

## Pektinázový komplex imobilizovaný na polyetyléntereftalát (Sorsilen)

557.152.32 577.152

### Príprava a vlastnosti

RNDr. LUBOMÍRA REXOŤA-BENKOVÁ, CSc. a Ing. EVA STRATILOVÁ, Chemický ústav CCHV SAV. Bratislava,

Doc. Ing. VLADIMÍR KUBÁNEK, CSc., Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

**Kľúčová slova:** Pektinázový komplex, pektináza, Pectinex Ultra, Leozym, imobilizácia na PET, pektinolytická aktivita

Významným odvetvím modernej biotechnológie sú výroby založené na katalytickom pôsobení enzýmov zakotvených na nerozpustné nosiče. Imobilizácia enzýmov dáva možnosť efektívnejšieho využívania ich katalytických vlastností, najmä v kontinuálnych procesoch a uplatnenia enzýmovej katalýzy i v takých výrobách, kde požiadavky na kvalitu finálnych produktov nepripúšťajú použitie rozpustných enzýmov. V niektorých výrobných procesoch využívajúcich katalytický účinok pektináz, ako je napr. čírenie ovocných štiav alebo stabilizácia vína sú z týchto dôvodov tiež tendencie aplikovať imobilizované enzýmy [1, 2].

Voľba metódy použitej k imobilizácii enzýmu je všeobecne podmienená charakterom substrátu a katalytickej reakcie, ako aj požiadavkami príslušnej aplikačnej oblasti na katalytické vlastnosti, stabilitu a v neposlednej rade cenu imobilizovaného enzýmu. Vysokomolekulový charakter pektínových látok a požiadavka ich maximálnej degradácie vo väčšine výrobných procesov obmedzujú výber metód imobilizácie pektináz len na kovalentné viazanie a adsorpciu na porézne nosiče. Kovalentné viazanie je najčastejšie používaným spôsobom imobilizácie, lebo väčšinou poskytuje preparáty s pevne zakotveným enzýmom. V prípade pektolytických enzýmov sa však ukázalo, že viazanie prostredníctvom ich aminogrupín má za následok nežiaducu zmenu v spôsobe účinku hlavnej pektinázovej komponenty — endopolygalakturonázy. Táto zmena spočíva v obmedzení pôsobenia enzýmu na prístupné, periférne oblasti pektínovej makromolekuly, čo sa prejavuje veľmi pomalým znižovaním viskozity roztokov pektínu v priebehu jeho degradácie [3—6]. Adsorpcia je najjednoduchším spôsobom imobilizácie, avšak jej častým nedostatkom sú slabé väzobné sily medzi enzýmom a nosičom, spôsobujúce postupné uvoľňovanie enzýmu z nosiča. Pevné zakotvenie enzýmu sa však môže dosiahnuť v prípade hydrofóbnych nosičov, alebo materiálov obsahujúcich hydrofóbne substituenty [7—10]. Tento princíp sa tiež osvedčil pri imobilizácii endopolygalakturonázy na Sorsilen [11] — porézny hydrofóbny nosič na báze polyetyléntereftalátu [12, 13]. Výborné vlastnosti imobilizovanej endopolygalakturonázy, najmä neobyčajne vysoká stabilita zakotvenia enzýmu, vysoká operačná stabilita, zanedbateľný vliv imobilizácie na spôsob účinku enzýmu, ako aj niektoré výhodné vlastnosti Sorsilenu nás viedli k overeniu možnosti jeho použitia na imobilizáciu celého pektolytického komplexu prítomného v preparátoch Leozym (Slovlik, n. p., závod Leopoldov) a Pectinex Ultra (Schweizerische Ferment AG, Basel, Švajčiarsko). Cieľom bolo získať preparáty vhodné pre použitie v konzervárstve a vinárstve.

### EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

#### MATERIÁL A METÓDY

##### Enzýmy použité na imobilizáciu

Pektolytický komplex Pectinex Ultra bol použitý po odstránení nízkomolekulových kontaminantov gélovou filtráciou cez Sephadex G-25 Medium a lyofilizáciou. Preparát Leozym bol použitý po rozpustení v 0,1 M octanovom tlmivom roztoku, odstránení nerozpustného podielu a lyofilizovaním.

##### Nosič

Polyetyléntereftalát (Sorsilen), produkt n. p. Silona, Planá nad Lužnicí, bol charakterizovaný na Katedre polymérov VŠCHT, Praha. Tvorený je sferickými časticami, s objemom pórov  $2-3 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  a špecifickým povrchom  $80-100 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Preosiatím bol rozdelený na frakciu tvorenú časticami s priemerom nad 2 mm a frakciu s menšími časticami, ktorá bola pred použitím zbavená jemných, pomaly sedimentujúcich častíc opakovaným vyplavovaním vodou. Mimo toho sa vyskúšal Sorsilen komprimovaný do tvaru tabletiiek s veľkosťou  $0,1 \text{ cm}^3$ .

##### Príprava imobilizovaných pektináz

Pri imobilizácii pektolytických komplexov sa použili rovnaké experimentálne podmienky ako predtým pri imobilizácii endopolygalakturonázy [11]. Sorsilen suspendovaný v 0,1 M octanovom tlmivom roztoku, pH 4,2 bol inkubovaný s enzýmovým komplexom pri laboratórnej teplote, za premiešavania na trepačke. Množstvo enzýmu použitého k imobilizácii sa pohybovalo od 2 mg do 20 mg na 1 g nosiča. Priebeh imobilizácie bol sledovaný stanovením aktivity polygalakturonázy vo filtrátoch alikvótov, odoberaných v časových intervaloch. Po skončení inkubácie bol imobilizovaný enzým oddelený centrifugovaním pri 4500 g a opakovane premytý tlmivým roztokom. Na konko vo všetkých prípadoch nastala úplná imobilizácia, bolo za množstvo enzýmu imobilizovaného na nosiči považované množstvo enzýmu brané do reakcie. Imobilizované preparáty boli charakterizované na základe polygalakturonázovej aktivity na citrusový pektín alebo pektan sodný. Citrusový pektín bol preparát Genu Pectin, Slow Set (Københavns Pektinfabrik, Dánsko). Pektan sodný bol pripravený opakovanou alkalickou deesterifikáciou pektínu, následujúcim vyzrážaním kyseliny pektovej s HCl pri pH 2,5 a neutralizáciou s NaOH.



## Stanovenie pektinázovej aktivity

Pektinázová aktivita, ktorá je sumou aktivity endopolygalakturonázy a exopolygalakturonázy sa stanovila pri pH 4,2 (0,1 M octanový tlmivý roztok) a 30 °C, meraním prírastku redukujúcich skupín v priebehu degradácie pektínu alebo pektanu sodného, Somogyiho spektrofotometrickou metódou [14]. Pri stanovení aktivity imobilizovaného enzýmu bola reakčná zmes, pripravená zmiešaním 5 ml substrátu a 5 ml suspenzie enzýmu, inkubovaná v temperovanej nádobke za konštantného miešania. Aktivita je vyjadrená v mikromóloch redukujúcich skupín uvoľnených za 1 s (1 mikrokatal) 1 mg enzýmu (voľného alebo imobilizovaného), alebo 1 g imobilizovaného preparátu a stanovených pomocou kalibračného grafu pre kyselinu monogalakturónovú. Relatívna aktivita imobilizovaného enzýmu je vyjadrená v percentách aktivity voľného enzýmu.

## Charakterizácia vlastností imobilizovaných preparátov

Závislosť aktivity na pH sa sledovala v rozpätí pH 3,6–5,6 v 0,1 M octanových tlmivých roztokoch, pri 30 °C. Pektinázová aktivita imobilizovaných preparátov bola stanovená po dôkladnom premytí enzýmového gélu príslušným tlmivým roztokom. Teplotné optimum sa určilo na základe pektinázovej aktivity meranej pri pH 4,2 v rozpätí teplôt 21–59 °C. Tepelná stabilita bola charakterizovaná na základe pektinázovej aktivity stanovenej po 2-hodinovej inkubácii enzýmu pri danej teplote a následujúcom ochladení suspenzie na 30 °C. Operačná stabilita bola sledovaná kontinuálnou perkoláciou stĺpca imobilizovaného enzýmu (15 × 25 mm) 0,5% roztokom pektínu v tlmivom roztoku pH 4,2 pri laboratórnej teplote. V časových intervaloch sa v eluáte stanovovali redukujúce skupiny a merala viskozita.

Spôsob účinku enzýmového komplexu na pektín bol charakterizovaný na základe vzťahu medzi poklesom viskozity a prírastkom redukujúcich skupín v priebehu degradácie pektínu. Viskozita sa merala v Ubellohdeho viskozimetri pri 30 °C a jej pokles sa vyjadroval podľa Schuberta [15].

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Enzýmové preparáty použité na imobilizáciu obsahujú zmes pektolytických enzýmov endopolygalakturonázy [poly(1,4- $\alpha$ -D-galacturonide)glycanohydrolase, EC. 3.2.1.15], exopolygalakturonázy [poly(1,4- $\alpha$ -D-galacturonide)galacturonosylhydrolase, EC. 3.2.1.67], pektinylázy [poly(methylgalacturonide)lyase, EC. 4.2.2.10] a pektinesterázy [pectin(pectylhydrolase), EC. 3.1.1.11] (tabuľka 1). Preparát Pectinex Ultra sa používa v konzervárskom priemysle a Leozym, produkt skúšobnej poloprevádzky závodu Slovlik, n. p., závod Leopoldov, je tiež určený pre toto použitie. Voľba Sorsilenu ako nosiča na ich imobilizáciu bola podmienená tým, že je to prístupný, cenovo výhodný materiál, splňajúci kritériá kladené na materiály prichádzajúce do styku s potravinami a imobilizácia naň je technicky i materiálove nenáročná [11]. Sorsilen je známy ako výborný sorbent radu organických látok [18]. Jeho vysoká sorpčná schopnosť je daná hydrofóbnym charakterom polyetyléntereftalátu, preto na priebeh a pevnosť imobilizácie, ktorá je založená na hydrofóbných interakciách priaznivo pôsobí zvýšená iónová sila prostredia [11]. Naproti tomu pH nemá na priebeh imobilizácie podstatný vplyv. Z tých dôvodov ako aj so zreteľom na pH stabilitu pektináz sme enzým imobilizovali v prostredí 0,1 M octanového tlmivého roztoku, pH 4,2, v ktorom prebehla rýchla ireverzibilná imobilizácia všetkých zložiek pektolytického komplexu na všetky tri

Tabuľka 1. Enzýmové aktivity preparátov použitých na imobilizáciu

Enzým	Aktivita ( $\mu$ kat/mg enzýmu)	
	Pectinex	Leozym
Endopolygalakturonáza	0,199 <sup>a</sup> 0,128 <sup>b</sup>	0,326 <sup>a</sup> 0,096 <sup>b</sup>
Exopolygalakturonáza	0,0012 <sup>c</sup>	0,0092 <sup>c</sup>
Pektinesteráza	0,0096 <sup>d</sup>	0
Pektinyláza	0,012 <sup>e</sup>	0,0092 <sup>e</sup>

a — substrát — pektan sodný

b — substrát — pektín, stupeň esterifikácie 68 %

c — substrát — digalakturónová kyselina

d — mikromóly rozštiepených metylesterových skupín  $s^{-1}$ , stanovené titračnou metódou [16]e — mikromóly 4,5-nenasýtených produktov  $s^{-1}$  stanovených na základe zmeny adsorbancie pri 235 nm. (Ref. 17). Substrát pektín so stupňom esterifikácie 89,8 %.

Tabuľka 2. Pektinázová aktivita komplexu z preparátu Pectinex Ultra imobilizovaného na rôzne formy Sorsilenu

Sorsilen	Špecifická aktivita $\mu$ kat . mg enzýmu <sup>-1</sup>		Relatívna aktivita (%)
Veľkosť častíc	< 2 mm	0,0137	7,03
Veľkosť častíc	> 2 mm	0,0065	3,34
Tablety		0,0046	2,36

Tabuľka 3. Pektinázová aktivita preparátov s rôznym množstvom enzýmu na nosiči

Enzým mg per g nosiča	Aktivita Pectinex Ultra		Leozym	
	A	B	A	B
2	0,0082	6,43	0,010	10,0
3	0,0111	8,62		
5	0,025	19,55	0,0151	16,0
8	0,036	28,12	0,0153	16,5
10	0,025	19,55	0,011	11,0
20	0,007	5,41	0,009	9,0

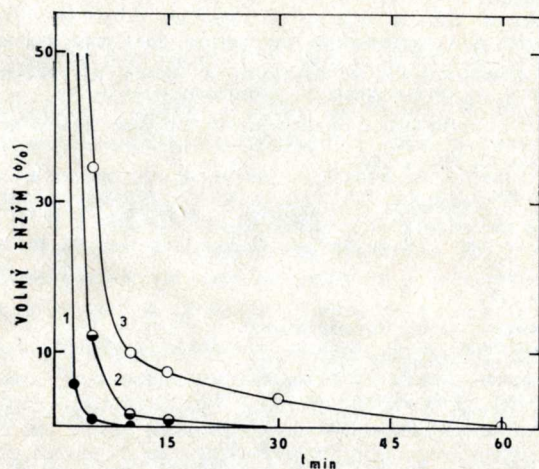
A — špecifická aktivita  $\mu$ kat . mg enzýmu<sup>-1</sup>

B — relatívna aktivita (%)

použité formy Sorsilenu (obr. 1). Získali sa preparáty, z ktorých sa ani jedna enzýmová zložka z nosiča neuvolňovala v prostredí tlmivých roztokov pH 3,6–6,0, v roztokoch obsahujúcich pektínové látky, rovnako ako v prostredí jablčnej a hrozňovej šťavy, alebo bieleho vína. Pektinázová aktivita preparátov bola oproti aktivite rozpustného preparátu znížená a závislá na forme Sorsilenu (tab. 2) a na množstve enzýmu zakotveného na nosiči (tab. 3). Najvyššiu aktivitu mali preparáty imobilizované na nosiči s časticami s priemerom menším ako 2 mm. Špecifická aktivita sa so zvyšujúcim množstvom enzýmu na nosiči zpočiatku zvyšovala, po dosiahnutí maxima s ďalším zvyšovaním obsahu enzýmu v adsorbáte opäť klesla. Znižovanie aktivity pri vyšších koncentráciách enzýmu na nosiči sa pripisuje sterickéj zábrane zapríčinennej prílišnou hustotou enzýmu na povrchu nosiča a tým zníženou prístupnosťou pre vysokomolekulárny substrát. Najvyššiu aktivitu na pektín u oboch pektolytických komplexov s hodnotami relatívnej aktivity 28,1 % (Pectinex) a 18 % (Leozym) mali preparáty obsahujúce

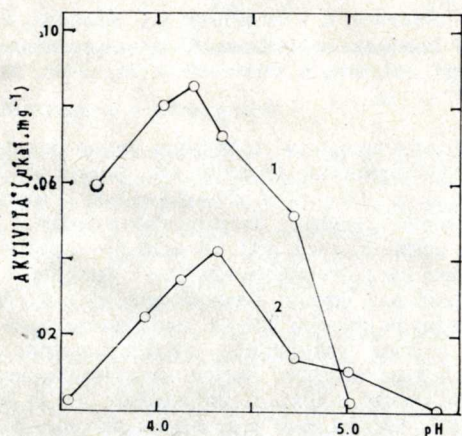


8 mg enzýmu na 1 g nosiča. Maximum aktivity na pektan bolo posunuté k nižšiemu pomeru enzýmu k nosiču, u preparátu Pectinex k 3 mg enzýmu na g nosiča, s relatívnou aktivitou 43,1 %, u Leozymu k 5 mg enzýmu na g nosiča s relatívnou aktivitou 21,5 %.



Obr. 1. Pribeh imobilizácie pektolytického komplexu Pectinex Ultra na rôzne formy Sorsilenu vyjadrený pektinázovou aktivitou na pektín.

1 — priemer častíc nosiča < 2 mm; 2 — priemer častíc nosiča > 2 mm; 3 — tablety



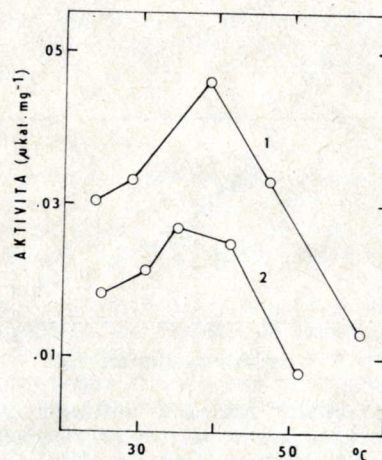
Obr. 2. Závislosť pektinázovej aktivity imobilizovaného pektolytického komplexu Pectinex Ultra na pH.

1 — aktivita na pektan sodný; 2 — aktivita na pektín

Imobilizáciou sa nezmenila pH oblasť pôsobenia enzýmového komplexu. Aktivita na pektan mala maximum u voľného aj imobilizovaného preparátu pri pH 4,0 až 4,2. V prípade pektínu ako substrátu, kde nepravidelná krivka odráža závislosť synergicky pôsobiacej endo- a exopolysakcharidázy, pektinesterázy a pri pH nad 4,6 tiež pektinylázy bolo maximum pektinázovej aktivity pri pH 4,3–4,4 (obr. 2) a oblasť pôsobenia enzýmového komplexu rozšírená k vyšším hodnotám pH. Teplotné optimum, ktoré sa imobilizáciou tiež nezmenilo bolo u oboch preparátov pri 35–40 °C (obr. 3).

Aktivita imobilizovaných preparátov sa nemenila v priebehu niekoľkomesačného skladovania pri 4 °C vo forme suspenzie v 0,1 M octanovom tlmivom roztoku pH 4,2. Zakotvenie na Sorsilen značnou mierou zvýšilo tepelnú stabilitu oboch enzýmových komplexov. Po

2-hodinovom zahrievaní pri 60 °C komplex z preparátu Leozym mal 59 % a z preparátu Pectinex Ultra 45 % aktivity preparátu udržiavaného za rovnakých podmienok pri 4 °C, zatiaľ čo u rozpustných pektolytických komplexov klesla aktivita pri 60 °C na 18 % (Leozym) a 21 % (Pectinex Ultra) aktivity voľného enzýmu. Imobilizované preparáty boli výrazne stabilizované v prítomnosti pektínových substrátov alebo ich štiepných produktov, čo sa spolu s pevnosťou zakotvenia enzýmu na nosiči prejavilo vysokou operačnou stabilitou. Pektinázová aktivita sa nemenila v priebehu 3 týždňov pri kontinuálnej perkolácii stĺpca imobilizovaného enzýmového komplexu roztokom pektanu a ani po nasledujúcom 3-týždňovom odstavení kolony a udržiavaní v prostredí substrátu pri laboratórnej teplote. Pri perkolácii stĺpca imobilizovaného komplexu roztokom pektínu, vína, alebo ovocnej šťavy na začiatku klesla pektinázová aktivita v dôsledku adsorpcie niektorých sprievodných látok prítomných v týchto materiáloch. Po nasýtení nosiča týmito látkami sa však aktivita ustálila na hodnote, ktorá sa už v priebehu ďalšej dlhodobej perkolácie stĺpca imobilizovaného enzýmu uvedenými roztokmi nemenila. Miera tohoto poklesu bola rôzna, podľa obsahu sorbujúcich sa látok v spracovávanej tekutine. Napríklad v prípade jablčného pektínu sa zaznamenal 80%-ný pokles, vo víne 25%-ný pokles pektinázovej aktivity. Imobilizovaný enzýmový preparát bolo možné regenerovať premývaním 0,1 M octanovým tlmivým roztokom.



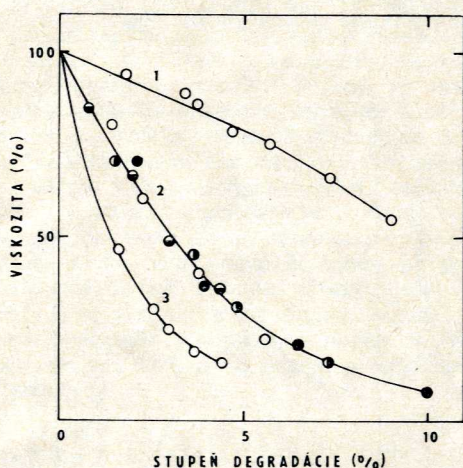
Obr. 3. Závislosť pektinázovej aktivity imobilizovaných pektolytických komplexov na teplote.

1 — Pectinex Ultra; 2 — Leozym

Jedným z predpokladov úspešnej aplikácie imobilizovaných pektináz je zachovanie pôvodného spôsobu účinku na pektín, spôsobujúceho rýchle znižovanie stupňa polymerizácie substrátu v dôsledku náhodného štiepenia vnútorných glykozidických väzieb. Nakoľko imobilizácia enzýmov katalyzujúcich degradáciu vysokomolekulárnych látok často vedie k zmenám v spôsobe účinku, venovali sme tejto otázke pozornosť. Spôsob degradácie pektínu imobilizovaným pektinázovým komplexom sme sledovali meraním poklesu viskozity v priebehu degradácie a namerané hodnoty sme korelovali s príslušným stupňom degradácie, vyjadreným percentom rozštiepených glykozidických väzieb. Merania sme uskutočňovali pri vsádzkovej a kolonovej aplikácii imobilizovaného enzýmu. Pri vsádzkových pokusoch sme inkubovali rôzne dlhú dobu za miešania 18 ml substrátu s 2 ml imobilizovaného enzýmu. Po ukončení inkubácie 10minutovým zahriatím reakčnej zmesi na vriacej vodnej lázni sa imobilizovaný



enzým oddelil centrifugáciou a v supernatante sa stanovili redukujúce skupiny a zmerala viskozita. Pri kolonovej aplikácii imobilizovaného enzýmu sa tieto dva parametre stanovovali v efluente z kolony. Reakčná doba, t. j. dĺžka doby styku substrátu s imobilizovaným enzýmom sa regulovala menením výšky stĺpca imobilizovaného enzýmu alebo menením rýchlosti prietoku substrátu kolonou. Výsledky meraní z obidvoch spôsobov aplikácie imobilizovaných enzýmov a z meraní s rozpustným enzýmom sú znázornené na obr. 4. Ako vyplýva z priebehu závislostí, zmena v spôsobe účinku imobilizovaného enzýmu sa výrazne prejavuje pri vsádzkovej aplikácii imobilizovaného enzýmu (krivka 1), kde pomalé klesanie viskozity, pri ktorom 50 % poklesu korešponduje rozštiepenie približne 10 % glykozidických väzieb je dôkazom degradácie makromolekulárneho substrátu neprebíhajúcej náhodile, ale postupujúcej pozdĺž molekuly substrátu. Naproti tomu pri kolonovej aplikácii, pravdepodobne v dôsledku lepšej difúzie substrátu bola jeho degradácia spojená s rýchlejšim znižovaním viskozity roztoku (krivka 2); 50 % pokles sa dosiahol pri všetkých prietokových rýchlostiach už pri rozštiepení približne 3 % glykozidických väzieb, čím sa spôsob degradácie pektínu priblížil degradácii pôsobením rozpustného enzýmu (krivka 3).



Obr. 4. Vzťah medzi poklesom viskozity a stupňom degradácie pektínu pri pôsobení imobilizovaného pektolytického komplexu v miešanej suspenzii (1), v kolone (2) a pri účinku rozpustného enzýmu (3).

Rýchlosť prietoku substrátu kolonou: 1,4 ml/min ○; 0,8 ml/min ●; 0,5 ml/min ○; 0,2 ml/min ⊙.

## ZÁVER

Imobilizáciou pektinázového komplexu na Sorsilen sa získal preparát, ktorý je pre svoju vysokú stabilitu zakotvenia enzýmu vhodný pre použitie aj v takých výrobných, ktoré nepripúšťajú kontamináciu produktu enzýmom. Vysoká operačná stabilita umožňuje mnohonásobne opakované použitie, alebo používanie týchto preparátov v dlhodobých kontinuálnych procesoch. Vzhľadom na spôsob účinku imobilizovaného enzýmu na priebeh degradácie pektínu je pre praktickú aplikáciu, vyžadujúcu výrazné zníženie viskozity pektínových roztokov, vhodnejší kolonový reaktor. Dobrý prietok v ňom je možné dosiahnuť i v prípade viskóznejších roztokov, ak

priemer častíc Sorsilenu nie je menší ako 2 mm. Takýto preparát imobilizovanej pektinázy Leozym v kombinácii s imobilizovanou proteázou [19] bol úspešne vyskúšaný pre použitie v kolone k stabilizácii vína proti bielkovin-  
ným zákalom [20].

## Literatúra

- [1] PYE, E. K.: Immobilized Enzymes in Food and Microbial Processes. Ed. A. C. Olson, G. L. Cooney, New York 1974.
- [2] DATUNASHVILI, E. N., PAVLENKO, N., GAINA, B., PETRACZE-NOK, V.: Vinodel. Vinograd. SSSR 6, 1975, s. 54.
- [3] BOCK, W., KRAUSE, M., GÖBEL, H., ANGER, H., SCHWALLER, H. J., FLEMMING, C., GABERT, A.: Nahrung 22, 1978, s. 185.
- [4] REXOVA-BENKOVA, L., MRACKOVA-DOBROTOVA, M.: Carbohydr. Res. 98, 1981, s. 115.
- [5] KMINKOVA, M., KUČERA, J.: Enzyme Microb. Technol. 5, 1983, s. 204.
- [6] REXOVA-BENKOVA, L., OMELKOVA, J., VERUOVIC, B., KUBANEK, V.: Biotechnol. Lett. 6, 1983, s. 737.
- [7] HOFSTEE, B. H. J.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 50, 1973, s. 751.
- [8] HOFSTEE, B. H. J.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 53, 1973, s. 1127.
- [9] CALDWELL, K. D., AXEN, A., BERGWALL, M., PORATH, J.: Bio-technol. Bioeng. 18, 1976, s. 1573.
- [10] CALDWELL, K. D., AXEN, A., BERGWALL, M., PORATH, J.: Bio-technol. Bioeng. 18, 1976, s. 1589.
- [11] REXOVA-BENKOVA, L., OMELKOVA, J., KUBANEK, V.: Collect. Czech. Chem. Commun. 47, 1982, s. 2718.
- [12] KUBANEK, V., BUDIN, J.: Chem. prum. 26, 1976, s. 599.
- [13] BUDIN, J., KUBANEK, V.: Chem. prum. 27, 1977, s. 568.
- [14] SOMOGYI, M.: J. Biol. Chem. 196, 1952, s. 19.
- [15] SCHUBERT, E.: Schweiz. Brau.-Rundschau 62, 1951, s. 39.
- [16] FISH, V. B., DUSTMAN, R. B.: J. Am. Chem. Soc. 67, 1945, s. 1155.
- [17] ALBERSHEIM, P.: Methods Enzymol. 8, 1966, s. 628.
- [18] COUPEK, J., GEMEINER, P., JIRKU, V., KALAL, J., KUBANEK, V., KUNIAK, L., PEŠKA, J., REXOVA, L., ŠTAMBERK, J., ŠVEC, F., TURKOVÁ, J., VERUOVIC, B., ZEMEK, J.: Chem. listy 75, 1981, s. 512.
- [19] REXOVA-BENKOVA, L., STRATILOVA, E., OMELKOVA, J., TURKO-VÁ, J., KOSTKA, V., KUBANEK, V., FARKAŠ, I.: PV 8175-83.
- [20] REXOVA-BENKOVA, L., FARKAŠ, J., STRATILOVA, E., OMELKOVA, J., TURKOVÁ, J., KOSTKA, V., KUBANEK, V.: PV 8174-83.

Rexová - Benková, L. - Stratilová, E. - Kubánek, V.: Pek-  
tinázový komplex imobilizovaný na polyetylén-tereftalát  
(Sorsilen). Příprava a vlastnosti. Kvas. prum. 30, 1984,  
č. 8, s. 177—181.

Pektinázové komplexy obchodných preparátov Pectinex Ultra (Schweizerische Ferment AG, Basel) a Leozym (Slovnik, n. p., Leopoldov, Československo) obsahujúce endopolygalakturonázu, exopolygalakturonázu, pektín-  
lyázu a pektínesterázu boli ireverzibilne imobilizované  
adsorpciou na polyetylén-tereftalát — Sorsilen (Silona,  
n. p., Planá nad Lužnicí, Československo) v 0,1 M octa-  
novom tlmivom roztoku, pH 4,2. Imobilizácia mala za ná-  
sledok zníženie pektolytickej aktivity; miera zníženia  
bola závislá na množstve enzýmu zakotveného na nosiči.  
Najvyššiu relatívnu pektolytickú aktivitu, 28,1 % Pectinex  
Ultra, 18 % Leozym mali preparáty obsahujúce 8 g pek-  
tinázy per 1 kg nosiča. Imobilizované preparáty boli stá-  
le počas dlhodobého skladovania pri 4 °C, a vyznačovali  
sa vysokou pevnosťou zakotvenia enzýmu v roztokoch  
obsahujúcich pektínové látky, v ovocných šťavách a bie-  
lom víne a vykazovali vysokú operačnú stabilitu umo-  
žňujúcu dlhodobé kontinuálne používanie.

Рексова-Бенкова, Л. — Стратилова, Е. — Кубанек, В.:  
Пектиназный комплекс, иммобилизованный на поли-  
этилентерефталат (Сорсилен). Квас. прум., 30, 1984,  
№ 8, стр. 177—181.

Комплексы пектиназы препаратов Pectinex Ultra  
(Schweizerische Ferment AG, Basel) и Leozym (Slovnik,  
n. p. Leopoldov), содержащие эндополигалактуроназу,  
экзополигалактуроназу, пектинлиазу и пектинэстеразу  
были ирреверсильно иммобилизованы адсорбцией  
в полиэтилентерефталат Sorsilen (Silona, n. p. Planá  
nad Lužnicí) в 0,1 М уксусном буферном растворе pH  
4,2. Иммобилизование результировало понижение пек-  
тинолитической активности, которая была зависима от



koличества фермента фиксированного на носителе. Наименее высокая относительная пектинолитическая активность (28,1 % Pectinex Ultra, 18 % Leozym) была у препаратов, которые содержали 8 г. пектиназы на 1 кг носителя. Имобилизованные препараты были стойкие в течении длительного хранения на складе при 4 °C и обладали высокой прочностью закрепления на носителе в растворе с разной ионной силой, pH 3,6—6,0, в растворах с пектиновыми веществами, в среде фруктовых соков и белого вина и имели высокую операционную стабильность, позволяющую непрерывное применение несколько месяцев без изменения пектинолитической активности.

**Rexová-Benková, L. - Stratilová, E. - Kubánek, V.: Complex of Pectinases Immobilized to Polythylenterephthalate (Sorsilen). Preparation and Properties.** Kvas. prům. 30, 1984, No. 8, pp. 177—181.

Pectinase complexes of commercial preparations Pectinex Ultra (Schweizerische Ferment AG, Basel) and Leozym (Slovlik, n. p. Leopoldov, Czechoslovakia) containing endopolygalacturonase, exopolygalacturonase, pectin lyase, and pectinesterase were irreversibly immobilized by adsorption on polyethyleneterephthalate — Sorsilen (Silona, n. p. Planá nad Lužnicí, Czechoslovakia) in 0,1 M acetate buffer, pH 4,2. The immobilization resulted in a lowering of pectinolytic activity; the measure of the lowering depended on the amount of the enzyme fixed on the carrier. The highest relative pectinolytic activity (28,1 % Pectinex Ultra, 18 % Leozym) had the preparations containing 8 g pectinase per 1 kg carrier. The immobilized preparations were stable during a long-lasting storage at 4 °C, were characteristic of their fixation

strength in salt solutions of various ionic strength, pH 3,6—6,0, as well as in solutions containing pectic substances, in fruit juices and white wine and they showed high operational stability enabling longterm continuous use.

**Rexová-Benková, L. - Stratilová, E. Kubánek, V.: Der auf Polyäthylenterephthalat immobilisierte Pektinase-Komplex (Sorsilen). Zubereitung und Eigenschaften.** Kvas. prům. 30, 1984, No. 8, S. 177—181.

Pectinasekomplexe der Präparate Pectinex Ultra (Schweizerische Ferment AG, Basel) und Leozym (Slovlik, n. p. Leopoldov, Tschechoslowakei) bestehend aus Endopolygalacturonase, Exopolygalacturonase, Pektinlyase und Pektinesterase wurden durch Adsorption an Polyethyleneterephthalate — Sorsilen (Silona, n. p. Planá nad Lužnicí, Tschechoslowakei) in 0,1 M Acetatpuffer, pH 4,2 irreversibil immobilisiert. Die Immobilisierung führte zu einer Verringerung der pektinolytischen Aktivität; das Maß der Verringerung war von der an dem Träger fixierten Enzymmenge abhängig. Die höchste relative pektinolytische Aktivität 28,1 % Pectinex Ultra, 18 % Leozym wurde in Präparaten mit dem Inhalt von 8 g Pektinase per 1 kg Träger ermittelt. Die immobilisierten Präparate waren auch nach langzeitiger Lagerung bei 4 °C stabil. Sie zeigten eine hohe Verankerungsfestigkeit an den Träger in Salzlösungen von verschiedener Ionenstärke, im Bereich von pH 3,6—6,0, so wie in den Lösungen mit dem Inhalt von Pektinstoffen, in Fruchtsäften und Weißwein, und wiesen eine hohe Operationsstabilität auf, die ihre mehrmonatige Anwendung ermöglichte.

## Problémy pěny v pivovarství

### I. Fyzikálně chemické faktory tvorby a stability pěny

Je známo, že první dojem pijačky, podává-li se mu sklenice piva, je nejdůležitější. Vzhled a vhodné uvedení piva závisí především na třech charakteristických vlastnostech: barvě, jiskrnosti a vzhledu pěny. Tyto vlastnosti jsou jmenovány záměrně podle rostoucí důležitosti v ohodnocení, avšak též v obtížnosti, s jakou se zvládnou, neboť se projeví pouze v okamžiku hodnocení. Mimoto dostatečná a trvanlivá pěnivost se posuzuje, ať právem či neprávem, jako kvalitativní ukazatel jakosti piva. Protože tvoření pěny vyvolává enormní růst povrchu, tensioaktivní látky, které spolupůsobí v chuti a vůni a které mají podíl na struktuře pěny, jsou nějakým způsobem z piva vypuzeny a konzumentem hodnoceny bezprostředněji. Pro sládky je tedy nezbytně nutné věnovat veškerou pozornost této důležité vlastnosti piva, kterou představuje bílá barva, jemnost a vzhled pěny,

Přesto, že začínáme postupně pronikat do různých proměn chování pěny piva souvisejících jak s chemií a fyzikou, tak s technologií a rozumět jim, zůstává problém pěny stále velmi komplikovaný a jeho rozluštění je velmi vzdálené. Kvantitativní prostudování systémů pěny je velmi nesnadné, neboť jsou mezi všemi koloidními disperzemi (soly, emulzemi, suspenzemi) nejméně stabilní a jsou charakteristické nejslabším stupněm dispergování (Ruysen). Na druhé straně je úkolem pivovarského výzkumu nejen izolovat a studovat složky pěny, nýbrž též definovat podmínky fyzikálně chemické rovnováhy, jimiž se řídí její tvorba a stabilita u tak komplikované a proměnlivé kapaliny jako je pivo.

Sledujeme-li jednání EBC (EBC Proceedings) 1947, vidíme, že tam bylo věnováno 16 přednášek speciálně pěně a pěnivosti, což je jistě významné pro získání přístupu

k tomuto problému. Jistě bylo publikováno ještě mnoho prací a některé velmi vysoké úrovně; při jejich studiu však často zjišťujeme rozpory v názorech a výsledky, z nichž vyplývá nutnost pečlivého proškrtání literárních údajů.

Ze studie vyplývá, že stabilita pěny je podmíněna adsorpcí tensioaktivních součástí na fázových rozhraních. Je možno ji považovat za výsledek rovnováhy mezi složkami podporujícími tvorbu pěny a těmi, které ji brzdí; tyto složky jsou výsledkem výběru surovin a rovněž výrobního postupu. V této souvislosti je třeba připravit rozhodující úlohu povaze těch složek piva, které podporují tvorbu pěny.

Šatava

VANCRANENBROECK, R.: Le problème de la mousse en brasserie. I. Facteurs physico-chimiques de formation et de stabilité de la mousse de bière. *Ceravisia* 7, 1982, č. 4, s. 191—195.

## Analýza organických sloučenin ve vzorcích vody

Za současného stavu analytiky vody vyvstává otázka, jak se budou dále vyvíjet používané četné metody. Plynová chromatografie (GC) často nevyhovuje dlouhou dobou, potřebnou k provedení. Vysokotlakou plynovou chromatografií (HPLC) by bylo třeba ještě dále zlepšit, aby probíhala ještě rychleji. Hmotnostní spektrometrie (MS) dosáhla ve spojení s GC a HPLC svojí mnohotvárností ionizačních technik a hlavně s nasazením zpracování údajů pozoruhodné úrovně. Souhrnně lze říci, že metodami GC, HPLC a MS, jakož i jejich kombinací lze řešit prakticky všechny problémy analytiky vody, pokud jde o přítomnost organických sloučenin.

Lhotský

DOARNER, W. G.: Analyse organischer Verbindungen in Wasserproben. *Getränkeind.* 37, 1983, č. 11, s. 997—1002.