότητα τῆς ἄλμης εἰς αἰθυλικὴν ἀλκοόλην.

Ἐφαρμογὴν εἰς τὴν περίπτωσιν αὐτὴν εἶχεν ὁ ἀκόλουθος τύπος:

$$(20 - \frac{V}{2}) \times 7,94 = \text{χιλιοστά τοῦ γραμμαρίου αἰθυλικῆς}$$

ἀλκοόλης ἀνά ἓν κυβικόν ἑκατοστὸν ἄλμης.

ὅπου V = κυβικὰ ἑκατοστά διαλύματος ἑναμμωνίου θειικοῦ σιδήρου.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τὰ ἀποτελέσματα προσδιορισμοῦ τῆς τιμῆς τοῦ pH, τῆς ὀγκομετρομένης ὀξύτητος, τῆς περιεκτικότητος εἰς χλωριούχον νάτριον, εἰς ἀναγωγικὰ οὐσία καὶ εἰς αἰθυλικὴν ἀλκοόλην τῆς ἄλμης τῶν κίτρων τῆς ἐργαστηριακῆς ζυμώσεως εἰς διαφόρους ἡμερομηνίας ἀπὸ τῆς ἐγκαταστάσεως τοῦ πευράματος, ἐμφανίζονται εἰς τοὺς ἐν συνεχείᾳ παρατιθεμένους πίνακας α, β, γ, δ καὶ ε, ἀντιστοίχως.

Τέλος, τὰ ἀποτελέσματα προσδιορισμοῦ τῶν ἰδίων συστατικῶν εἰς ἄλμην κίτρων βιομηχανικῆς ἐπεξεργασίας ἐμφανίζονται εἰς τὸν πίνακα στ.

Π Ι Ν Α Σ α

Εμφαίνων τήν πορείαν τῆς τιμῆς του pH εἰς ἄλλην κίτρων ἐργαστηρ. ἐπεξεργασίας

Περιοχή	Εναρξίς	Διακριτικόν	14/1	17/1	24/1	28/2	11/4	20/5	3/6	5/9	8/11
συλλογῆς	ζυμώσεως	βάζου ζυμώσεως	3,5	3,6	3,7	3,3	3,35	3,3	3,4	3,2	3,38
ΚΟΡΙΝΘΙΑ	10/1	1									
ΜΕΣΣΗΝΙΑ	10/1	2	3,2	3,2	3,4	2,9	3,10	2,8	2,9	2,9	2,95
ΚΡΗΤΗ	13/1	3	-	4,1	4,4	3,8	3,90	3,5	3,8	3,6	3,60
ΚΡΗΤΗ	13/1	4	-	4,1	4,4	3,8	3,90	3,5	3,8	3,6	3,60
ΜΕΣΣΗΝΙΑ	28/1	5	-	4,2	4,5	3,8	4,00	3,6	3,6	3,6	3,60

Π Ι Ν Α Σ β

Εμφαίνων τήν πορείαν τῆς ὀγκομετρομένης δξύτητος εἰς ἄλλην κίτρων ἐργαστηρ. αἰκῆς ἐπεξεργασίας ἐκπεφρασμένης εἰς κίτρικόν δξύ ο/ο (β/ο).

Περιοχή	Εναρξίς	Διακρ.	24/1	28/2	11/4	20/5	3/6	5/9	8/11
συλλογῆς	ζυμώσεως	βάζου	0,352	0,403	0,422	0,422	0,416	0,460	0,480
ΚΟΡΙΝΘΙΑ	10/1	1							
ΜΕΣΣΗΝΙΑ	10/1	2	0,486	0,524	0,505	0,505	0,537	0,460	0,448
ΚΡΗΤΗ	13/1	3	0,115	0,166	0,173	0,185	0,173	0,179	0,192
ΚΡΗΤΗ	13/1	4	0,109	0,166	0,173	0,166	0,153	0,153	0,147
ΜΕΣΣΗΝΙΑ	28/1	5	-	0,288	0,345	0,352	0,390	0,377	0,377

Π Ι Ν Α Ε γ

Εμφαίνων τήν πορείαν συγκεντρώσεως του χλωριούχου νατρίου ο/ο (β/ο) εις
 άλλην κίτρων έργαστηριακῆς ἐπεξεργασίας

Περιοχῆ : Ἐναρξίς : Διακριτικόν : Αρχική : 20/5 : 3/6 : 5/9
 συλλογῆς : ζυμώσεως : βάλ. ζυμώσεως : συγκεντρώσεως : 6,552 : 6,435 : 6,105
 ΚΟΡΙΝΘΙΑ 10/1 1 10 10 6,727 6,727 6,786

ΜΕΣΣΗΝΙΑ 10/1 2 10 10 5,733 5,908 6,025

ΚΡΗΤΗ 13/1 3 10 10 5,674 5,557 5,850

ΚΡΗΤΗ 13/1 4 10 10 6,669 6,522 6,727

ΜΕΣΣΗΝΙΑ 28/1 5 10 10 3/6 : 5/9 : 1,580

Π Ι Ν Α Ε δ

Εμφαίνων τήν πορείαν συγκεντρώσεως τῶν ἀναγωγικῶν σακχάρων εις άλλην κίτρων
 έργαστηριακῆς ἐπεξεργασίας ἐκπεφρασμένων εις γραμμάρια/100 κυβ. ἐκ. άλλης

Περιοχῆ : Ἐναρξίς : Διακριτικόν : 20/5 : 3/6 : 5/9
 συλλογῆς : ζυμώσεως : βάλ. ζυμώσεως : 1,527 : 1,514 : 1,580
 ΚΟΡΙΝΘΙΑ 10/1 1 10 10 0,426 0,675 0,294

ΜΕΣΣΗΝΙΑ 10/1 2 10 10 0,108 0,107 0,127

ΚΡΗΤΗ 13/1 3 10 10 0,132 0,148 0,152

ΚΡΗΤΗ 13/1 4 10 10 1,279 1,159 0,806

ΜΕΣΣΗΝΙΑ 28/1 5 10 10

Π Ι Ν Α Ξ Ε

Εμφανών τήν πορείαν σχηματισμού αλκυλικής αλκοόλης εις άλλην κίτρων έργαστηριακής ζυμώσεως (γραμμάρια / 100 κυβικά εκατοστά άλλης)

Περιοχή : Έναρξίς Διακριτικών : 11/4 : 20/5 : 3/6 : 5/9 : 8/11
 συλλογής : ζυμώσεως : βάζου ζυμώσεως :

KOPINΘIA	10/1	1	-	0,198	0,099	-	-
ΜΕΣΣΗΝΙΑ	10/1	2	-	0,893	0,794	0,596	-
ΚΡΗΤΗ	13/1	3	0,457	1,191	0,992	0,990	-
ΚΡΗΤΗ	13/1	4	0,357	0,992	0,893	0,600	-
ΜΕΣΣΗΝΙΑ	28/1	5	0,139	0,595	0,397	0,595	-

Π Ι Ν Α Ξ ΣΤ

Εμφανών τήν πορείαν διαμορφώσεως των τιμών της δγκομετρομένης δξύτητος, pH, NaCl, αναγωγικών σακχάρων καί άλλοδλης, συναρτήσει του χρόνου έναποθηκώσεως εις άλλην κίτρων βιομηχανικής ζυμώσεως, αναφερομένων εις δείγματα ληφθέντα έκ διαφορετικού, δι' έκαστην χρονικήν περίοδον, βαρελίου.

Σ υ σ τ α τ ι κ ά
 Ημέραι από της συσκευασίας
 10 20 30 60 90

Όξύτης εις κιτρικόν δεύ (β/ο)	0,102	0,262	0,205	0,326	0,352
pH	3,55	3,10	3,10	3,10	3,05
Χλωριούχον νάτριον ο/ο (β/ο)	2,39	10,1	10,46	11,92	12,50
Αναγωγικά σακχαρα ο/α (β/σ)	-	1,854	1,424	0,970	0,666
Αλκυλική αλκοόλη ο/ο (γραμμ./100 κυβ.εκ.)	-	-	-	-	0,496

Ἐκ τῆς μελέτης τῶν ὡς ἄνω στοιχείων ἐξήχθη τό συμπέρασμα, ὅτι τόσον εἰς τά κίτρα τῆς ἐργαστηριακῆς ζύμωσης, ὅσον καί τῆς βιομηχανικῆς τοιαύτης, παρατηρεῖται μία προοδευτική καί ἐλαφρά μείωσις τῆς τιμῆς τοῦ pH καί αὐξήσις τῆς ὀγκομετρομένης ὀξύτητος. Ἐν τούτοις, αἱ μεταβολαί τῶν ὡς ἄνω χαρακτηριστικῶν δέν εἶναι θεαματικά καί δέν θά πρέπει νά ἀποδοθοῦν εἰς γαλακτικήν ζύμωσιν. Πιθανή ἐξήγησις εἶναι ἡ προοδευτική ἐκχύλισις τῶν ὀξέων ἀπό τοῦς ἴστους τῶν κίτρων καί ἡ μεταφορά τούτων εἰς τήν ἄλμην, μέ ἀποτέλεσμα νά καθυστερήσῃ ἡ ἀποκατάστασις τοῦ ἰσοζυγίου.

Ὡς πρός τάς ἀναγωγικάς οὐσίας (σάκχαρα) τῆς ἄλμης διεπιστώθη μία μεγάλη διακύμανσις, ἀναλόγως τῆς προελεύσεως τῶν κίτρων, συνδεομένη, πιθανῶς, μέ διαφορετικάς εἰς ἐκάστην περίπτωσιν παραλλαγάς τῆς κιτρέας. Ἡ περιεκτικότης, ὅμως, τούτων εἰς τήν ἄλμην παρέμεινε πρακτικῶς σταθερά, καθ' ὅλην τήν διάρκειαν τοῦ πειραματισμοῦ, γεγονός τό ὁποῖον ἐπιβεβαιώνει τήν μή ἐγκατάστασιν ἐν τῇ ἄλμῃ μιᾶς τυπικῆς γαλακτικῆς ζυμώσεως.

Τέλος, ἡ σχηματισθεῖσα ἄλκοόλη εἰς τήν ἄλμην ἦτο ἀνευ σημασίας καί περιωρίσθη εἰς ἔχνη ἢ εἰς ὠρισμένα χιλιοστόγραμμα κατὰ ἑκατόν κυβικά ἑκατοστά δείγματος, ἐνῶ ἡ περιεκτικότης εἰς ἄλας διεμορφώθη εἰς τό ἐπίπεδον περίξ τοῦ 6,5 ο/ο προκειμένου περί τῶν κίτρων τῆς ἐπεξεργασίας ἐν σμικρῷ (μέ ἀρχικήν συγκέντρωσιν 10 ο/ο) καί ἄνω τοῦ 10 ο/ο εἰς τήν περίπτωσιν ἐπεξεργασίας τούτων ὑπό συνθήκας βιομηχανικῆς ζυμώσεως.

Πάντως, αἱ ἐπικρατοῦσαι συνθήκαι εἰς τά κίτρα τῆς ἐργαστηριακῆς ζυμώσεως ἦσαν εὐνοϊκαί τόσον διά τυπικήν γαλακτικήν ὅσον καί ἀλκοολικήν ζύμωσιν. Ἀντιθέτως, εἰς τά κίτρα βιομηχανικῆς ζυμώσεως ἡ ὑψηλή περιεκτικότης εἰς ἄλας ἀποτελεῖ παρεμποδιστικόν παράγοντα διά τήν ἀνάπτυξιν τῶν γαλακτοβακίλλων καί τῶν εὐγενῶν ζυμῶν.

Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο Ν Π Ε Μ Π Τ Ο Ν

ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ - ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κίττρα ἐκ τῶν κυριωτέρων κитροπαραγωγικῶν περιφερειῶν τῆς χώρας μας, ἤτοι τῆς Κορινθίας, τῆς Μεσσηνίας καὶ τῶν Χανίων, συνελέγησαν ἀσηπτικῶς, κατ'εὐθείαν ἐκ τῶν κитρεῶνων, ἐντός ἀπεστερωμένων ὑαλίνων βάζων καὶ ὑπεβλήθησαν εἰς ζύμωσιν δι' ἐμβαπτίσεώς των ἐντός ἀπεστερωμένης ἄλμης. Ἔτερα κίττρα, ἐκ τῶν περιοχῶν Χανίων καὶ Διακοπτοῦ, ὑπεβλήθησαν εἰς ζύμωσιν εἰς τὰ δμόνυμα κέντρα παραλαβῆς καὶ συσκευασίας κίτρων, συμφῶνως πρὸς τὴν ἀκολουθουμένην ἐκεῖ βιομηχανικὴν μέθοδον ἐπεξεργασίας των. Τέλος, ἐκ πληθυσμοῦ 200 κίτρων συλλεγέντων κατὰ καιρούς ἐξ ὅλων τῶν κитροπαραγωγῶν περιοχῶν τῆς χώρας, ἐλήφθη τυχαῖον δεῖγμα μεγέθους 49 κίτρων, τὸ ὁποῖον ἀπετέλεσεν ἀντικείμενον συστηματικῆς καὶ πλήρους ἀναλύσεως.

Εἰς τὸ δεῖγμα τῶν 49 κίτρων, ἐμελετήθησαν τὰ κύρια χημικὰ συστατικὰ τῶν ἰστῶν τοῦ κίτρου, ἡ ἑκατοστιαία συμμετοχὴ τῶν συνιστῶντων τὸ κίτρον μερῶν (ἐπι - κάρπιον, μεσοκάρπιον καὶ ἐνδοκάρπιον), ὡς καὶ τὰ πηκτολυτικὰ ἔνζυμα αὐτοῦ.

Ἡ μικροχλωρὶς ἡ ἀπαντῶσα ἐπὶ τῆς ἐξωτερικῆς ἐπιφανείας τῶν κίτρων, ἀλλὰ καὶ ἡ ἀναπτυσσομένη εἰς τὰ διάφορα στάδια ζυμώσεως τούτων ὑπὸ ἐργαστηριακῆς καὶ βιομηχανικῆς συνθήκας, ἐμελετήθη εἰς δείγματα ἄλμης ληφθέντα ἀνά ὠρισμένα χρονικὰ διαστήματα, τόσον ἐκ τῶν ὑαλίνων βάζων τοῦ ἐργαστηρίου, ὅσον καὶ ἐκ τῶν βαρελλίων τοῦ κέντρου παραλαβῆς καὶ συσκευασίας κίτρων εἰς Διακοπτόν.

Τὰ ἀποτελέσματα ἐκ τῆς μελέτης τῆς ἐν γένει συστάσεως τῶν κίτρων, τῶν πηκτολυτικῶν ἐνζύμων, τῆς μικροχλωρίδος, ὡς καὶ τῆς πορείας τῆς ζυμώσεως των ὑπὸ ἐργαστηριακῆς καὶ βιομηχανικῆς συνθήκας, παρατίθενται εἰς τὸ τέλος τῶν καθ' ἕκαστα κεφαλαίων τῆς παρούσης μελέτης. Ἐν τούτοις ὑπὸ τύπον γενικῶν συμπερασμάτων δύναται νὰ διατυπωθοῦν καὶ τὰ ἀκόλουθα:

1) Ἡ πλήρης ἀνάλυσις τῶν κίτρων, ἐπιχειρηθεῖσα τὸ πρῶτον, ἔδωσε τὰ ὄρια μεταξύ τῶν ὁποίων κυμαίνεται ἡ τιμὴ τῶν καθ' ἕκαστα συστατικῶν αὐτῶν. Ἡ ποιοτικὴ, ἐξ ἄλλου, ἀνάλυσις τῶν σακχάρων διὰ τῆς χρωματογραφίας ἐπὶ χάρτου καὶ λεπτῆς στοιβάδος ἀπέδειξε τὴν παρουσίαν γλυκόζης, φρουκτόζης καὶ σακχαρόζης καὶ ἐπιπλέον, ἐνός τετάρτου σακχάρου μέ τὰ χαρακτηριστικὰ τῆς λακτόζης. Σημασίας εἶναι ἀκόμη ἡ διαπιστωθεῖσα ἀπουσία πεντοζῶν ὑπὸ ἐλευθέραν μορφήν. Τέλος, ἡ ποιοτικὴ ἀνάλυσις τῶν σταθερῶν ὀξεῶν τοῦ χυμοῦ τῶν κίτρων ἀπέδειξε τὴν παρουσίαν κιτρικοῦ, μηλικοῦ καὶ ἀσκορβικοῦ ὀξεῶς εἰς τὸ ἐνδοκάρπιον, τῶν ἰδίων δέ ὀξεῶν καὶ ἐπιπλέον γαλακτικοῦ καὶ ὀξαλικοῦ εἰς τὸ μεσοκάρπιον. Ἰδιαιτέρας σημασίας θὰ πρέπει νὰ θεωρηθῇ ὁ ἀποκλεισμός, βάσει τῶν εἰδικῶν τεχνικῶν τὰς ὁποίας ἐφηρμόσαμεν, τοῦ τρυγικοῦ ὀξεῶς, ἀπὸ τοῦ ἱστοῦ τοῦ κίτρου, κατ' ἀντίθεσιν πρὸς τὰ βιβλιογραφικὰ δεδομένα τὰ σχετικὰ μέ τὰ ὀργανικὰ ὀξέα τῶν ἄλλων ἐσπεριδοειδῶν, ὡς καὶ ἡ διαπίστωσις τῆς παρουσίας γαλακτικοῦ ὀξεῶς. Ἡ παρουσία τοῦ τελευταίου ὀξεῶς εἰς φυτικούς ἱστούς εἶναι, ὡς γνωστόν, λίαν ἀσυνήθης.

2) Οἱ ἱστοὶ τοῦ κίτρου εἶναι πλούσιοι εἰς πηκτομεθυλεστεράση καὶ ἀπηλλαγμένοι πολυγαλακτουρονάσης. Ἡ πηκτομεθυλεστεράση τῶν κίτρων ἐκχυλίζεται βάσει εἰδικῆς διαδικασίας, ἥτις περιγράφεται εἰς τὸ ἀντίστοιχον κεφάλαιον καὶ ἔχει optimum pH διὰ δρᾶσιν πέριξ τοῦ οὐδετέρου σημείου (7,5-8,0). Ἰδιαιτέρας σημασίας θὰ πρέπει νὰ θεωρηθῇ ἡ παρουσία πηκτομεθυλεστεράσης εἰς ηὔξημένα ποσοστά εἰς δείγματα ἄλλης κίτρων ἐργαστηριακῆς καὶ βιομηχανικῆς ζυμώσεως. Τοῦτο ἐνδέχεται νὰ ἔχη σημασίαν διὰ τὸ "μαλάκωμα" τῶν ἱστῶν τοῦ κίτρου, τὸ ὁποῖον συνιστᾷ τὴν σοβαρωτέραν ἀλλοίωσιν τῶν κίτρων κατὰ τὸ στάδιον τῆς ζυμώσεώς των, παρά τὸ γεγονός, ὅτι, λόγῳ τῆς χαμηλῆς τιμῆς τοῦ pH τῆς ἄλλης, ἡ δρᾶσις τῆς πηκτομεθυλεστεράσης εἶναι περιωρισμένη. Ἐν τούτοις, ἡ ἀπόρριψις τῆς ἄλλης, εὐθύς ὡς ἐκχυλισθῇ τὸ μεγαλύτερον μέρος τῆς πηκτομεθυλεστεράσης καὶ ἡ ἀντικατάστασις διὰ νέας, θὰ ἔχη, ἴσως, εὐνοϊκὰς ἐπιπτώσεις ἐπὶ τῆς ποιότητος τῶν κίτρων.

3) Ἡ μικροχλωρίς τῶν κίτρων, τόσον εἰς τό στάδιον τῆς ἀκατεργάστου πρώτης ὕλης, ὅσον καί εἰς τό στάδιον τῆς ζυμώσεως ὑπό ἐργαστηριακᾶς, ἀλλά καί βιομηχανικᾶς συνθήκας, συντίθεται σχεδόν κατ' ἀποκλειστικότητά ἀπό ζύμας. Αἱ ζύμαι αὗται, ἐν ἀντιθέσει πρός τά ὄσα ἀναφέρονται εἰς τήν βιβλιογραφίαν, δέν εἶναι ἐκπρόσωποι ἐνός εἴδους (*Saccharomyces citri* n. sp.), ἀλλά πολλῶν γενῶν καί εἰδῶν. Ὁρισμέναί τούτων εἶναι καθαρῶς ὀξειδωτικάί, ἐνῶ ἄλλαι ἀνήκουν εἰς εἶδη μέ μεγάλας ζυμωτικᾶς ἰκανότητάς.

4) Γαλακτοβάκιλλοι δέν ἀπεμονώθησαν, οὔτε ὑπό βιομηχανικᾶς, οὔτε ὑπό ἐργαστηριακᾶς συνθήκας, γεγονός τό ὁποῖον εὐρίσκεται εἰς ἀντίφασιν πρός τά βιβλιογραφικά δεδομένα. Ἡ παντελής ἀπουσία τούτων, ἰδιαιτέρως ὑπό τᾶς εὐνοϊκᾶς συνθήκας τῆς ἐργαστηριακῆς ζυμώσεως (ἀπουσία διοξειδίου τοῦ θείου, λογική συγκέντρωσις χλωρίουχου νατρίου), παραμένει ἀνεξηγήτος καί θά πρέπει, ἐνδεχομένως, νά ἀποδοθῆ εἰς ὑπαρξιν εἰς τούς ἰστούς τῶν κίτρων οὐσίας ἢ οὐσιῶν μέ παρεμποδιστικῆν διά τήν ἀνάπτυξιν τῶν γαλακτοβακίλλων δρᾶσιν.

5) Προϊούσης τῆς ζυμώσεως δέν ἀπεδείχθη ὁ σχηματισμός, οὔτε ὀξέων (γαλακτικοῦ), οὔτε ἀλκοόλης, εἰ μή μόνον εἰς μικροποσότητάς ἢ ἔχνη. Τοῦτο ὑποδηλοῖ ὅτι τά ἡμίση τῶν κίτρων, καθ' ὄν χρόνον παραμένουν συσκευασμένα ἐντός ἄλλης, δέν ὑφίστανται ζύμωσιν, ἐν τῇ αὐστηρᾷ τῆς λέξεως ἐννοίᾳ, ἀλλά φυσικοχημικᾶς μεταβολάς, ὥστε νά καθίστανται προσφορώτερα διά τήν ἐπακολουθοῦσαν "σακχαρόπηξι". Ἡ κυριωτέρα μεταβολή φαίνεται ὅτι εἶναι ἡ ἐκχύλισις τῶν περισσοτέρων ὕδατοδιαλυτῶν οὐσιῶν καί ἡ μεταφορά τούτων εἰς τήν ἄλμην, μέ ἀποτέλεσμα νά καθίστανται αὐτά σπογγώδη καί εὐπλαστά καί νά ἀπορροφῶν σάκχαρα κατὰ τόν χρόνον παραμονῆς των ἐντός τῶν σιροπίων. Ταυτοχρόνως, ἀπαλλάσσονται καί ἀπό οὐσίας πικρᾶς καί στυφῆς γεύσεως.

S U M M A R Y

Citron fruits were sampled aseptically directly from the trees into sterile jars and added with brine to undergo fermentation. Other fruits were packed into barrels and subjected to processing under industrial conditions. Also a representative sample of forty-nine citron fruits was analyzed by following quantitative and for some constituents qualitative techniques.

Samples of brine, both from laboratory jars and industrial barrels, were withdrawn at definite time intervals and used as starting material to study microbes, both those occurring on the surface of fruits and those developing during processing. In addition the progress of fermentation was followed in both cases by measuring salt content, pH, acidity, alcohol and other variables.

In the sample analyzed were determined, first pectinolytic enzymes, second the percentages of the citron component parts (epicarp, mesocarp and endocarp) and third the main chemical constituents.

The whole work was divided into chapters, three of which deal with the study of chemical constituents, pectinolytic enzymes and microbes. The results have been presented, in detail, at the end of each chapter. Of these the most important can be summarized as follows:

1. Quantitative analysis of citron tissues, undertaken for most of its constituents, has given the limits between which each one fluctuates. Qualitative analysis, on the other hand, was limited to sugars and non-volatile organic acids and was performed in both cases by paper and thin-layer-chromatography. Chromatograms in the case of sugars have shown the presence of glucose, fructose, and sucrose, plus a fourth sugar with the characteristics of lactose. No pentoses

in the free state have been detected.

Chromatograms of non-volatile acids, on the other hand, have shown the presence of citric, malic and ascorbic acid in the endocarp and of the same acids, plus lactic and oxalic, in the mesocarp (albedo). Tartaric acid, although reported in the literature as constituent of other citrus fruits, has not been detected in the case of citron. Its detection by other workers possibly was due to improper techniques followed in preparing chromatograms. Also of importance is the occurrence of lactic acid in the sound tissues of citron, due to the fact that this acid occurs quite infrequently in the plant tissues.

2. The citron tissues, under our conditions of experimentation, have been shown rich in methylesterase and free of polygalacturonase. Conditions most appropriate for extraction of citron methylesterase are described in the text and also data related to its optimum pH. The latter was found to be around neutrality (7,5-8,0).

The increased amount of methylesterase in citron tissues possibly is connected with the softening of halves during storage, a deterioration common and severe from the standpoint of economic losses. Although its activity is hampered by the low pH of brine, it seems that replacement of brine, when most methylesterase is extracted, would improve quality of the finished product.

3. The microflora, both of raw (epiphytes) and of citron under processing, was found to consist exclusively of yeasts. The citron yeasts belonged to various genera and species and not to one species (*Saccharomyces citri*) as reported in the literature. Some of them were strictly oxidative and some were fermentative. In our study a total number of 39 pure yeast and yeast-like cultures were isolated and allocated to the

following seven genera, namely Saccharomyces, Hansenula, Pichia, Kloeckera, Candida, Pullularia and Geotrichum.

4. Lactic acid bacteria, in contrast to the literature reports, have not been isolated under either laboratory or industrial conditions. Lack of lactic acid bacteria, however, especially under the favorable laboratory conditions, remains inexplicable and possibly is due to the presence in the brine of substance(s) inhibiting their growth.

5. With the progress of fermentation neither alcohol nor acids were formed in appreciable amounts, a fact indicating that citron halves, by the time they are kept into the brine, do not undergo a seusu stricto fermentation. The changes that citron halves are subject to are physico-chemical in nature and such as to render them appropriate for candying. Of these the most important seems to be the extraction into the brine of water-soluble substances, such as sugars, tannins, acids and so on. It is for this extraction that halves become spongy and pliable and as such absorb easily sugar, when are submerged into the sirup, and lose their bitterness and astringency.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- I. Amerine, M. A. 1955. Laboratory Procedures for Enology. Univ. Cal., Col. Agr., Dep/ment Enol., Davis, Calif. U.S.A.
2. Association of Official Agricultural Chemists 1965. Official Methods of Analysis. Washington, D.C., U.S.A.
3. Bailey, R. W., and E. J. Bourne. 1960. Colour reactions given by sugars and diphenylamine-aniline spray reagents on paper chromatograms. J. Chromatog. 4: 206 - 213.
4. Balatsouras, G. D., and R. H. Vaughn 1958. Some fungi that might cause softening of storage olives. Food Research, 23: 235-243.
5. Βαμβακά, Ν. Ι. 1957. Ζύμωση και συντήρησις τῶν κίτρων διὰ στυκτηρίας. Χημ. Χρον. "Εκτ. Τεύχος. Δεκέμβριος 1957.
6. Barnett, H. L. 1962. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Sec. Ed. Burgess Publishing Co. Min. U.S.A.
7. Braverman, J. B. S. 1949. Citrus Products. Chemical Composition and Chemical Technology. Interscience Publishers, Inc., New York, London.
8. Chadefaux, S. 1924. La fermentation des cédrats. Rev. Hort. Algérie. 28: 214-221.
9. Chan, H. T. Jr., E. Chenchin, and P. Vonnahme. 1973. Nonvolatile acids in pineapple juice. J. Agr. Food Chemistry. 21: 208-211.
10. Chan, H. T. Jr., J. E. Brekke., and T. Chang 1971. Non-volatile organic acids in guava. J. Food Chem., 36: 237-239.
11. Consejo Superior de Investigaciones Cientificas. 1956. El aderezo de aceitunas verdes. Ed. del Instituto de la Grasa, Sevilla, España.
12. Coussin, B. R., and Z. Samish. 1968. The free amino acids of Israel orange juice. J. Food Sci. 33: 196-199.
13. Coussin, B. R., and Z. Samish. 1966. Effect of storage on the formal and chloramine-T values of processed single-strength and comminuted orange juices. Food Technol. 20: 115-116.

- I4. Cruess, W.V. 1948. Commercial fruit and vegetable products. Chapter XVIII. Fruit jams, Butters, Preserves and Confection. pp 407-427.
- I5. Cruess, W.V., and D. Glickson. 1932. Observations on brining and candying of citron. Fruit Prod. Journ. Amer. Vineg. Ind. Sept. 1932.
- I6. Demain, A.L., and H.J. Phaff. 1954. Hydrolysis of the polygalacturonides and pectic acid by yeast polygalacturonase. Journ. Biochem. 210 : 381-393.
- I7. Demain, A.L., and H.J. Phaff. 1957. Recent advances in the enzymatic hydrolysis of pectic substances. Wallerstein Laboratories Communications. 69:119-140.
- I8. Difco, Laboratories. 1953. Difco Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures. 9th edition. Difco Lab. Inc., Detroit 1, Michigan, U.S.A.
- I9. 'Εθνική Στατιστική τῆς 'Ελλάδος. 1974. Γεωργική Στατιστική τῆς 'Ελλάδος ἔτους 1971. 'Αθῆναι.
20. Fellers, C.R., and E.G. Smith. 1936. Chemical composition and fermentation studies on citron. J. Agr. Res. 53:859-867.
21. Gee, M., E.A. McComb, and R.M. McCready. 1958. A method for the characterization of pectic substances in some fruit and sugar-beet marcs. Food Res., 23:72-75.
22. Gee, M., and R.M. McCready. 1957. Paper chromatographic detection of galacturonic and glucuronic acids. Anal. Chem. 29:257-258.
23. Giacomo, A. 1974. Le jus de la bergamote. 12th International Congress on Agricultural and Food Industries. April 1974, Athens, Greece.
24. Hasegawa, S., and C.W. Nagel. 1968. Isolation of an oligogalacturonate hydrolase from a Bacillus species. Arch. Bioch. 124:513-520.

25. Hollande, A.Ch., et S.Chadefaux. 1924. Etude bactériologique de la fermentation en eau de mer des cédrats de Corse destinés à la confiserie Bul.Sci. Pharm. 31:458-471.
26. Hulme, A.C. 1971. The Biochemistry of Fruits and their Products. Vol. I and 2. Academic Press, London and New York.
27. Jansen, E.F., and L.R. MacDonnell. 1945. Influence of methoxyl content of pectic substances on the action of polygalacturonase. Arch. Biochem. 8:97-112.
28. Jansen, E.F., and L.R. MacDonnell. 1945. Simultaneous Actions of Polygalacturonase and Pectinesterase on Pectin. Western Regional Research Laboratory, Albany, California.
29. Jansen, E.F., and R. Jang. 1960. Orange pectinesterase binding and activity. Food Res. 25:64-72.
30. Joslyn, M.A. 1950. Methods in Food Analysis--Applied to Plant Products. Academic Press Inc., Publishers. New York 10, N.Y.
31. Joslyn, M.A. 1962. The pectic substances in "Advances in Food Research" (C.O. Chichester, E.M. Mrak and G.F. Stewart eds). 11:1-107. Academic Press, New York.
32. Κατσούρα, Γ.Κ. 1971. Συμβολή εις την άναγνώρισιν της νοθείας του πορτοκαλοχυμού. II. Άξιολόγησις κριτηρίων τινών γνησιότητος χυμού πορτοκαλίων. Χημ. Χρον. 36:185-190.
33. Kertesz, Z.I. 1951. The pectic substances. Interscience Publishers Inc. New York, N.Y.
34. Kraght, A.J., and M.P. Starr. 1953. Pectic enzymes of *Erwinia carotovora*. Arch. Biochem. Biophysic. 42:271-277.
35. Κριάρη, Α. 1958. Καλλιέργεια των έσπεριδοειδών. "Εκδοσις Σπ. Σπύρου. Άθήναι.
36. Λεγάκι, Φ.Α. 1961. Συμβολή εις την μελέτην της ζυμοχλωρίδος μήλων και μηλιτών. "Εκδοσις συγγραφέως. Άνωτάτη Γεωπονική Σχολή Άθηνών. Βοτανικός Άθήναι.

37. Lineweaver, H., R. Jang., and E. F. Jansen. 1949. Specificity and purification of polygalacturonase. *Arch. Biochem.* 20:137-152.
38. Lodder, J., and N. J. W. Kreger-Van Rij. 1952. *The yeasts, A Taxonomic study.* Interscience Publishers Inc., New York.
39. Lodder, J. 1970. *The yeasts. A Taxonomic study.* North-Holland Publishing Company-Amsterdam. London.
40. Ludin, A., and Z. Samish. 1963. Données préliminaires sur la composition des agrumes d'Israël. Institut National d'Agriculture. Université de Rehovot, Israël.
41. MacMillan, J. D., and R. H. Vaughn. 1964. Purification and properties of Polygalacturonic Acid-trans-eliminase produced by *Clostridium multifementans*. *Biochem.* 3:564-572.
42. MacMillan, J. D., H. J. Phuff., and R. H. Vaughn. 1964. The pattern of action of an Exopolygalacturonic acid-trans-eliminase from *Clostridium multifementans*. *Biochemistry.* 3:572-578.
43. McComb, E. A., and R. M. McCready. 1952. Colorimetric determination of pectic substances. *Anal. Chemistry.* 24:1630-1632.
44. McCready, R. M., and E. A. McComb. 1952. Extraction and determination of total pectic substances in fruits. *Anal. Chem.* 24:1986-1989.
45. McCready, R. M., E. A. McComb., and E. F. Jansen. 1955. The action of tomato and avocado polygalacturonase. *Food Res.* 20:186-191.
46. McCulloch, L. 1927. *Curing and preserving citron.* Circular No 13, U.S.D. Agriculture. Washington, D.C.
47. Μπαλατσούρα, Γ. Δ. 1966. Συμβολή εις την μελέτην της χημικής συστάσεως και της μικροχλωρίδος της διατηρουμένης εν άλμη ώριμου Κονσερβοληᾶς. Ἐκδοσις Ἐθνικοῦ Τυπογραφείου. Ἀνωτάτη Γεωπονική Σχολή Ἀθηνῶν.

48. Nagel, Ch. W., and R. H. Vaughn. 1961. The characteristics of polygalacturonase produced by *Bacillus polymyxa*. *Arch. Bioch. Bioph.* 93:344-352.
49. Nagel, Ch. W., and R. H. Vaughn. 1961. The degradation of oligogalacturonides by the polygalacturonase of *Bacillus polymyxa*. *Arch. Bioch. Bioph.* 94:328-332.
50. Nagel, Ch. W., and R. H. Vaughn. 1962. Comparison of growth and pectolytic enzyme production by *Bacillus polymyxa*. *J. Bact.* 83:1-5.
51. Nasuno, S., and M. P. Starr. 1966. An endopolygalacturonase from *Erwinia carotovora*. *J. Biol. Chem.* 241:5298-5306.
52. Newbold, R. P., and M. A. Joslyn. 1950. Chemistry of analytically important pectic acids I. Chemical properties of Ehrlich, Wichmann and Carré-haynes pectic acids. *Association of Official Agricultural Chem.* 35:872-891.
53. Nortje, B. K., and Vaughn, R. H. 1953. The pectolytic activity of species of the genus *Bacillus*. Qualitative studies with *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* in relation to the softening of olives and pickles. *Food Res.* 18:57-69.
54. Owens, H. S., R. M. McCready, A. D. Shepherd, T. H. Schultz, E. L. Pippen, H. A. Swenson, J. C. Miers, R. F. Erlandsen, and W. D. Maclay. 1952. Methods used at western regional research laboratory for extraction and analysis of pectic materials. Bureau of Agricultural and Industrial Chemistry, Agricultural Research Administration, United States Department of Agriculture.
55. Παπαμιχαήλ, Δ. Κ. 1969. Μαθήματα στατιστικής. Τεύχος Α. 'Αθήναι.
56. Patel, D. S., and H. J. Phaff. 1960. Studies on the purification of tomato polygalacturonase. *Food Res.* 25:37-45.
57. Pederson, C. S., and M. N. Albury. 1950. Effect of temperature upon bacteriological and chemical changes in fermenting cucumbers. *Bulletin*, N^o 744, N. Y. State Agr. Exp. Station-Geneva, N. Y.

- 58 .Phaff,H.J.,and A.L.Demain.1956.The unienzymatic nature of yeast polygalacturonase.J.Biol. Chem . 218:875-884.
- 59 .Pilnik,W.,and A.G.Voragen.1970.Pectic Substances and other Uronides,Chapter 3 in "The Biochemistry of Fruits and their Products" edited by A. C.Hulme,I:53-67.Academic Press London and New York.
- 60 .Pifferi,P.G.1965.Improved thin layer chromatographic separation of hexoses and pentoses using kieselgel G. Istituto di Chimica e Industrie Agrarie-University of Padova,Padova,Italy.
- 61 .Reeve,R.M.,M.Gee,and R.M.McCready.1959.Measurement of plant pectic substances:Reaction of hydroxylamine with pectenic acids.Chemical Studies and Histochemical Estimation of the Degree of Esterification of Pectic Substances in Fruits.Agr. and Food Chemistry. 7:34-38
- 62 .Ribereau-Gayon,J.,et E.Peynaud.1947.Analyse et contrôle des vins.Librairie Polytechnique.Ch. Béranger-Paris-Liége.
- 63 .Rushing,N.B.,and V.J.Senn.1965.Effect of vitamin K₅ on ascorbic acid stability in orange juice. J.Food Sci. 30:178-180.
- 64 .Samish,Z.,and J.Feigenbaum.1951.Detection of citrus pulp in non-citrus jams.J.Food Research . 16:474-476.
- 65 .Seegmiller,C.G.,and E.F.Jansen.1952. Polymethylgalacturonase,an enzyme causing the glucosidic hydrolysis of esterified pectic substances. J. Biol.Chem.195:327-336.
- 66 Skinner,C.E.,E.W.Chester.,and H.M.Tsuchiya. 1962. Henrici's Molds,yeasts and Actinomycetes.Sec.Ed.

John Wiley & Sons and Chapman and Hall, Ltd. New York & London.

- 67 . Society of American Bacteriologists. 1957. Manual of microbiological methods. McGraw Hill Book Company, Inc. New, York.
- 68 . Tanner, H. 1964. Der papierchromatographische Nachweis von organischen säuren in frucht- und gemüsesäften. Schweizerischen Zeitschrift für Obst- und weinbau. Band 73: 150-154.
- 69 . Ting, S.V., and J.A. Attaway. 1971. "Citrus Fruits", Chapter 3 in "The Biochemistry of Fruits and their Products" edited by A.C. Hulme 2: 107-169. Academic Press, London and New York.
- 70 . Vandercook, C.E., L.A. Rolle, H.L. Postlmayr, and R. A . Utterberg. 1966. Lemon juice composition. V. Effects of some fruit storage and processing variables on the characterization of lemon juice. J. Food Sci. 31: 58 - 62.
- 71 . Webber, H.J., and L.D. Batchelor. 1967. The citrus industry. Vol. I. History, Botany and Breeding. Agricultural Publications. University of California. Berkley, California.
- 72 . Wickercham, L.J. 1951. Taxonomy of yeasts. U.S. Dept. Agr. Techn. Bull. N° 1029.
- 73 . Ζαμπέλα, Δ. 'Αντ. 1971. Μαθήματα Γεωργικών Βιομηχανιών . 'Αθήναι.

Π Α Ρ Α Ρ Τ Η Μ Α

ΠΙΝΑΚΩΝ ΚΑΙ ΣΧΕΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Π Ι Ν Α Κ 1

ΕΜΦΑΙΝΩΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟΝ % ΤΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΜΕΣΟΚΑΡΗΙΟΥ ,
ΒΑΡΟΣ ΤΟΥ

α/α	Αριθμός στοιχείων ομάδος	ΠΟΣΟΣΤΟΝ % ΜΕΣΟΚΑΡΗΙΟΥ		ΠΟΣΟΣΤΟΝ %
		ΕΥΡΟΣ ΟΜΑΔΩΝ	ΚΕΝΤΡΟΝ ΟΜΑΔΩΝ	
1	1	40,172-49,030	44,601	30,057-38,362
2	30	49,030-58,482	53,756	23,489-30,057
3	6	58,482-60,218	59,350	22,897-23,489
4	5	60,218-61,954	61,086	22,317-22,897
5	6	61,954-65,370	63,662	20,167-22,317
6	1	65,370-66,806	66,088	19,615-20,167

ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ ΚΑΙ ΕΠΙΚΑΡΠΙΟΥ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟ ΟΛΙΚΟΝ
 ΚΑΡΠΟΥ ΚΙΤΡΩΝ

ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ ΚΕΝΤΡΟΝ ΟΜΑΔΩΝ	ΠΟΣΟΣΤΟΝ ΕΥΡΟΣ ΟΜΑΔΩΝ	% ΕΠΙΚΑΡΠΙΟΥ ΚΕΝΤΡΟΝ ΟΜΑΔΩΝ	ΠΟΣΟΣΤΟΝ % ΜΕΣΟ- ΚΑΡΠΙΟΥ ΚΑΙ ΕΠΙ- ΚΑΡΠΙΟΥ
34,362	20,917-21,157	21,037	65,638
6,773	18,025-20,917	19,471	73,227
3,198	16,879-18,025	17,452	76,802
2,607	15,735-16,879	16,307	77,393
1,242	14,457-15,735	15,096	78,758
9,891	13,585-14,457	14,021	80,109

Π Ι Ν Α Κ 2						
ΕΜΦΑΙΝΩΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟΝ %		ΕΠΙΡΑΣ ΟΥΣΙΑΣ		ΚΑΙ ΥΓΡΑΣΙΑΣ		ΕΙΣ ΚΑΡΠΟΥΣ ΚΙΤΡΩΝ
α/α	Ποσοστόν % ξηράς ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοτόν % ξηράς ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοτόν % ύγρασας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοτόν % ύγρασας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ		
1	9,714	12,469	90,286	87,531		
2	10,021	8,940	89,979	91,060		
3	10,739	8,998	89,261	91,002		
4	10,312	8,863	89,688	91,137		
5	11,344	9,064	88,656	91,936		
6	11,733	7,884	88,267	92,116		
7	11,652	10,322	88,348	89,678		

8	11,844	10,587	88,156	89,413
9	14,985	9,962	85,015	90,038
10	14,783	12,471	85,217	87,529
11	14,867	-	85,133	-
12	11,862	-	88,138	-
13	9,228	-	90,772	-
14	11,142	-	88,858	-
15	9,148	-	90,852	-

Π Ι Ν Α Κ 3

ΕΜΦΑΙΝΩΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟΝ %	ΠΗΚΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ	ΕΙΣ ΚΑΡΠΟΥΣ	ΚΙΤΡΩΝ	
α/α	Ποσοστόν % έπι ξηράς ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % έπι ξηράς ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % έπι νωπής ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ	
1	1,506	1,191	13,384	11,902
2	1,438	1,217	12,775	12,161
3	1,403	1,180	12,471	11,790
4	1,515	1,169	13,460	11,679
5	1,568	1,031	13,933	11,004
6	1,662	1,039	14,770	11,086
7	1,630	1,021	14,491	10,895
8	1,696	1,027	15,070	10,963
9	1,658	-	14,737	-
10	1,699	-	15,097	-
11	1,677	-	14,906	-
12	1,618	-	14,376	-

Π Ι Ν Α Κ 4

ΕΜΦΑΙΝΩΝ ΤΗΝ ΟΛΙΚΗΝ ΟΓΚΟΜΕΤΡΟΥΜΕΝΗΝ ΟΕΥΤΗΤΑ ΕΚΠΕΦΡΑΣΜΕΝΗΝ ΕΙΣ ΚΙΤΡΙΚΟΝ
ΟΕΥ % ΕΙΣ ΚΑΡΠΟΥΣ ΚΙΤΡΩΝ

α/α	Ποσοτόν % έπί ξηράς ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοτόν % έπί ξηράς ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοτόν % έπί νωπής ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοτόν % έπί νωπής ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ
1	3,080	21,414	0,356	2,132
2	4,222	24,708	0,488	2,460
3	1,816	18,179	0,210	1,810
4	1,072	16,623	0,124	1,655
5	1,401	12,364	0,162	1,231
6	1,139	11,229	0,134	1,118
7	1,747	18,903	0,202	1,882
8	2,197	21,032	0,254	2,094
9	0,891	11,249	0,103	1,120
10	0,458	9,843	0,053	0,980
11	1,522	23,292	0,176	2,319
12	0,969	26,998	0,112	2,687
13	1,211	25,000	0,140	2,489
14	1,348	28,661	0,156	2,854

Π Ι Ν Α Κ 5

ΕΜΦΑΙΝΩΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟΝ % ΑΖΩΤΟΥ ΚΑΙ ΑΚΑΤΕΡΓΙΑΣΤΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΕΙΣ ΜΕΣΟΚΑΡΙΩΝ ΚΑΡΙΩΝ ΚΙΤΤΩΝ

α/α	N % έπί νωπής βάσεως	'Ακατέργαστοι πρωτεΐναι % έπί νωπής βάσεως	N % έπί ξηρης βάσεως	'Ακατέργαστοι πρωτεΐναι % έπί ξηρης βάσεως
1	0,0676	0,422	0,650	4,062
2	0,0680	0,425	0,700	4,375
3	0,0728	0,455	0,749	4,681
4	0,0680	0,425	0,700	4,373
5	0,1046	0,653	0,800	5,000
6	0,0515	0,322	0,700	4,375
7	0,0751	0,469	0,700	4,375
8	0,0968	0,605	0,852	5,329
9	0,0965	0,603	0,828	5,140
10	0,0986	0,616	0,840	5,250
11	0,0983	0,614	0,747	4,668

12	0,0899	0,561	0,758	4,742
13	0,0960	0,600	0,853	5,331
14	0,1030	0,643	0,991	6,193
15	0,0934	0,583	0,893	5,581
16	0,1314	0,821	0,874	5,462
17	0,1009	0,630	0,965	6,001
18	0,1197	0,748	1,145	7,156
19	0,1032	0,645	0,986	6,162
20	0,0918	0,573	0,878	5,487

Π Ι Ν Α Ε 6
 ΕΜΦΑΙΝΩΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟΝ % ΑΖΩΤΟΥ ΚΑΙ ΑΚΑΤΕΡΓΑΣΤΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΕΙΣ ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΝ
 ΚΑΡΠΩΝ ΚΙΤΡΩΝ

α/α	N % επί νωπής βάσεως	'Ακατέργαστοι πρωτεΐναι % επί νωπής βάσεως	N % επί ξηράς βάσεως	'Ακατέργαστοι πρωτεΐναι % επί ξηράς βάσεως
1	0,1252	0,7825	1,400	8,750
2	0,1252	0,7825	1,400	8,750
3	0,1259	0,7868	1,400	8,750
4	0,1278	0,7987	1,420	8,875
5	0,1740	1,0875	1,304	8,875
6	0,1104	0,6900	1,056	6,600
7	0,1151	0,7193	1,101	6,881
8	0,1150	0,7187	1,100	6,875
9	0,1071	0,6693	1,025	6,406

Π Ι Ν Α Κ 7

ΕΜΦΑΝΙΩΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟΝ % ΑΚΑΤΕΡΓΑΣΤΩΝ ΛΙΠΩΝ ΕΙΣ ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΝ ΚΑΙ ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΝ
ΚΑΡΠΩΝ ΚΙΤΡΩΝ

α/α	Ποσοστόν % επί ξηράς ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % επί ξηράς ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % επί νωπής ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % επί νωπής ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ
1	1,2639	4,1389	0,1323	0,0908
2	0,6525	0,9120	0,0654	0,4326
3	0,6361	4,3452	0,0683	0,4470
4	0,7729	4,3777	0,0769	0,4641
5	0,8747	1,4008	0,0875	0,1412
6	0,7446	-	0,0928	-
7	0,7009	-	0,0795	-
8	0,6786	-	0,0796	-
9	0,8571	-	0,0843	-
10	1,1219	-	0,1103	-
11	1,0679	-	0,1050	-

Π Ι Ν Α Κ 8
 ΕΜΦΑΙΝΩΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟΝ % ΑΚΑΤΕΡΓΑΣΤΩΝ ΙΝΩΝ ΕΙΣ ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΩΝ ΚΑΙ ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΩΝ
 ΚΑΡΠΩΝ ΚΙΤΡΩΝ

α/α	Ποσοστόν % έπιξ ξηράς ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % έπιξ ξηράς ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % έπιξ νωπής ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % έπιξ νωπής ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ
1	12,093	12,524	1,265	1,247
2	14,458	11,946	1,448	1,488
3	12,875	10,351	1,343	1,082
4	12,432	10,459	1,236	1,088
5	13,587	9,948	1,359	0,998
6	14,179	-	1,605	-
7	13,611	-	1,596	-
8	11,561	-	1,137	-
9	9,651	-	0,949	-
10	10,858	-	1,068	-

ΕΜΦΑΙΝΩΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟΝ % ΤΕΦΡΑΣ ΕΙΣ ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΝ ΚΑΙ ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΝ
ΚΑΡΠΩΝ ΚΙΤΡΩΝ

α/α	Ποσοστόν % έπιξ ξηράς ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % έπιξ ξηράς ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % έπιξ νωπής ούσας ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΥ	Ποσοστόν % έπιξ νωπής ούσας ΕΝΔΟΚΑΡΠΙΟΥ
1	2,181	4,704	0,322	0,413
2	2,321	4,415	0,345	0,407
3	1,761	4,071	0,263	0,385
4	2,761	5,024	0,343	0,396
5	2,836	4,653	0,286	0,420
6	2,834	4,591	0,293	0,509

Π Ι Ν Α Κ Η 10
ΕΜΦΑΙΝΩΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟΝ % ΕΙΣ ΑΝΑΓΩΓΙΚΑ, ΜΗ ΑΝΑΓΩΓΙΚΑ ΚΑΙ ΟΛΙΚΑ ΣΑΚΧΑΡΑ
ΕΙΣ ΚΑΡΠΟΥΣ ΚΙΤΡΩΝ

α/α	Αναγωγικά σάκχαρα επί νύπης βάσεως %	Μή αναγωγικά σάκχαρα επί νύπης βάσεως %	Σύνολον άναγω- γιών κατ μή σακχάρων επί νύπης βάσεως%	Αναγωγικά σάκχαρα επί ξηράς βάσεως %	Μή αναγωγικά σάκχαρα επί ξηράς βάσεως %	Σύνολον άναγω- γιών κατ μή σακχάρων επί ξηράς βάσεως%
Α. ΜΕΣΟΚΑΡΠΙΟΝ						
1	4,812	0,216	5,028	41,634	1,869	43,503
2	5,117	0,933	6,050	44,272	8,072	52,344
3	8,816	0,442	9,258	76,276	3,824	80,100
4	8,145	0,144	8,289	70,471	1,246	71,717
5	4,955	0,158	5,113	42,871	1,367	44,238
6	4,866	0,207	5,073	42,101	1,791	43,892

<u>B. ΕΝΔΟΚΑΠΗΘΙΟΝ</u>						
1	4,009	0,621	4,630	40,267	6,237	46,504
2	5,123	0,654	5,777	51,456	6,569	58,025
3	4,555	0,753	5,308	45,751	7,563	53,314
4	4,555	0,220	4,775	45,755	2,210	47,961
5	4,494	0,406	4,900	45,139	4,078	49,217

Π Ι Ν Α Κ 11

ΕΜΦΑΝΙΣΗΝ ΤΗΝ ΜΕΣΗΝ ΧΗΜΙΚΗΝ ΣΥΣΤΑΣΙΝ ΤΩΝ ΚΙΤΩΝ

α/α	Συστατικόν %	Διακύμανσις τιμών εἰς νωπὸν μεσοκάρπιον	Διακύμανσις τιμών εἰς νωπὸν ἔνδοκάρπιον
1	Ύγρασα	87,3560- 89,5280	88,9420- 91,1460
2	Πηκτικαὶ οὐσαι	1,5250- 1,6530	1,0370- 1,1810
3	Ὀλική Ο.Ο. (κιτριδόν)	0,1250- 0,2550	1,5490- 2,2850
4	Ἀκατέργαστοι πρωτεῖναι	0,5170- 0,6230	0,6864- 0,8770
5	Ἀκατέργαστοι λιπαραί	0,0759- 0,1027	0,0880- 0,5422
6	Ἀκατέργαστοι ζῆες	1,1470- 1,4530	0,9380- 1,4220
7	Τέφρα	0,2800- 0,3380	0,3750- 0,4690
8	Ἀναγωγικὰ σάκχαρα	4,1820- 8,0540	4,0820- 5,0660
9	Μὴ ἀναγωγικὰ σάκχαρα	0,0210- 0,6790	0,2670- 0,7930
	ΣΥΝΟΛΟΝ	95,2289-102,6857	97,9644-103,7812

α/α	Συστατικόν %	Διακύμανσις τιμών εἰς ἀφυδατωμένον μεσοκάρπιον	Διακύμανσις τιμών εἰς ἀφυδατωμένον ἔνδοκάρπιον
1	Πηκτικαί οὐσαι	13,5480- 14,6960	11,0170- 11,8530
2	Ύολιμή 0.0.(κιτρινόν)	1,0590- 2,2410	15,6410- 22,8590
3	ΎΑκατέργαστοι πρωτεΐναι	5,0970- 5,8830	6,9490- 8,6150
4	ΎΑκατέργαστοι λιπαράς	0,7102- 0,9936	0,8921- 5,1777
5	ΎΑκατέργαστοι ζίνες	11,4360- 13,6240	9,9050- 12,1870
6	Τέφρα	1,7220- 3,1760	4,2420- 4,9100
7	ΎΑναγωγικά σάκχαρα	36,1890- 69,6870	40,7510- 50,6010
8	Μή ἀναγωγικά σάκχαρα	0,2520- 5,8040	2,9340- 7,7280
	ΣΥΝΟΛΟΝ	70,0132-116,1046	92,3310-123,9307

Π Ι Ν Α Κ Η 12

Έμφανών τῶν ἰσθῶδες καὶ τῶν pH τῶν δειγμάτων πρώτης σειράς (pH = 4,10)

Διακριτικὸ δείγματος	Σύστασις	Ίσθῶδες εἰς δευτερόλεπτα	Τελικὸν pH
M ₁	Έναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας+3 κυβικὰ ἐκ. ὕδατος	41,5	4,15
M ₂	Έναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας+3 κυβικὰ ἐκ. ὕδατος	43,0	4,15
1A	Έναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας + 2 κυβικὰ ἐκατοστὰ ὕδατος+ 1 κυβ. ἐκ. ἐνζύμου τοῦ μεσοκαρπίου	41,5	4,10
2A	Έπανάληψις τοῦ δειγματος 1A	42,0	4,10
3A	Έναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας+2 κυβ. ἐκατοστὰ ἐνζύμου τοῦ μεσοκαρπίου	43,0	4,10
4A	Έπανάληψις τοῦ δειγματος 3A	43,0	4,10
5A	Έναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας + 3 κυβικὰ ἐκατοστὰ ἐνζύμου τοῦ μεσοκαρπίου	41,0	4,10
6B	Έναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας + 2 κυβικὰ ἐκατοστὰ ἐνζύμου τῆς σαρκὸς	42,0	4,05
7B	Έπανάληψις τοῦ δειγματος 6B	42,5	4,05
8B	Έναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας + 1 κυβικὸν ἐκατοστὸν ὕδατος + 1 κυβικὸν ἐκατοστὸν ἐνζύμου τῆς σαρκὸς	42,5	4,05
9B	Έπανάληψις τοῦ δειγματος 8B	43,0	4,05
10B	Έναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας + 3 κυβικὰ ἐκατοστὰ ἐνζύμου τῆς σαρκὸς	41,0	4,05

Π Ι Ν Α Κ Η 13

'Εμφαινών τό Ιξώδες καί τό pH των δειγμάτων τής δευτέρας σειράς (pH = 7,8)

Διακριτικόν δείγματος	Σ ύ σ τ α σ ι ς	'Ιξώδες εἰς δευτερόλεπτα	Τελικόν pH
M ₁	'Εναιώρημα πηκτικῆς ούσας + 3 κυβικὰ ἔκατοστά ὕδατος	32,0	7,15
M ₂	'Εναιώρημα πηκτικῆς ούσας ὡς τό M ₁	30,0	7,15
1A'	'Εναιώρημα πηκτικῆς ούσας + 1 κυβικόν ἔκατοστόν ἐνζύμου τοῦ μεσοκαρπίου	30,0	7,15
2A'	'Επανάληψις τοῦ δείγματος 1A'	30,5	7,15
3A'	'Εναιώρημα πηκτικῆς ούσας + 2 κυβικὰ ἔκατοστά ἐνζύμου τοῦ μεσοκαρπίου	31,0	7,15
4A'	'Επανάληψις τοῦ δείγματος 3A'	31,0	7,05
5A'	'Εναιώρημα πηκτικῆς ούσας + 3 κυβικὰ ἔκατοστά ἐνζύμου τοῦ μεσοκαρπίου	31,0	7,05
6B'	'Εναιώρημα πηκτικῆς ούσας + 2 κυβικὰ ἔκατοστά ὕδατος + 1 κυβ. ἔκατοστόν ἐνζύμου τοῦ ἔνδοκαρπίου	Ζελοποίησης	6,85
7B'	'Επανάληψις τοῦ δείγματος 6B'	Ζελοποίησης	6,80
8B'	'Εναιώρημα πηκτικῆς ούσας + 1 κυβικόν ἔκατοστόν ὕδατος + 2 κυβικὰ ἔκατοστά ἐνζύμου τῆς σαρκός	Ζελοποίησης	6,70
9B'	'Επανάληψις τοῦ δείγματος 8B'	Ζελοποίησης	6,80
10B'	'Εναιώρημα πηκτικῆς ούσας + 3 κυβικὰ ἔκατοστά ἐνζύμου τῆς σαρκός	Ζελοποίησης	6,85
H ₂ O	—	22	—

Π Ι Ν Α Κ 14

Εμφανών τὰ ἀποτελέσματα μετρήσεως τῶν ἀναγωγικῶν ὀμῶδων εἰς δειγματο τῆς πρώτης σειράς pH = 4,4 (μετὰ τὴν ὄξιν τοῦ ἀντιστοίχου ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος)

Διακριτικὰ δειγματος	Σ ὕ σ τ α σ ι ς	Διάλυμα N/10 Na ₂ S ₂ O ₃ κυβ. ἐκ.	Διάλυμα N/10 J ₂ ὑπολειφθέντα κυβικὰ ἐκίτοστά
Μάρτυς	20 κυβικὰ ἐκίτοστά ὕδατος 20 κυβ. ἐκ. N/10 διαλύματος J ₂ 5 κυβ. ἐκ. N/2 διαλύματος NaOH 5 κυβ. ἐκ. 2N διαλύματος H ₂ SO ₄	20,0	0
M ₁	20 κυβ. ἐκ. ὑποστρώματος 20 κυβ. ἐκ. N/10 διαλύματος J ₂ 5 κυβ. ἐκ. N/2 διαλύματος NaOH 5 κυβ. ἐκ. 2N διαλύματος H ₂ SO ₄	18,2	1,8
M ₂	"	18,2	1,8
1A	"	18,3	1,7
2A	"	17,1	2,9
3A	"	13,9	6,1
4A	"	17,0	3,0
5A	"	16,7	3,3
6B	"	18,0	2,0
7B	"	-	-
8B	"	18,3	1,7
9B	"	17,7	2,3
10B	"	19,6	0,4

Π Ι Ν Α Κ Η 15

Εμφάνων τὰ αποτελέσματα μετρήσεως τῆς μεθανόλης εἰς δείγματα τῆς δευτέρας σειρᾶς (pH = 7,8)

Διακριτικὰ δείγματα	Δόδος φωτός	Ὀπτική πυκνότης	Παρατηρήσεις
Μάρτυς	100	0	"Όλα τὰ ἀντιδραστήρια ἐξαιρέσει τοῦ ἀποστάγματος
Μεθανόλη 0,25 o/oo	29	0,54	Χημικῶς καθαρὴ
2A'	26	0,59	"Ενζυμον μεσοκαρπίου
7B'	22	0,63	"Ενζυμον σαρκῶς
8B'	21	0,68	" "
9B'	18	0,75	" "
10B'	17	0,76	" "
7B	95	0,025	Δείγμα ἐκ τῆς πρώτης σειρᾶς, ἢ τοῦ pH = 4,4

Εμφάνων τὰ ἀποτελέσματα τῶν παρατηρήσεων ἐπὶ τῆς ταχύτητος καὶ ἐντάσεως ζελοποίηση-
σεως εἰς δειγμάτα περιέχοντα αὐτούσιον ἐνζυμικόν παρασκευάσμα

Π I N A E 16

Διακριτικὰ δειγμάτων	Παρατηρήσεις μετὰ 24 ὡρον	Παρατηρήσεις μετὰ πενθήμερον
7 - A1	Οὐδεμίαν ζελοποίησην	Οὐδεμίαν ζελοποίησην
7 - A2	"	"
7 - A3	"	"
7 - A4	"	"
7 - B1	Ζελοποίησης κατ' ἐπιφάνειαν	Σιληρά ζελοποίησης καθ' ὅλην τὴν μάζαν
7 - B2	"	Μαλακὴ ζελοποίησης καθ' ὅλην τὴν μάζαν
7 - B3	Πλήρης ζελοποίησης	Σιληρά ζελοποίησης καθ' ὅλην τὴν μάζαν
7 - B4	"	"
7 - Γ1	Ἐλαφρὰ ζελοποίησης κατ' ἐπιφάνειαν	Ἡμιτελής ζελοποίησης
7 - Γ2	"	"
7 - Γ3	"	"

7 - Γ4	'Ελαφρά ζελοποίησης κατ'έπιφάνειαν νείαν	Ζελοποιήσεις κατ'έπιφάνειαν
7 - Δ1	Ζελοποιήσεις κατὰ τὸ ἄνω ἥμισυ τοῦ πάχους	Σκληρά ζελοποιήσεις καθ'ὄλην τὴν μάζαν
7 - Δ2	Πλήρης ἀλλὰ μαλακὴ ζελοποιήσεις	" "
7 - Δ3	" "	" "
7 - Δ4	" "	" "
7 - Ε1	Οὐδέμελα ζελοποιήσεις	'Ελαχίστη ζελοποιήσεις κατ'έπιφάνειαν
7 - Ε2	" "	" "
7 - Ε3	" "	" "
7 - Ε4	" "	" "
M	Οὐδέμελα ζελοποιήσεις	Οὐδέμελα ζελοποιήσεις

Π Ι Ν Α Κ 17

Εμφάνων τὰ ἀποτελέσματα τῶν παρατηρήσεων ἐπὶ τῆς ταχύτητος καὶ τῆς ἐντάσεως ζελοποιήσεως εἰς δειγµατα περιέχοντα ἐνζυµικόν παρασκευάσµα ὑποβληθέν εἰς διαπήδησιν

Διακριτικὸν δειγµατος	Παρατηρήσεις μετὰ 24 ὥρων	Παρατηρήσεις μετὰ 5 ἡμερον
7 - Α΄	Οὐδεµία ζελοποιήσις	Οὐδεµία ζελοποιήσις
7 - Α΄ ₂	" "	" "
7 - Α΄ ₃	" "	" "
7 - Α΄ ₄	" "	" "
7 - Β΄	Ζελοποιήσις κατὰ τὸ ἄνω ἥμισυ τοῦ πάχους	Πλήρης, ἀλλὰ µαλακὴ ζελοποιήσις
7 - Β΄ ₂	" "	" "
7 - Β΄ ₃	Πλήρης, ἀλλὰ µαλακὴ ζελοποιήσις	Πλήρης, ἀλλὰ µαλακὴ ζελοποιήσις
7 - Β΄ ₄	" "	" "

7 - Γ1	'Ελαχίστη ζελοποίησης κατ'έπιφάνειαν νειαν	'Ελαχίστη ζελοποίησης κατ'έπιφάνειαν
7 - Γ2	"	"
7 - Γ3	'Επιφανειακή ζελοποίησης πάχους μικροτέρου του ήμισους	'Επιφανειακή ζελοποίησης πάχους μικροτέρου του ήμισους
7 - Γ4	"	Σχεδόν πλήρης ζελοποίησης
7 - Δ1	Ζελοποίησης κατὰ τὸ ἄνω ἥμισυ τοῦ πάχους	Ζελοποίησης κατὰ τὸ ἄνω ἥμισυ τοῦ πάχους
7 - Δ2	"	Πλήρης, ἀλλὰ μαλακή ζελοποίησης
7 - Δ3	Πλήρης, ἀλλὰ μαλακή ζελοποίησης	"
7 - Δ4	"	"
7 - Ε1	Οὐδεμία ζελοποίησης	Οὐδεμία ζελοποίησης
7 - Ε2	"	"
7 - Ε3	"	"
7 - Ε4	"	"
M	"	"

Εμφαίνων τὸ ἰξῶδες τῶν δειγμάτων ἐναλωμάτων πηκτικῆς οὐσίας pH = 4			
Π I N A E 18			
Δείγματα ἀναμιχθέντα μετὰ ἀποτύπωμα ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα	Δείγματα ἀναμιχθέντα μετὰ ἀποτύπωμα ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα	Δείγματα ἀναμιχθέντα μετὰ ἀποτύπωμα ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα	Δείγματα ἀναμιχθέντα μετὰ ἀποτύπωμα ἐνζυμικὸν παρασκευάσμα
Διακριτικὰ δειγμάτων	Ἰξῶδες εἰς δευτερόλεπτα Μετὰ 4 ἡμερον	Ἰξῶδες εἰς δευτερόλεπτα Μετὰ 6 ἡμερον	Ἰξῶδες εἰς δευτερόλεπτα Μετὰ 4 ἡμερον Μετὰ 6 ἡμερον
M ₁	124	99,5	M ₁ 138 117
M ₂	102	83	M ₂ 116 100
M ₃	115	99	M ₃ 121 107
4 - A ₁	18	18	4 - A ₁ 18 18
4 - A ₂	18	18	4 - A ₂ 18 18
4 - A ₃	18	18	4 - A ₃ 18 18
4 - A ₄	18	18	4 - A ₄ 18 18
4 - B ₁	137	64	4 - B ₁ 118 86
4 - B ₂	139	139	4 - B ₂ 118 111
4 - B ₃	150	126	4 - B ₃ 124 107
4 - B ₄	151	152	4 - B ₄ 122 93

4 - Γ_1	139	129	4 - Γ_1	121	123
4 - Γ_2	150	149	4 - Γ_2	121	106
4 - Γ_3	158	158	4 - Γ_3	115	110
4 - Γ_4	152	150	4 - Γ_4	117	110
4 - Δ_1	152	138	4 - Δ_1	110	95
4 - Δ_2	150	141	4 - Δ_2	112	93
4 - Δ_3	161	150	4 - Δ_3	113	91
4 - Δ_4	154	150	4 - Δ_4	111	102
4 - E_1	103	82	4 - E_1	97	79
4 - E_2	102	85	4 - E_2	98	80
4 - E_3	101	78	4 - E_3	97	74
4 - E_4	102	75	4 - E_4	102	77

Π Ι Ν Α Κ 19

Εμφανών τὰ ἀποτελέσματα μετρήσεων τῶν ἀναγωγικῶν ὀμῶν εἰς δέγματα ρΗ=4

Διακριτικὰ δέγματα	Σύστασις	Διάλυμα N/10 Na ₂ S ₂ O ₃ κυβ.έκατοστά	Διάλυμα N/10 J ₂ ὑποειφθέντα κυβ.έκατοστά
M ₄	10 κυβικὰ ἑκατοστά ἑνωρήματος πηκτικῆς οὐσίας 25 κυβικὰ ἑκατοστά διαλύματος N/10 J ₂ 10 κυβικὰ ἑκατοστά διαλύματος 2N NaOH 10 κυβικὰ ἑκατοστά διαλύματος 2N H ₂ SO ₄	19,2	5,8
4-A3	" " " "	9,5	15,5
4-B2	" " " "	21,4	3,6
4-Γ2	" " " "	24,8	0,2
4-Γ3	" " " "	25,0	0
4-Δ2	" " " "	20,4	4,6
4-Δ3	" " " "	22,7	2,3
4-E2	" " " "	22,5	2,5

Π Ι Ν Α Κ 20

'Εμφανών των τά αποτελέσματα μετρήσεως τής μεθανόλης εις χρωματομέτρον

Διακριτικὸν δειγματος	'Επεξεργασία πρὸ τῆς ἀποστάξεως	'Οπτικὴ πυκνότης	Διακριτικὸν δειγματος	'Επεξεργασία πρὸ τῆς ἀποστάξεως	'Οπτικὴ πυκνότης
7-M ₁	" Ἀνευ ὀξινύσεως	0,75	4-M ₁	" Ἀνευ ὀξινύσεως	0,045
7-M ₂	" "	0,85	4-M ₂	" "	0,080
7-M ₃	'Οξινύσις μέχρι pH=4	0,26	4-A ₂	" "	0,785
7-M ₄	" "	0,24	4-A ₄	" "	0,900
7-A ₁	" Ἀνευ ὀξινύσεως	0,51	4-A ₄	" "	0,720
7-A ₁ '	" "	0,57	4-B ₁	" "	0,050
7-A ₂	" "	0,53	4-B ₄	" "	0,045
7-A ₂ '	'Οξινύσις μέχρι pH=4	0,29	4-B ₄ '	" "	0,055
7-A ₃	" Ἀνευ ὀξινύσεως	0,55	4-Γ ₄	" "	0,068
7-B ₁	" "	0,79	4-Δ ₄	" "	0,072
7-B ₂	" "	0,59	4-Δ ₄ '	" "	0,033
7-Δ ₁	" "	0,90	4-Ε ₄	" "	0,080
7-Δ ₃	'Οξινύσις μέχρι pH=4	0,08	4-Ε ₄ '	" "	0,055
7-Ε ₁	" Ἀνευ ὀξινύσεως	0,54	7-Ε ₂	'Οξινύσις μέχρι pH=4	0,200
7-Ε ₁ '	" "	0,52	7-Ε ₃	" Ἀνευ ὀξινύσεως	0,550

Π Ι Ν Α Κ 21

Εμφανών τὰ ἀποτελέσματα τῶν παρατηρήσεων ἐπὶ τῆς ταχύτητος καὶ ἐντάσεως ζελοποίησης εἰς δεῦματα ἐναιωρήματος πεπτινῆς οὐσίας

Διακριτικὸν δεῦγματος	Κατηγορίαν ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος	Π α ρ α τ η ρ ῆ σ ε ι ς			
		24 ὥραι	2 ἡμέραι	4 ἡμέραι	
7-A1, 7-A2 7-A3, 7-A4	Ἐκχύλισμα πεπτινῆς ἐμπορίου	Οὐδεμία ζελοποίησης	Οὐδεμία ζελοποίησης	Οὐδεμία ζελοποίησης	
7-B1, 7-B2 7-B3, 7-B4	Ἐκχύλισμα μεσοκαρπίου μέρυ - θμιστινῶν διάλυμα pH=7 (A-7-X)	Σηληρός ζελές	Σηληρός ζελές	Σηληρός ζελές	
7-B1, 7-B2 7-B3, 7-B4	Ἐκχύλισμα ἐνδοκαρπίου μέρυ - θμιστινῶν διάλυμα pH=7 (Σ-7-X)	Μαλακός ζελές	Μαλακός ζελές	Μαλακός ζελές	
7-Γ1, 7-Γ2 7-Γ3, 7-Γ4	Ἐκχύλισμα μεσοκαρπίου μέρυ - θμιστινῶν διάλυμα pH=7 περιέχον 2% NaCl (A-7-M)	Σηληρός ζελές	Σηληρός ζελές	Σηληρός ζελές	
7-Γ1, 7-Γ2 7-Γ3, 7-Γ4	Ἐκχύλισμα ἐνδοκαρπίου μέρυ - θμιστινῶν διάλυμα pH=7 περιέχον 2% NaCl (Σ-7-M)	Μαλακός ζελές	Μαλακός ζελές	Μαλακός ζελές	
7-Δ1, 7-Δ2 7-Δ3, 7-Δ4	Ἐκχύλισμα μεσοκαρπίου μέρυ - θμιστινῶν διάλυμα pH=4 (A-4-X)	Οὐδεμία ζελοποίησης	Οὐδεμία ζελοποίησης	Οὐδεμία ζελοποίησης	

7-Δ1, 7-Δ2 7-Δ3, 7-Δ4	7-Ε1, 7-Ε2 7-Ε3, 7-Ε4	7-Ε1, 7-Ε2 7-Ε3, 7-Ε4	7-Χ1, 7-Χ2 7-Χ3, 7-Χ4	7-Μ1, 7-Μ2 7-Μ3, 7-Μ4
Επιχλωρίδιο ενδοκαρπίου με ρυθμιστική διάλυμα pH=4 (Σ-4-Χ)	Επιχλωρίδιο μεσοκαρπίου με ρυθμιστική διάλυμα pH=4 περιέχον 2 % NaCl (Α-4-Μ)	Επιχλωρίδιο ενδοκαρπίου με ρυθμιστική διάλυμα pH=4 περιέχον 2 % NaCl (Σ-4-Μ)	Χυμός κίτρου παραλαμβανόμενος δι' επίθεσης μεσοκαρπίου	Εναίωρημα πηκτινικής ούσας 1% εις ρυθμιστικήν διάλυμα pH=7
Ζελοποίησης	Μαλακός ζελές	Μαλακός ζελές	Μαλακός ζελές	Μαλακός ζελές
Ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης
Ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης
Ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης	Ούδεμία ζελοποίησης

A= Μεσοκάρπιον, Σ= Ένδοκάρπιον, Χ= Χυμός χλωριούχον νάτριον, Μ= Μετά χλωριούχου νατρίου

Π Ι Ν Α Κ Ή 22

Εμφανών τά αποτελέσματα μετρήσεως της μεθανόλης εις δειγματα pH=7 καί pH=4

Διακριτικά δειγματα	Δείγματα pH = 7			4 ήμερών	Δείγματα pH = 4	
	1 ημέρας	2 ήμερών	4 ήμερών		Διακριτικά δειγματα	7 ήμερών
7-M1, 7-M2	0,075	0,065	-	4-M4	0,020	
7-A1, 7-A2	0,160	0,110	-	4-A4	0,350	
7-B1, 7-B2, 7-B3	0,370	0,540	0,450	4-B4	0,019	
7-B1, 7-B2, 7-B3	0,515	0,550	0,530	4-B4	0,025	
7-Γ1, 7-Γ2, 7-Γ3	0,570	0,630	0,640	4-Γ4	0,025	
7-Γ1, 7-Γ2, 7-Γ3	0,490	0,560	0,630	4-Γ4	0,019	
7-Δ1, 7-Δ2, 7-Δ3	0,060	0,075	0,190	4-Δ4	0,018	
7-Δ1, 7-Δ2, 7-Δ3	0,110	0,200	0,370	4-Δ4	0,010	
7-Ε1, 7-Ε2, 7-Ε3	0,190	0,380	0,570	4-Ε4	0,025	
7-Ε1, 7-Ε2, 7-Ε3	0,240	0,465	0,580	4-Ε4	-	
7-Χ1, 7-Χ2	0,055	0,075	-	4-Χ4	-	

Σημείωσις: Τά δειγματα pH=7 ώξεινίζοντο μέχρι pH=4 πρό της αποστάξεως

Εμφανών τας άναγωγικής ομάδας εις δείγματα έναιωρήματος πηκτικής ούσας με διαφορετικόν pH καί διαφορετικόν χρόνον έπώσεως (όγκος ύποστρώματος 25 κυβ.εκ.)

pH ύποστρώματος = 4		pH ύποστρώματος = 7	
Δείγματα 24 ώρου έπώσεως		Δείγματα 7 ημέρου έπώσεως	
Διακριτικα δείγματα	Διάλυμα N/10 J2 κυβ.εκ. λαβόντα μέρος εις δξεί- δωσιν	Διακριτικα δείγματα	Διακριτικα δείγματα
Λευκόν	0,1	Λευκόν	Λευκόν
4-M1	6,7	4-M2	7-M4
4-A1	10,7	4-A2	7-A4
4-B1	6,8	4-B1	7-B4
4-B1	6,8	4-B1	7-B4
4-Γ1	6,7	4-Γ2	7-Γ4
4-Γ1	6,9	4-Γ2	7-Γ4
4-Δ1	6,8	4-Δ2	7-Δ4
4-Δ1	6,9	4-Δ2	7-Δ4
4-E1	6,7	4-E2	7-E4
4-E1	6,5	4-E2	7-E4
4-X1	6,5	4-X2	7-X4
		Διάλυμα N/10 J2 κυβ.εκ. λαβόντα μέρος εις δξεί- δωσιν	Διάλυμα N/10 J2 κυβ. εκ. λαβόντα μέρος εις δξεί- δωσιν
		0,1	0,1
		5,6	5,6
		14,9	8,2
		6,6	6,2
		7,4	5,2
		6,3	5,2
		6,2	6,0
		-	5,9
		6,1	4,5
		6,9	6,0
		6,4	6,1
		6,4	6,2

Π Ι Ν Α Κ 24

Έμφανίζων τας άναγωγικας ομάδας εις ύποστρωμα έναυωρήματος πηκτικης ούσας 0,5 % μέ δυο τιμας pH καί διάφορον χρόνον έπαύσεως υπό θαν 38 °C.

Διακριτικιά δείγματος	pH = 3			pH = 5		
	Επίπασις εις ώρας	Επίπασις εις ώρας	Επίπασις εις ώρας	Επίπασις εις ώρας	Επίπασις εις ώρας	Επίπασις εις ώρας
Λευκόν	24	48	96	24	48	96
Μ	0,2	0,3	0,1	0,4	0,3	0,2
Α	3,1	3,6	2,7	4,6	3,9	-
Β	6,4	6,8	7,6	6,0	7,4	7,6
Β'	3,0	3,6	-	3,2	3,7	3,0
Γ	3,2	3,6	3,1	3,3	3,8	-
Γ'	3,0	3,6	-	3,3	3,6	-
Δ	3,4	3,6	-	3,4	3,3	-
Δ'	3,1	3,7	-	3,6	3,2	-
Ε	3,4	3,8	-	3,3	3,6	-
Ε'	3,2	3,8	-	3,3	3,6	-
Χ	3,3	3,5	-	3,4	3,6	-
	-	-	-	-	-	3,9

Παρατήρησις: Οί αριθμοί δηλοϋν τά κυβικά έκατοστά διαλύματος Ν/10 J2, τά όποια έλαβον μέρος εις τήν οξειδωσιν των άναγωγικων ομάδων των 25 κυβικων έκατοστών ύποστρώματος

Εμφανών τας αναγωγικὰς ομάδας εἰς ὑποστρώματα ἐναλωρήματος πηκτικῆς οὐσίας καὶ πηκτικῶν ὀξέος

Διακρι- τικὰ δείγματα	Ἐπιπόσις			Ἐπιπόσις	Ἐπιπόσις
	5 ἡμέραι	7 ἡμέραι	8 ἡμέραι		
Λευκὸν	0,5	0,3	0,2	0,3	7 ἡμέραι
Ν	0,7	1,5	2,4	11,2	12,0
Α	7,0	6,5	3,3	15,5	16,7
Β	1,6	0,6	2,1	11,0	12,0
Β'	0,8	1,0	2,1	12,0	11,8
Γ	0,5	-	2,1	12,0	11,9
Γ'	0,6	0,6	2,1	12,0	11,8
Δ	0,5	0,5	2,4	11,8	12,0
Δ'	-	0,6	2,3	12,0	11,3
Ε	0,7	0,7	2,4	12,0	11,7
Ε'	0,7	0,8	2,4	12,3	11,5
Χ	0,9	-	2,3	12,0	11,6

Παρατήρησις: Οἱ ἀριθμοὶ δηλοῦν τὰ κυβικὰ ἐματοστὰ διαλύματος Ν/10 J₂, τὰ ὅποια ἔλαβον μέρος εἰς τὴν δξείδωσιν τῶν ἀναγωγικῶν ομάδων τῶν 15 κυβικῶν ἐματοστῶν ὑποστρώματος

Π Ι Ν Α Ε 26

Έμφανίτων τας αναγωγικας ομάδας εις ύποστρωμα έναιωρήματος πηκτικης ούσας 1 % ύποβληθείσης εις σαπωνοποίησην κατ διαπήδησιν επί τριήμερον (πολυ - πηκτικόν δξύ)

Διακριτικόν δείγματος	Έπίωσις 5 ήμερών	Έπίωσις 8 ήμερών
Δευκόν	0,5	1,9
M	2,5	3,5
A	39,0	23,0
B	3,5	2,8
B ₁	3,6	3,4
Γ	4,0	3,0
Γ ₁	4,0	3,0
Δ	3,6	3,1
Δ ₁	3,7	2,8
Ε	3,5	2,8
Ε ₁	3,7	2,7

Παρατήρησις: Οί άριθμοί δηλούν τας αναγωγικας ομάδας του ύποστρώματος εις κυβικά εκατοστά διαλύματος N/50 J2.

Εμφανών τα αποτελέσματα μετρήσεως της μεθανόλης εις δείγματα έναυρημάτος πηκτικής ούσας 1 % pH = 7

Διακριτικά δείγματα	Ο π τ λ κ ή π υ κ ν ό τ η ς				
	Επώσας 1 ήμερας	Επώσας 2 ήμερών	Επώσας 4 ήμερών	Επώσας 5 ήμερών	Επώσας 5 ήμερών
Μ	0,122	0,235	0,190	0,250	0,250
Α	0,125	0,150	0,255	0,220	0,220
Β	0,370	0,610	0,560	0,400	0,400
Β'	0,600	0,640	0,510	0,335	0,335
Γ	0,630	0,642	0,460	0,415	0,415
Γ'	0,485	0,590	0,540	0,410	0,410
Δ	0,070	0,120	0,220	0,270	0,270
Δ'	0,080	0,240	0,360	0,340	0,340
Ε	0,310	0,410	0,520	0,345	0,345
Ε'	0,152	0,350	0,510	0,465	0,465
Χ	0,075	-	-	-	-

Π Ι Ν Α Κ 28

Έμφανών τας άναγωγικας ομάδας (χιλιοστούσδύναμα X 50) εις ύποστρώματα pH=4 σαπωνοποιηθείσης πηκτικής ούσας (Α), πηκτικής ούσας άνευ κατεργασίας (Β) και πηκτικού όξέος (Γ)

Διαμο- τική δείγμα- τος	Έκχύλισμα ένζυμου άνευ κατεργασίας		Έκχύλισμα ένζυμου ύποβληθέν εις διαπήδησιν	
	1 κυβ.έκ.ένζυμου δράσις 2 ήμερών 15 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος	2 κυβ.έκ.ένζ. δράσις 3 ήμ. 15 κυβ.έκ. ύποστρώματος	1 κυβ.έκ.ένζυμου δράσις 4 ήμερών 15 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος	2 κυβ.έκ.ένζ. δράσις 4 ήμερ 15 κυβ.έκατοσ ύποστρώματος
Λευκό	0,7	2,8	0,7	0,2
Μ	-	2,8	-	4,0
Α-α	6,5	10,2	2,8	-
Α-β	6,7	10,0	2,2	-
Α-γ	6,3	7,2	2,7	-
Α-δ	7,2	11,0	2,6	-
Α-α1	5,5	8,5	3,0	-
Α-β1	5,8	9,7	2,9	-
Α-γ1	5,9	5,8	3,3	-
Α-δ1	6,0	9,6	3,5	-
Α-ε	-	16,6	-	-

B- α	7,0	11,7	-	2,4	-
B- β	5,7	11,3	-	2,7	-
B- γ	7,7	9,6	-	4,9	-
B- δ	7,2	11,3	-	-	-
B- $\alpha 1$	6,0	8,3	-	4,6	-
B- $\beta 1$	6,5	7,6	-	5,4	-
B- $\gamma 1$	6,5	7,3	-	4,4	-
B- $\delta 1$	6,5	7,8	-	-	-
B- ϵ	-	18,0	-	19,3	-
Γ - α	-	5,0	-	3,0	-
Γ - β	-	6,4	-	2,8	-
Γ - γ	-	5,8	-	3,3	-
Γ - δ	-	6,0	-	2,8	-
Γ - $\alpha 1$	-	4,4	-	2,5	-
Γ - $\beta 1$	-	6,7	-	2,8	-
Γ - $\gamma 1$	-	5,5	-	3,3	-
Γ - $\delta 1$	-	5,7	-	-	-
Γ - ϵ	-	17,6	-	18,6	-

Π Ι Ν Α Κ 29

Εμφανών τας άναγωγικας ομάδας (χιλιοστοίσοδύναμα Χ50) εις ύποσφάματα ΡΕ=3,25 σαπυνο-
ποιτημένης πηκτικης ούσας (Α), αύτουσας πηκτικης ούσας (Β) καί πηκτικον όξέος (Γ)

Διακρι- τικά δείγμα- τος	Εκχύλισμα ένζυμου άνευ κατεργασίας				Εκχύλισμα ένζυμου ύποβληθέν εις δια- σθήσιν			
	1 κυβ.έκ. ένζυμου δράσας 2 ήμ.	2 κυβ. έκ. ένζυμου δράσας 4 ήμ.	3 κυβ.έκ. ένζυμου δράσας 7 ήμ.	1 κυβ.έκ. ένζυμου δράσας 2 ήμ.	2 κυβ.έκ. ένζυμου δράσας 4 ήμ.	3 κυβ.έκ. ένζυμου δράσας 7 ήμ.	2 κυβ.έκ. ένζυμου δράσας 4 ήμ.	3 κυβ.έκ. ένζυμου δράσας 7 ήμ.
Λευκόν	0,9	0,8	1,0	0,9	0,5	-	-	-
A-M	2,7	2,6	2,7	2,0	-	-	-	-
A-α	10,1	13,1	15,5	2,0	2,3	-	-	-
A-β	10,0	12,2	18,7	2,3	-	-	-	-
A-γ	10,8	12,4	19,2	2,3	2,5	-	-	-
A-δ	10,8	13,7	19,5	2,6	2,3	-	-	-
A-α1	8,0	9,4	11,7	2,6	3,0	-	-	-
A-β1	8,5	9,5	19,5	2,7	2,8	-	-	-
A-γ1	8,3	10,7	19,5	2,5	3,2	-	-	-
A-δ1	8,3	10,1	14,1	2,0	2,4	-	-	-
A-ε	18,7	18,5	19,2	-	-	-	-	-
B-M	2,0	2,4	2,3	-	-	-	-	-

B-α	9,3	12,3	16,1	2,5	2,0	2,9
B-β	9,3	11,6	14,3	2,5	2,2	2,6
B-γ	9,5	12,4	15,2	2,3	2,0	2,6
B-δ	10,0	12,3	15,6	2,5	2,2	2,9
B-α1	7,0	9,1	11,7	2,5	2,5	3,5
B-β1	7,5	12,8	19,7	2,5	2,4	3,3
B-γ1	7,0	11,7	19,7	2,5	2,4	3,0
B-δ1	7,6	11,9	13,3	2,5	2,4	3,0
B-ε	18,0	18,4	18,7	-	-	-
Γ-M	1,6	2,4	2,1	2,0	-	-
Γ-α	8,8	11,7	15,1	2,2	2,6	2,9
Γ-β	9,1	16,9	18,4	2,3	1,2	2,3
Γ-γ	9,5	16,8	18,7	2,2	2,0	2,2
Γ-δ	9,9	13,6	15,5	2,5	1,2	2,5
Γ-α1	6,8	8,3	11,3	2,4	2,5	3,0
Γ-β1	7,1	10,5	19,3	2,0	2,1	3,0
Γ-γ1	7,3	11,8	19,6	2,1	2,3	2,8
Γ-δ1	7,5	7,4	18,9	1,9	1,3	2,0
Γ-ε	18,0	18,3	18,6	-	-	-

Παρατήρησης : Είς όλας τός άνωτέρω μετρήσεις τό ύπόστρωμα ήτο 15 κυβικά έκατοστά

Π Ι Ν Α Κ 30

Εμφανών τὰ ἀποτελέσματα μετρήσεως τῆς μεθανόλης εἰς δείγματα pH = 7
(ὑπόστρωμα: ἐναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας 1 %)

Διακριτικὰ δείγματα	Παρατηρήσεις ἐπὶ τῆς ζελοποίησης μετὰ 2 ἡμέρας	Ὅ π τ ι κ ῆ π υ κ ν ὀ τ η ς		
		"Ενζυμον διατηρηθέν δρᾶσις 2 ἡμερῶν	"Ενζυμον ἄνευ οὐδεμιᾶς δρᾶσις 2 ἡμερῶν	κατεργασίας δρᾶσις 4 ἡμερῶν
Δ-Μ	Οὐδεμία ζελοποίησης	0,155	0,155	0,123
Δ-α	Ἐλαχίστη ζελοποίησης	0,610	0,610	0,720
Δ-β	Σκληρὰ ζελοποίησης	0,510	0,600	0,500
Δ-γ	Μαλακὴ ζελοποίησης	0,520	0,550	0,510
Δ-δ	Σκληρὰ ζελοποίησης	0,600	0,570	0,408
Δ-α ₁	Ἐλαχίστη ζελοποίησης	0,490	0,600	0,540
Δ-β ₁	Σκληρὰ ζελοποίησης	0,570	0,540	0,582
Δ-γ ₁	Μαλακὴ ζελοποίησης	0,570	0,530	0,510
Δ-δ ₁	Σκληρὰ ζελοποίησης	0,610	0,600	0,498
Δ-ε	Οὐδεμία ζελοποίησης	0,230	0,270	0,235

Έμφάνων τῶ ἀποτελέσματα μετρήσεως τῆς μεθανόλης εἰς δειγματα pH = 7
(ὑπόστρωμα: ἔλαιώδες πηκτικῆς οὐσίας 1 %)

Διακριτικὰ δειγματα	'Εγκχύλισμα ἔνζυμου ἄνευ κατεργασίας		'Εγκχύλισμα ἔνζυμου ὑποβληθέν εἰς δισπῆσιν	
	1 κυβ. ἐκ. ἔνζυμου δρῶσις 2 ἡμερῶν 25 κυβ. ἔκατοστά ὑποστρώματος	2 κυβ. ἐκ. ἔνζυμου δρῶσις 4 ἡμερῶν 25 κυβ. ἔκατοστά ὑποστρώματος	1 κυβ. ἐκ. ἔνζυμου δρῶσις 2 ἡμερῶν 25 κυβ. ἔκατοστά ὑποστρώματος	2 κυβ. ἐκ. ἔνζυμου δρῶσις 4 ἡμερῶν 25 κυβ. ἔκατοστά ὑποστρώματος
Δ-Π	0,155	0,175	0,155	0,175
Δ-α	0,680	0,680	0,640	0,640
Δ-β	0,660	0,560	0,640	0,640
Δ-γ	0,700	0,620	0,610	0,610
Δ-δ	0,620	0,680	0,685	0,680
Δ-α1	0,665	0,620	0,685	0,700
Δ-β1	0,660	0,630	0,680	0,800
Δ-γ1	0,665	0,600	0,665	0,650
Δ-δ1	0,700	0,630	0,700	0,750
Δ-ε	0,260	0,175	0,260	0,175

Π Ι Ν Α Κ 32

Εμφανών της αναγωγικής ομάδας (χιλιοστοίσοδύναμα = 50) εις υποστρώματα έναιω - ρήματος πηκτικής ούσας 0,5% υποβληθείσιν εις διαπήδησιν (B), πηκτικού όξεος ύποβληθέντος εις διαπήδησιν (Γ) καί έναιωρήματος πηκτικής ούσας 0,5 % άνευ διατηδήσεως (X)

Ενζυμικών παρασκευάσμων ύποβληθέν εις διαπήδησιν προς της χρησιμοποιοήσεως του.

Διακριτική δείγματα	1 κυβ.έκ. ένζυμου δρασις 2 ήμερών 15 κυβ.έκ.τοστά ύποστρώματος	2 κυβ.έκ. ένζυμου δρασις 4 ήμερών 15 κυβ.έκ.τοστά ύποστρώματος	Διακριτική δείγματα	1 κυβ.έκ. ένζυμου δρασις 2 ήμερών 15 κυβ.έκ.τοστά ύποστρώματος	2 κυβ.έκ. ένζυμου δρασις 4 ήμερών 15 κυβ.έκ.τοστά ύποστρώματος
Λευκόν	0,4	-	Γ-δ	2,5	-
B-M	2,0	2,5	Γ-Z	11,5	-
B-α	2,3	3,1	X-M	10,1	10,5
B-β	2,4	2,9	X-α	10,8	10,7
B-γ	2,4	2,9	X-β	10,5	10,7
B-δ	1,9	3,2	X-γ	10,7	10,4
B-ε	17,5	-	X-δ	10,7	10,8
B-Z	13,8	18,6	X-ε	15,4	19,1
Γ-M	2,3	-	X-Z ₁	17,7	16,7
Γ-α	2,1	-	X-Z ₂	13,0	14,8
Γ-β	2,3	-	X-Z ₃	13,0	14,4
Γ-γ	1,2	-	X-Z ₄	12,9	14,6

Σημ.: Z = άλλη κίτρων

Εμφανών τά αποτελέσματα μετρήσεως τής μεθανόλης εις ύποστρώματα έναιωρήματα πηκτι-
 κής ούσας pH=7, έναιωρήματος πηκτικής ούσας εις άπεσταγμένον ύδωρ (Δ) κατ' έναιωρήμα-
 τος πηκτικής ούσας εις άπεσταγμένον ύδωρ ύποβληθέντος εις διαπήδησιν (Δ')

Διακριτικόν δείγματος	Παρατηρήσεις επί τής ταχύτητος καί του ρυθμού ζελοποίησης	Όπτική πυκνότης μετά δοξσιν 2 ήμερών
Δ-Ν	Ούδεμία ζελοποίησης	1 κυβ.έκ.ένζύμου 25 κυβ.έκ.ύποστρώματος 25 κυβ.έκ.ύποστρώματ.
Δ-α	Ούδεμία ζελοποίησης	0,295
Δ-β	Ζελοποίησης τήν 2αν ήμέραν	0,540
Δ-γ	Πλήρης ζελοποίησης τήν 1ην ήμ.	0,545
Δ-δ	" "	0,560
Δ-ε	" "	0,610
Δ-β1	Ούδεμία ζελοποίησης	0,540
Δ-ε	" "	0,325
Δ-Ζ1	'Ελαφρά ζελοποίησης	0,500
Δ-Ζ2	Περισσότερον συνεκτική ζελοπ.	0,560
Δ-Ζ3	" "	0,530
Δ-Ζ4	" "	0,350
Δ-α	Σκληρά ζελοποίησης	0,545
Δ-β	" "	0,610
Δ-γ	" "	0,580
Δ-δ	" "	0,590
Δ-δ1	" "	0,540

Σημ.: Ζ=άλλη κίτρω

Π Ι Ν Α Κ 34

Εμφανών τας άναγωγικας ομάδας (χιλιοστοϊσοδύναμα X 50) εις υποστρώματα σαπυνο - πολυθεύσης πηκτικης ούσας (Α), πηκτικης ούσας άνευ κατεργασίας (Β) κατ πηκτικου όξυος (Γ)

Διακρι- τική Σείρα- της	Εγκύλισμα ένζύμου άνευ κατεργασίας	Εγκύλισμα ένζύμου άνευ κατεργασίας	Εγκύλισμα ένζύμου άνευ κατεργασίας	Εγκύλισμα ένζύμου άνευ κατεργασίας	Εγκύλισμα ένζύμου άνευ κατεργασίας
Δευκόν	1 κυβ.έκ.ένζύμου δράσις 4 ήμερών 15 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος	2 κυβ.έκ.ένζύμου δράσις 5 ήμερών 15 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος	3 κυβ.έκ.ένζύμου δράσις 7 ήμερών 15 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος	2 κυβ.έκ.ένζύμου δράσις 4 ήμερών 15 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος	3 κυβ.έκ.ένζύμου δράσις 7 ήμερών 15 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος
Α-Π	0,3	0,5	0,4	0,5	0,4
Α-α	3,0	2,6	3,2	3,6	2,6
Α-β	7,0	10,7	7,7	6,4	2,6
Α-γ	7,3	11,4	19,7	8,0	2,8
Α-δ	7,5	13,8	13,9	7,5	2,8
Α-α1	7,8	10,2	15,0	4,2	2,2
Α-β1	4,7	6,9	8,8	5,5	4,0
Α-γ1	-	-	-	-	-
Α-δ1	2,7	7,3	9,5	2,8	1,9
Α-ε	7,1	6,7	9,4	4,9	-
Α-ε	19,0	19,4	19,5	16,5	19,6

B-M	1,0	1,0	1,0	1,1	-	1,1
B-α	0,6	-	2,8	4,8	4,8	13,3
B-β	6,5	-	19,8	2,8	2,8	1,2
B-γ	8,2	12,8	14,4	0,4	0,4	8,0
B-δ	-	9,9	12,2	-	-	4,6
B-α1	0,5	3,3	9,4	-	-	2,1
B-β1	-	-	-	-	-	-
B-γ1	4,5	1,3	5,7	-	-	4,5
B-δ1	4,5	4,9	12,4	-	-	6,5
B-ε	18,7	-	19,6	19,5	19,5	19,1
Γ-M	2,0	1,6	1,2	2,6	2,6	1,2
Γ-α	6,0	9,4	13,4	6,0	6,0	1,8
Γ-β	7,5	13,7	17,2	7,1	7,1	2,2
Γ-γ	7,7	14,5	16,5	7,0	7,0	2,0
Γ-δ	5,6	8,5	9,9	6,7	6,7	1,2
Γ-α1	4,7	5,7	6,4	4,0	4,0	2,8
Γ-γ1	4,0	5,1	6,8	4,3	4,3	2,0
Γ-δ1	3,9	5,7	6,1	4,3	4,3	1,6
Γ-ε	16,5	17,8	18,2	17,4	17,4	18,4

Π Ι Ν Α Κ 35

Εμφάνων τῶ ἀποτελέσματα μετρήσεως τῆς μεθανόλης εἰς δέγματα pH = 7 (ὑπό -
στρωμα: ἐναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας 1 %)

Διακρι- τικὸ δέγμα- τος	Σ ὕ σ τ α σ ι ς	Παρατηρήσεις ἐπὶ τῆς ζελοποιήσεως	'Οπτικὴ πυκνότης
Δ-Η(1)	25 κυβ.ἐκ.ἐναιωρήματος πηκτικῆς οὐσίας 1 κυβ.ἐκ. ὕδατος ἀπεσταγμένου	Οὐδεμία ζελοποίησης	0,155
Δ-ε(1)	25 κυβ.ἐκ.ἐναιωρήματος πηκτικῆς οὐσίας 1 κυβ.ἐκ. ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος	Οὐδεμία ζελοποίησης	0,280
Δ-α(1)	'Η ἴδια ἀναλογία ὡς εἰς δέγμα Δ-ε(1)	Μαλακὸς ζελές	0,260
Δ-β(1)	" "	" "	0,600
Δ-γ(1)	" "	" "	0,560
Δ-δ(1)	" "	" "	0,580
Δ-α1(1)	" "	" "	0,550
Δ-γ1(1)	" "	" "	0,510
Δ-δ1(1)	" "	" "	0,550

Δ-Μ(2)	25 κυβ.έκ.έναιωρήματος πηκτικής ούσας 2 κυβ.έκ.ύδατος άπεσταγμένου		Ούδεμια ζελοπολίσησις	0,135
Δ-ε(2)	25 κυβ.έκ.έναιωρήματος πηκτικής ούσας 2 κυβ.έκ.ένζυμικού παρασκευάσματος		Ούδεμια ζελοπολίσησις	0,310
Δ-α(2)	Ή ίδδα άναλογία ώς εις δείγμα Δ-ε(2)		Μαλακός ζελές	0,620
Δ-β(2)	" "	" "	" "	0,640
Δ-γ(2)	" "	" "	" "	0,650
Δ-δ(2)	" "	" "	" "	0,560
Δ-Μ(3)	25 κυβ.έκ.έναιωρήματος πηκτικής ούσας 2 κυβ.έκ.ύδατος άπεσταγμένου		Ούδεμια ζελοπολίσησις	0,175
Δ-ε(3)	25 κυβ.έκ.έναιωρήματος πηκτικής ούσας 3 κυβ.έκ.ένζυμικού παρασκευάσματος		Ούδεμια ζελοπολίσησις	0,335
Δ-α(3)	Ή ίδδα άναλογία ώς δείγμα Δ-ε(3)		Μαλακός ζελές	0,600
Δ-β(3)	" "	" "	" "	0,465
Δ-γ(3)	" "	" "	" "	0,465
Δ-δ(3)	" "	" "	" "	0,540

Π Ι Ν Α Κ 36

Έμφάνων τής αναγωγικής ομάδας (χιλιοστοϊσοδύναμα X 50) εις ύποστρώματα σαπωνοποιηθείσης πηκτικῆς ούσας (Α), ατύουσας πηκτικῆς ούσας (Β) καί πηκτικοῦ ὀξέος (Γ)

Διακριτικὴ δειγματος	Υπόστρωμα ὑποβληθέν εἰς διατήρησιν 1 κυβ.έκ.ένζυμου δρᾶσις 2 ἡμερῶν 25 κυβ.έκ. ύποστρώματος	2 κυβ.έκ.ένζυμου δρᾶσις 5 ἡμερῶν 25 κυβ.έκ. ύποστρώματος	Υπόστρωμα ἄνευ περιττέρω κατεργασίας 1 κυβ.έκ.ένζυμου δρᾶσις 5 ἡμερῶν 25 κυβ.έκ. ύποστρώματος	2 κυβ.έκ.ένζυμου δρᾶσις 5 ἡμερῶν 25 κυβ.έκ. ύποστρώματος
Λευκόν	1,0	1,3	1,5	1,5
A-M	4,8	4,9	17,9	17,5
A-α	7,4	12,2	18,9	18,7
A-β	8,3	13,8	19,2	18,4
A-γ	8,2	13,8	19,0	17,5
A-δ	8,0	11,4	18,8	18,0
A-σ1	7,5	8,8	25,3	18,7
A-σ1	7,6	8,5	23,8	19,2
A-Υ1	7,3	6,2	18,1	19,4
A-δ1	7,1	9,1	19,0	19,2
A-ε	19,2	28,1	19,7	28,0
A-Z	9,0	12,3	18,1	19,0
B-M	0,3	3,5	16,8	17,2

B- α	4,3	9,8	17,3	18,3
B- β	2,0	10,5	17,9	18,2
B- γ	-	10,0	18,3	18,5
B- δ	1,5	10,2	17,3	19,0
B- α_1	1,0	10,1	17,9	18,0
B- β_1	1,2	5,4	16,5	17,7
B- γ_1	1,0	11,5	21,5	19,2
B- δ_1	1,5	6,8	-	18,5
B- ϵ	19,4	28,5	19,6	28,2
B-Z	2,3	10,0	15,7	17,5
Γ -M	2,4	3,4	17,4	-
Γ - α	5,2	8,4	18,2	-
Γ - β	7,0	10,7	18,3	-
Γ - γ	6,8	10,7	17,0	-
Γ - δ	5,1	9,3	18,5	-
Γ - α_1	5,1	6,1	17,5	-
Γ - β_1	5,3	3,6	17,7	-
Γ - γ_1	3,5	3,5	17,6	-
Γ - δ_1	3,4	10,0	17,5	-
Γ - ϵ	16,9	24,6	19,3	-
Γ -Z	5,1	9,0	18,2	-

Π Ι Ν Α Ε 37

Έμφανών τᾶ ἀποτελέσματα μετρήσεως τῆς μεθανόλης εἰς δελήματα μέ διάφορον χρόνον δράσεως περιέχοντα διαφορετικὰς ποσότητας ἐνζυμικοῦ παρασκευάσματος

Διακρι- τικὸ δελήμα- τος	Παρατηρήσεις ἐπὶ τῆς ζελοποιήσεως	1 κυβ. ἐκ. ἐνζύμου δράσει 2 ἡμερῶν 25 κυβ. ἐκατοστὰ ὑποστρώματος	2 κυβ. ἐκ. ἐνζύμου δράσει 5 ἡμερῶν 25 κυβ. ἐκατοστὰ ὑποστρώματος	3 κυβ. ἐκ. ἐνζύμου δράσει 7 ἡμερῶν 25 κυβ. ἐκατοστὰ ὑποστρώματος
Δ-Μ	Οὐδεμίαν ζελοποίησιν	0, 200	0, 175	0, 150
Δ-α	"	0, 420	0, 410	0, 300
Δ-β	Μαλακὴ ζελοποίησιν	0, 495	0, 410	-
Δ-γ	"	0, 400	0, 400	0, 390
Δ-δ	Οὐδεμίαν ζελοποίησιν	0, 300	0, 310	0, 280
Δ-α1	"	0, 410	0, 360	0, 320
Δ-β1	Σκληρὰ ζελοποίησιν	0, 400	0, 350	0, 420
Δ-γ1	Μαλακὴ ζελοποίησιν	0, 345	0, 410	0, 280
Δ-δ1	Οὐδεμίαν ζελοποίησιν	0, 345	0, 380	0, 340
Δ-ε	"	0, 190	0, 270	0, 250
Δ-ζ	Σκληρὰ ζελοποίησιν	0, 640	0, 510	0, 600

Έμφαικτων τας άναγωγικας δάδας (χιλιοστοίσοδύναμα X 50) εις ύποστρώματα σαπωνοποιηθείσης πηκτικής ούσας κατ' ύποβληθείσης, εις διατήρησιν (Α), αύ- τούσας πηκτικής ούσας (Β) κατ' πηκτικοϋ όξεός (Γ)

Διακριτικόν δείγματος	1 κυβ.έκατοστόν ένζύμου δρᾶσις 2 ήμερών 25 κυβ.έκ. ύποστρώματος	1 κυβ.έκατοστόν ένζύμου δρᾶσις 4 ήμερών 25 κυβ.έκ. ύποστρώματος
A-M	3,65	3,9
A-α	5,50	15,8
A-α1	11,8	7,6
A-β	9,5	12,1
A-β1	10,2	8,5
A-ε	19,6	19,8
B-M	16,2	15,5
B-α	18,2	18,5
B-α1	16,5	18,0
B-β	17,6	18,5
B-β1	15,8	17,8
B-ε	19,0	19,5
Γ-M	1,0	2,5
Γ-α	11,0	11,8
Γ-α1	9,4	6,3
Γ-β	3,8	5,1
Γ-β1	3,1	6,5
Γ-ε	16,5	19,5

Π Ι Ν Α Ε 39

Έμφαζών τᾶ ἀποτελέσματα μετρήσεως τῆς μεθανόλης εἰς δειγµατα pH=7
(ὑπόστρωμα: ἐναιώρημα πηκτικῆς οὐσίας 1%)

Διακριτικὸ δειγµατος	Παρατηρήσεις ἐπὶ τῆς ζελοποιήσεως μετὰ 1 ἡμέραν	Ὅπτικη πυκνότης	
		ὁρᾶσις 3 ἡµερῶν	ὁρᾶσις 5 ἡµ.
Δ-Μ	Οὐδεµία ζελοποιήσις	0,110	0,140
Δ-Π	"	0,135	0,150
Δ-Μ	"	0,090	0,090
Δ-α	Ἐλαφρὰ ζελοποιήσις	0,460	0,490
Δ-α	"	0,380	0,500
Δ-α	"	0,370	0,540
Δ-α1	Ζελοποιήσις κανονικῆ	0,330	0,460
Δ-α1	"	0,380	0,410
Δ-α1	"	0,350	0,440
Δ-β	Σκληρὰ ζελοποιήσις	0,320	0,480
Δ-β	"	0,360	0,430
Δ-β	"	0,350	0,420
Δ-β1	"	0,395	0,470
Δ-β1	"	0,425	0,430
Δ-β1	"	0,485	-
Δ-ε	Οὐδεµία ζελοποιήσις	0,145	0,140
Δ-ε	"	0,135	0,175
Δ-ε	"	0,160	0,095

Π Ι Ν Α Ε 40

Έμφανών τας άναγωγικας όμάδας συναρτήσσει τοϋ χρόνου έπώσσεως (χιλιοστοϋσο-
 δύναμα X 50). εΐς ύποστρώματα σαπυνοποιηθείσης πηκτικηΐς οϋσίας (Α), πηκτικου
 όξεος 1 % (Β) καΐ πηκτικου όξεος 2 % (Β'), εΐσάντων ύποβληθέντων εΐς διαπήδησιν

Διακριτικα δειγματοσ	Δραΐσισ 1 ώρασ	Δραΐσισ 4 ώρων	Δραΐσισ 6 ώρων	Δραΐσισ 48 ώρων
Λευκόν	0,2	-	-	-
A-M	3,3	3,9	-	1,0
A-α	14,7	17,7	-	14,9
A-σ	5,5	8,3	-	6,9
A-σ'	-	-	-	-
A-ε	3,8	4,9	-	9,7
B-M	2,4	3,3	1,7	1,9
B-α	15,3	18,6	15,9	14,4
B-σ	7,2	9,6	8,3	7,3
B-σ'	6,0	7,6	6,7	5,4
B-ε	3,5	5,7	5,0	7,1
B'-M	-	4,5	4,2	4,1
B'-α	-	10,5	8,9	7,4
B'-σ	-	11,4	10,4	9,0
B'-σ'	-	10,1	9,5	7,9
B'-ε	-	5,8	6,0	16,5

Π Ι Ν Α Κ 41

Εμφανών τας άναγωγικάς ομάδας (χιλιοστοϊσοδύναμα x 50) με μεταβλητάς τόν χρόνον έπιδάσεως, τήν ποσότητα καί τόν τρόπον έπεξεργασίας του ένζυμικού παρασκευάματος εις ύποστρώματα έναιωρήματα πηκτικής ούσας 1 % (Α) καί σαπυνοποιηθείσης πηκτικής ούσας 1 % (Β), ύποβληθέντα εις διαπήδησιν

Διακριτικόν δείγματος	Προστεθεύσα ποσότης ένζυμου	Δράσις 20'	Δράσις 40'	Δράσις ένζυμικών παρασκευασμάτων ύποβληθέντων προηγουμένως εις διαπήδησιν (40')
Λευκόν	-	0	0	-
A-M	-	3,5	6,6	3,0
A-M	-	2,5	-	-
A-α	1 κυβ.έκκ.	19,0	16,9	4,0
A-α	" "	18,1	-	3,5
A-σ	" "	11,2	10,5	-
A-σ	" "	8,3	-	4,0
A-σ'	" "	9,1	9,4	-
A-σ'	" "	6,8	-	-
A-ε	" "	8,0	9,8	-
A-ε	" "	6,3	-	6,5

B-M	-	2,7	2,8	3,2
B-M	-	2,7	-	3,1
B-α	0,5 κυβ.έκ.	11,5	-	2,9
B-α	1,0 " "	18,6	17,9	3,3
B-α	0,5 " "	12,1	-	-
B-α	1,0 " "	18,2	-	-
B-α	1,5 " "	22,5	-	-
B-σ	1,0 " "	9,3	9,1	3,2
B-σ	2,0 " "	13,0	-	-
B-σ	3,0 " "	17,6	-	-
B-σ'	1,0 " "	7,5	7,5	-
B-σ'	2,0 " "	11,0	-	-
B-σ'	3,0 " "	14,3	-	-
B-ε	1,0 " "	12,8	12,3	-
B-ε	1,0 " "	12,1	-	-
B-ε	2,0 " "	18,0	-	-

Π Ι Ν Α Ξ 42

Εμφανών την δραστηριότητα, άκατεργάστου καί καθαρισθέντος διά διατηρήσεως ένζυμικού παρασκευάσματος, συναρτήσει του χρόνου, εις ύπόστρωμα έναιωρήματος πηκτικής ούσας εις ρυθμιστικών διάλυμα pH=7 (όπτική πυκνότης)

Διακρι- τική	Ακατέργαστον ένζυμικόν παρασκεύασμα		Καθαρισθέν διά διατηρήσεως ένζυμικόν παρασκεύασμα	
	Δράσις 20'	Δράσις 2 ώρων	Δράσις 2 ώρων	Δράσις 2 ώρων
M-1	0,120	0,190		0,090
M-2	0,140	0,200		0,070
α-1	0,560	0,520		0,440
α-2	0,500	0,490		0,490
σ-1	0,410	0,510		0,205
σ-2	0,410	0,480		0,200
σ'-1	0,420	0,490		-
σ'-2	0,430	0,490		-
ε -1	0,240	0,210		0,090
ε -2	0,235	0,210		0,110

Π Ι Ν Α Κ 43

Έμφανων τής άναγωγικής όμάδας (χιλιοστοϊσοδύναμα X 50) συναρτήσει του χρόνου έπώσεως υπό θαν 30 °C εις σαπυνοποιηθέν κατ' ύποβληθέν εις διατήρησιν έναιώρημα πηκτικής ούσας (ύποστρωμα Α) .

Χρόνος δρόσεως	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος + 1 κυβ.έκ.ύδατος	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος + 1 κυβ.έκ.ένζυμικού παρασκευάσματος έκ μεσοκαρπού (*)	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος + 1 κυβ.έκ.κανονικού ένζυμικού παρασκευάσματος έκ μεσοκαρπού	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος + πεκτινολ έμπορίου προσροφημένον εις πύτυρον
10'	2,5	4,0	3,6	2,3
30'	2,2	3,0	3,3	2,0
60'	1,9	3,7	3,0	2,8
2 ώρες	2,9	4,3	3,9	3,7
3 ώρες	2,5	4,5	2,8	3,5
5 ώρες	4,5	5,9	5,6	5,4
23 ώρες	5,7	6,1	6,3	5,7

Σημείωσις: (*) Έγκύλιμα μεσοκαρπού με ρυθμιστικόν διάλυμα pH 7 περιέχοντος 5 ο/ο NaCl

Π Ι Ν Α Κ 44

Εμφάνων τής άναγωγικής δάδας (χιλιοστοϊσοδύναμα X 50) συναρτήσει του χρόνου έπώσεως υπό θαν 30°C εις σαπυνοποιηθέν κατ' υποβληθέν εις διαπήδησιν έναίωρημα πηκτικης ούσας (υπόστρωμα Α)

Χρό- νος δρά- σεως	25 κυβ.έκατοστά υποστρώματος+ 1 κυβ.έκα. ύδατος	25 κυβ.έκατοστά υποστρώματος+ 1 κυβ.έκ.ένζυμι- κοϋ παρασκευάσματος έκ μεσοκαρπίου βρα- σθέντος επί 3 λεπτά	25 κυβ.έκατοστά υποστρώματος + 1 κυβ.έκ.ένζυ- μικοϋ παρασκευ- άσματος έκ μεσοκαρπίου	25 κυβ.έκατοστά υποστρώματος + πεκτινολ (α) + προσροφημένον εις πύτυρον	25 κυβ.έκατ. υποστρώματος + πεκτινολ(β) προσροφημένκ εις πύτυρον
30'	1,7	4,9	4,8	6,9	9,4
1 ώρα	2,0	5,4	4,8	7,2	10,2
3 ώρες	2,0	5,8	5,3	9,7	11,3
5 ώρες	3,1	5,4	5,1	9,2	11,1
6 ώρες	2,4	6,9	5,9	9,8	11,4
3 ήμ.	-	5,4	4,0	8,5	10,3

Εμφάνων τής άναγωγικής όμδας (χιλιοστούσοδύναμα X 50) συναρτήσει του χρόνου έπώσεως ύπό θαν 5000 εις σαπυνοποιηθέν καί ύποβληθέν εις διαπήδησιν έναίώρημα πηκτικής ούσας (ύπόστρωμα Α)

Χρό- νος	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος+	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος + 1 κυβ.έκ.ένζυ - ύδατος	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος + 1 κυβ.έκ.ένζυ - μικρο παρασκευ- άματος έκ μεσοκαρπίου βρα- σθέντος επί 3'	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος + 1 κυβ.έκ.ένζυ - μικρο παρασκευ- άματος έκ μεσοκαρπίου	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος + 2% πεκτινολ(α) 2 % πεκτινολ προσροφημένον εις πύτυρον	25 κυβ.έκατοστά ύποστρώματος + 2% πεκτινολ(α) 2 % πεκτινολ προσροφημένον εις πύτυρον
5'	2,4	5,3	5,2	5,2	10,1	12,2
15'	2,1	5,4	5,4	5,4	11,8	13,8
30'	2,5	5,7	5,5	5,5	12,8	14,9
60'	2,6	6,6	5,5	5,5	13,2	14,7
120'	2,5	5,9	5,2	5,2	14,4	17,0
140'	2,5	5,7	5,7	5,7	14,6	16,9
180'	2,8	5,2	6,0	6,0	15,2	17,4

Σημ. : Η μικρά όρσις του πεκτινολ πιθανώς οφέλεται εις μη έκχύλισιν του δι' ύδατος πρό τής προσθήκης εις τό ύπόστρωμα.

Π I N A E 46

'Εμφάνων τήν δρῶσιν τῆς πηκτομεθυλεστεράσης τῶν κίτρων εἰς δύο διαφορετικῶν θάσ

Θερμοκρασία δρῶσεως 29-31 °C

Θερμοκρασία δρῶσεως 39-40 °C

Χρόνος δρῶσεως	Διάδος φωτός	'Οπτική πυκνότης	Χρόνος δρῶσεως	Διάδος φωτός	'Οπτική πυκνότης
5'	74	0,130	3'	75	0,120
15'	54	0,270	10'	60	0,220
25'	54	0,270	16'	55	0,260
35'	53	0,270	22'	54	0,270
45'	52	0,250	30'	53	0,275
55'	49	0,310	36'	55	0,260
65'	52	0,280	43'	56	0,250
120'	-	-	50'	53	0,275
180'	-	-	56'	56,5	0,245
200'	55	0,255	110'	58	0,230
Μέστυς	94	0,030	Μέστυς	90	0,050

Π Ι Ν Α Κ 47

Έμφάνων ιήν δρᾶσιν τής πηκτομεθυλεστερᾶσης τών κίτρων εἰς δύο διαφορετικᾶς θας

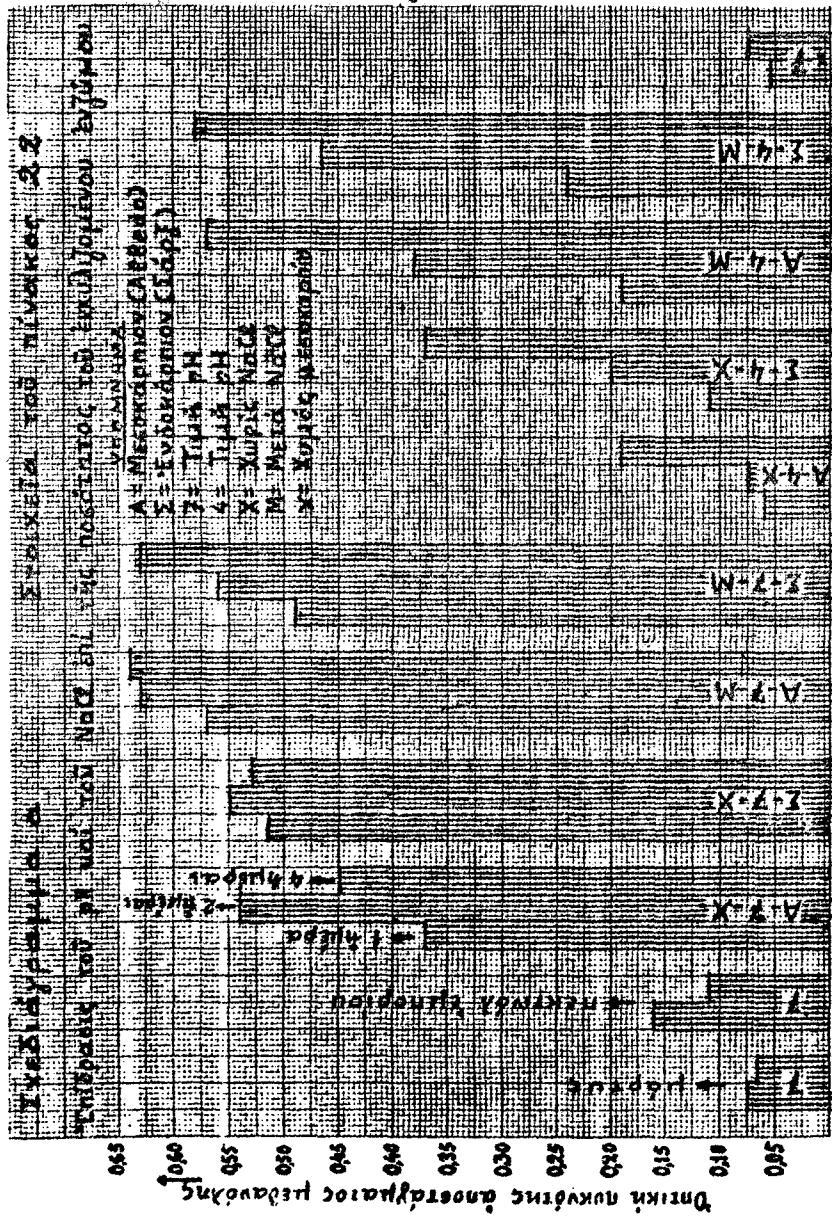
	Θερμοκρασία δρᾶσεως 29-32 °C		Θερμοκρασία δρᾶσεως 39-41 °C	
Χρόνος δρᾶσεως	Δόδος φωτός	Ὀπτική πυκνότης	Δόδος φωτός	Ὀπτική πυκνότης
2'	83	0,080	84	0,075
10'	74	0,130	72	0,140
17'	66	0,180	61,5	0,210
24'	62	0,210	59	0,230
31'	52	0,280	57	0,240
38'	54	0,270	57	0,240
45'	53	0,275	57	0,240
53'	52	0,280	56	0,250
60'	56	0,250	64	0,190
67'	58	0,240	69	0,160
Μέστυς	94	0,025	92	0,035

Π Ι Ν Α Κ 48

Έμφαντων τό ΟΡΤΙΜΙΟΝ pH διά τήν δράσιν τής πηκτομεθυλεστεράσης των κίτρων
(χρόνος δράσεως 30', θερμοκρασία δράσεως 29-31 °C)

α/α	Σύστασις τοῦ δειγματος	pH	Δείδος φωτός	Όπτική πυκνότης
1	Έναιώρημα πηκτικῆς ούσας 1 %, 150°, δξίνης άντιδράσεως	3,40	95,5	0,015
2	Έναιώρημα πηκτικῆς ούσας 1 %, 150°, σαπνοποληθεΐσα κατά τήν άποσταξιν (σύνολον μεθοξυλίων)	-	36,0	0,440
3	Έναιώρημα πηκτικῆς ούσας 1 %, 200°	3,40	96,0	0,020
4	Έναιώρημα πηκτικῆς ούσας 1 %, 200°, σαπνοποληθεΐσα κατά τήν άποσταξιν (σύνολον μεθοξυλίων)	-	56,0	0,255
5	Ός τό υπόστρωμα (1) μετ'ένζυμιμοῦ παρασκευάσματος μεσοκαρπίου εἰς άναλογίαν 1:25	3,40	89,0	0,050
6	Ός τό υπόστρωμα (1) μετ'ένζυμιμοῦ παρασκευάσματος ένδοκαρπίου εἰς άναλογίαν 1:25	3,40	96,0	0,020
7	Ός τό υπόστρωμα (3) μετ'ένζυμιμοῦ παρασκευάσματος μεσοκαρπίου εἰς άναλογίαν 1:25	3,40	89,0	0,050
8	Ός τό υπόστρωμα (3) μετ'ένζυμιμοῦ παρασκευάσματος ένδοκαρπίου ὑπό άναλογίαν 1:25	3,40	96,0	0,020
9	Ός τό υπόστρωμα (1) μετ'ένζυμιμοῦ παρασκευάσματος μεσοκαρπίου εἰς άναλογίαν 1:25	5,50	66,0	0,175

10	'Ως τό υπόστρωμα (1) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος ἐνδο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	5,50	87,0	0,058
11	'Ως τό υπόστρωμα (3) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος μεσο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	5,50	71,5	0,122
12	'Ως τό υπόστρωμα (3) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος ἐνδο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	5,50	91,0	0,046
13	'Ως τό υπόστρωμα (1) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος μεσο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	7,65	35,0	0,440
14	'Ως τό υπόστρωμα (1) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος ἐνδο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	7,65	77,0	0,110
15	'Ως τό υπόστρωμα (3) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος μεσο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	7,65	54,0	0,265
16	'Ως τό υπόστρωμα (3) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος ἐνδοκαρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	7,65	82,0	0,096
17	'Ως τό υπόστρωμα (1) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος μεσο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	8,50	45,0	0,340
18	'Ως τό υπόστρωμα (1) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος ἐνδο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	8,50	79,0	0,100
19	'Ως τό υπόστρωμα (3) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος μεσο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	8,50	52,0	0,280
20	'Ως τό υπόστρωμα (3) μετ'ένζυμικοῦ παρασκευάσματος ἐνδο-καρπίου εἰς ἀναλογία 1:25	8,50	82,0	0,085



Απόσταση από τον άξονα (cm)

Επίπεδα του έδαφους 2.2

Απόσταση από τον άξονα (cm)

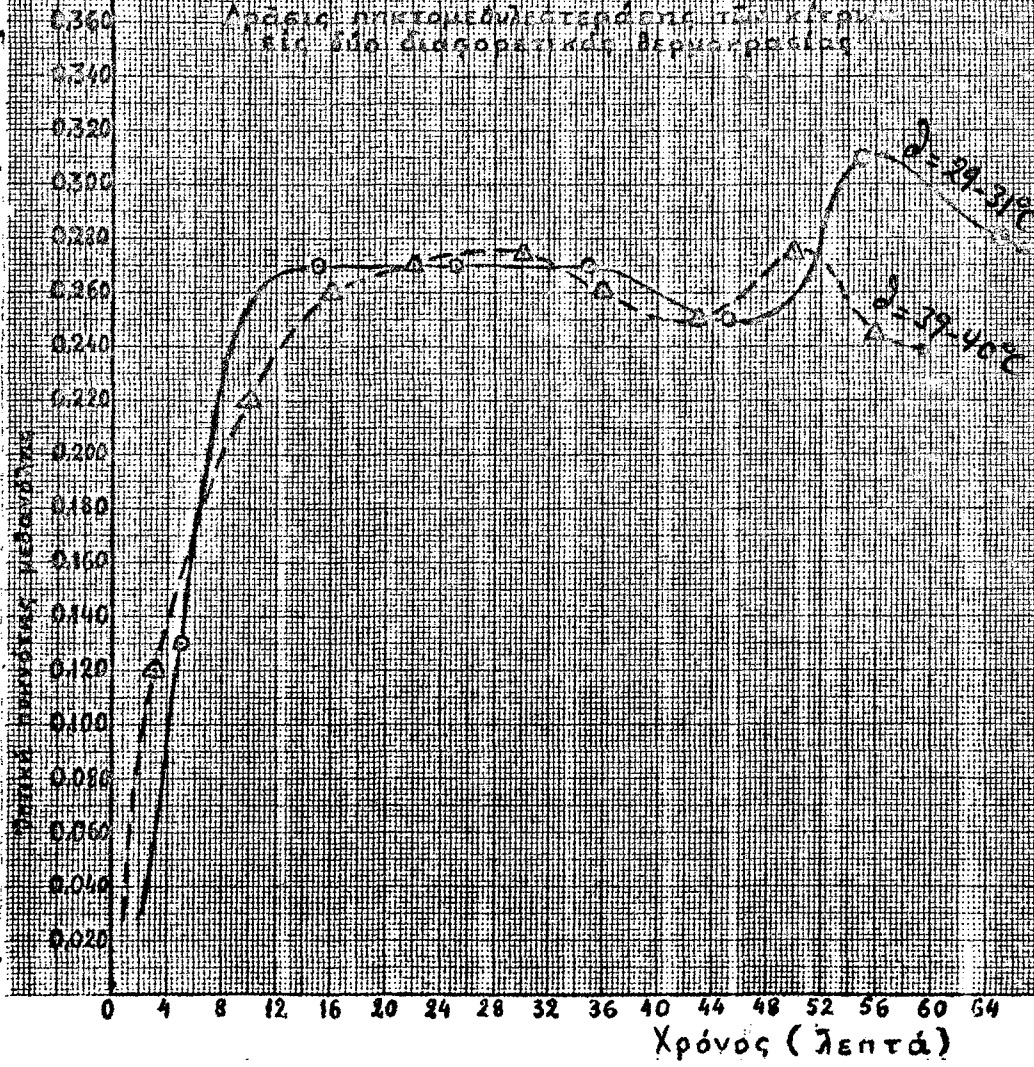
Οπίκτι ηυκδίνε άνοορδύμαοε ηεδάωνε

- A - Μεσογειακή (Mediterranean)
- B - Ξηρά (Dry)
- C - Υδατικός (Aquatic)
- D - Τίλη (Tillage)
- E - Τίλη (Tillage)
- F - Τίλη (Tillage)
- G - Τίλη (Tillage)
- H - Τίλη (Tillage)
- I - Τίλη (Tillage)
- J - Τίλη (Tillage)
- K - Τίλη (Tillage)

Σχεδιάγραμμα 2

Εργασία του πλυσίματος 46

Απόδοση ημερησίως παραδότη των κτηνίων
στις δύο διαδοχικές θερμότητες



Σχεδιάγραμμα γ - Στοιχεία του πίνακος 48

