- [14] MICHALČÁKOVÁ, S., ŠTURDÍK, E.: Kvas. prům., **36**, 1990.
- [15] YAMAMOTO, T., UCHIDA, K., HIRATANI, T.: J. Antibiot., **41**, 1988, s. 398.
- [16] WICKNER, R. B. in The Molecular Biology of the Yeast: Saccharomyces, Life Cycle and Inheritance (Strathern, J. N., Jones, E. W., Broach, R. J., eds.), Cold Spring Harbor 1981.
- [17] YOUNG, T. W., YAGIU, M.: Ant. van Leeuwenhoek, **44**, 1978, s. 459.

Michalčáková, S. - Šturdík, E. - Sulo, P.: Šľachtenie vínnych kvasiniek. IV. Selekcja a vlastnosti smrtiacich kmeňov. Kvas. prům., **36**, 1990, č. 10—11, s. 301—304.

Prieskumom 63 zbierkových kmeňov vínnych kvasiniek rodu *Saccharomyces* bolo nájdených 5 producentov „killer“ toxínov so stabilitami a pH profilmi vhodnými pre použitie na potlačanie kvasiniek rodu *Zygosaccharomyces* ako obávaných kontaminantov fľašového vína. Boli študované genetické determinanty kódujúce smrtiace toxíny s cieľom využiť získané poznatky pri prenose smrtiacich vlastností do priemyselných kmeňov vínnych kvasiniek.

Михалчакова, С. - Штурдик, Э - Суло, П.: Селекция винных дрожжей. IV. Селекция и свойства смертоносных штаммов. Квас. прум., **36**, 1990, № 10—11, стр. 301—304.

Pri исследовании 63 коллекционированных штаммов винных дрожжей типа *Saccharomyces* было найдено пять продуцентов «киллер» токсинов с стабильностью и pH профилями, подходящими для подавления дрожжей

типа *Zygosaccharomyces*, опасение вызывающих контаминантов бутылочного вина. Изучались генетические детерминанты — коды смертоносных токсинов с целью использования полученных сведений при переносе смертоносных свойств в промышленные штаммы винных дрожжей.

Michalčáková, S. - Šturdík, E. - Sulo, P.: Improvement of Wine-Making Yeasts. IV. Selection and Properties of Killer Strains. Kvas. prům., **36**, 1990, No. 10—11, pp. 301—304.

From 63 wine-making yeast strains of *Saccharomyces* (from the collection) five strains produced killer toxins being stable and having suitable pH values for the suppression of *Zygosaccharomyces* yeasts that belong among apprehensive contaminants of bottled wines. The genetic determinants coding the killer toxins were studied with the aim to transfer the killer properties into industrial strains of wine-making yeasts.

Michalčáková, S. - Šturdík, E. - Sulo, P.: Züchtung von Weinhefen. IV. Selektion und Eigenschaften der Killer-Stämme. Kvas. prům., **36**, 1990, Nr. 10—11, S. 301—304.

Bei der systematischen Überprüfung von 63 Sammlungs-Hefe-Stämmen des Genus *Saccharomyces* wurden 5 Produzenten von „Killer-Toxinen“ mit Stabilitäten und pH-Profilen gefunden, die geeignet für die Anwendung als Inhibitoren der *Zygosaccharomyces*-Hefen — der befürchteten Kontaminanten von Flaschenweinen erscheinen. Es wurden die genetischen Determinanten, die die Killertoxine kodieren, studiert, mit dem Ziel der Applikation der gewonnenen Erkenntnisse bei dem Transfer der Killer-Eigenschaften auf die industriellen Weinhefestämme.

Frakcionácia kvasničnej biomasy.

V. Výroba a využitie preparátov invertázy

693.14

Ing. R. KOLLÁR, Doc. Ing. E. ŠTURDÍK, CSc., Ing. M. GALKOVÁ, Ing. S. GOČOVÁ, Katedra biochemickej technológie CHTF SVŠT, 812 37 Bratislava

Kľúčové slová: pekárské drożdże, frakcionácia biomasy, získavanie a aplikácia invertázy, autolýza kvasiniek

ÚVOD

Invertáza [β -fruktofuranosidáza, E. C. 3.2.1.26] je hydroláza katalyzujúca rozklad sacharózy na glukózu a fruktózu, čo sa využíva predovšetkým v cukrovinkárstve na zlepšenie konzistencie čokoládových cukríkov s fondánovou náplňou, v nápojovom priemysle pri výrobe glukózo-fruktózových sirupov, v pekárstve na zlepšenie pórovitosti a zvýšenie arómy pečiva, v poľnohospodárstve na prípravu cukorného krmiva pre včelstvá v zimnom období a napokon pri konštrukcii biochemických analyzátorov (enzýmových elektród a termistorov) [1—5].

Enzým sa izoluje z pekárskeho drożdžia viacerými postupmi, ktorých podstata spočíva v rozrušení bunkového obalu a uvoľnení invertázy z kvasiniek, pričom z bunkového extraktu sa finálny produkt získa precipitáciou s $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, resp. s organickými rozpúšťadlami [6]. V priemyselných podmienkach sa na uvoľnenie enzýmu z buniek najčastejšie využíva iniciovaná autolýza doplnená

v závere pôsobením horúceho toluénu [7—9]. Pre doteraz popísané spôsoby získavania invertázy je typické, že ide o tzv. „sólo“ izolácie, teda postup je optimalizovaný tak, aby sa zo vstupnej suroviny získal maximálny výťažok enzýmu.

Na našom pracovisku bol vypracovaný postup komplexnej frakcionácie kvasničnej biomasy umožňujúci vyrobiť z jednej šarže viacero preparátov. Z drożdžia sa tak dá získať súčasne kvasničný extrakt, nukleotidy, ergosterol, fosfolipidy, bunkové steny, glukany a invertáza [10]. V predchádzajúcich článkoch, charakterizujúcich zmienenú stratégiu, sme popísali spôsob uvoľňovania cytoplazmatického obsahu kvasiniek indukovanou autolýzou, ktorá sa využíva na rozrušenie bunkového obalu [11], ďalej získavanie hrubých preparátov z autolýzáty pekárskeho drożdžia [12], resp. izoláciu a využitie frakcie lipidov [13]. Tento článok je venovaný problematike získavania invertázy v rámci komplexnej frakcionácie drożdžia a využitia (odskúšania) získaných preparátov v našich podmienkach.

MATERIÁL A METÓDY

Vstupnou surovinou pre experimenty, realizované na Enzymovej poloprevádzke v Dolnej Krupej, bolo lisované pekárské droždie (Potravinársky kombinát, droždiareň, s. p., Trebišov). Používali sme 10% suspenziu kvasiniek pripravenú z čerstvého expedičného droždia. Biomasy sme dezintegrovali procesom iniciovanej autolýzy. Autolytický proces sme indukovali prídavkom NaCl, etanolu a kvasničného extraktu z predchádzajúceho experimentu, ako zdroja exogénnych lytických enzýmov [14]. Autolýzu sme uskutočnili v 1500 l fermentore Electrolux (Švédsko) pri teplote 50 °C s 500 kg pekárskeho droždia za stáleho miešania (frekvencia otáčok 200 min⁻¹) počas 24 h. Autolyzát bol potom rozseparovaný centrifugáciou (Alfa Laval BRPX, Švédsko a CTR 101, ZSSR) na supernatant a sediment. Časť invertázy uvoľnenej do extracelulárneho priestoru sme zo supernatantu koncentrovali buď precipitáciou etanolom, alebo zahustením na vákovej odparke (Alfa Laval, Švédsko), resp. ultrafiltráciou (DDS, Dánsko) a vákuovou filtráciou (S. Giovanni, Taliansko). Získané koncentráty invertázy boli stabilizované prídavkom glycerolu alebo sacharózy.

Zostávajúca časť biomasy bola spracovaná podľa postupu komplexnej frakcionácie kvasničných buniek [12] tak, že okrem invertázy boli získané preparáty kvasničného extraktu, nukleotidov, ergosterolu, fosfolipidov, kvasničných bunkových stien a glukánov.

Obsah sušiny vo vzorkách bol zisťovaný gravimetricky štandardnými metódami [15]. Invertázovú aktivitu sme určovali stanovením koncentrácie redukujúcich látok, vzniknutých inkubáciou roztoku sacharózy (0,8 mol . dm⁻³) so vzorkami enzýmu v acetátovom pufri (0,1 mol . dm⁻³; pH 4,7). Enzymatická hydrolýza prebiehala 5 minút pri teplote 40 °C a bola zastavená prídavkom kyseliny 3,5-dinitrosalicylovej, ktorá za varu reaguje s redukujúcimi látkami za vzniku 3-nitro-5-amínosalicylovej kyseliny s absorpčným maximom pri 540 nm, pričom absorbanca pri tejto vlnovej dĺžke je úmerná koncentrácii redukujúcich látok vo vzorke. Analytická čiara pre stanovenie redukujúcich látok bola zhotovená nariadením ekvimolárnej zmesi D-glukózy a D-fruktózy v acetátovom pufri (0,1 mol . dm⁻³, pH 4,7). Aktivitu enzýmu sme vyjadrovali v μ kat na mg proteínov. Proteíny sme stanovovali spektrofotometricky metódou podľa Lowryho [16].

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V priebehu iniciovanej autolýzy, ktorá sa v našom postupe frakcionácie kvasničnej biomasy využíva na dezintegráciu bunkového obalu, dochádza k uvoľňovaniu rozpustných zložiek bunky spolu s produktami enzymatickej hydrolýzy biopolymérov do extracelulárneho priestoru [17]. Centrifugáciou získaného autolyzáta sú tieto látky distribuované do supernatantnej frakcie. Ako sme už uviedli, autolýzou dochádza k solubilizácii určitej časti invertázovej aktivity z periplazmatického

Obr. 1. Aktivita (A), špecifická aktivita (B) a obsah invertázy (C)

■ v intaktných bunkách
■ v supernatantnej a
□ sedimentnej frakcii pekárskeho droždia

priestoru kvasničnej bunky. Na obr. 1 je znázornená invertázová aktivita (v μ kat na g sušiny), špecifická aktivita (v μ kat na mg proteínov) v intaktnom droždi, supernatantnej a sedimentnej frakcii autolyzáta po 24 h autolýzy, ako aj distribúcia enzymatickej aktivity (v %) v uvedených frakciách. Z obr. 1 je zrejmé, že do supernatantu sa uvoľní asi 5 % invertázy obsiahnutej v kvasničných bunkách, 75 % je v sedimente a zvyšok sa inaktivuje.

Zo supernatantu sme invertázu izolovali najskôr precipitáciou s etanolom. Optimalizovali sme vplyv objemového prídavku etanolu (pri teplote 4 °C) k supernatantu autolyzáta. Z hľadiska aktivity i špecifickej aktivity získaného precipitátu sa ako najvhodnejší javí prídavok cca 37 % obj. etanolu (obr. 2). U získaného preparátu sme charakterizo-

Obr. 2. Precipitácia invertázy zo supernatantnej frakcie autolyzáta pekárskeho droždia rôznym objemovým prídavkom etanolu. Sledovanými parametrami bola hmotnosť precipitátu získaného z 90 ml supernatantu

● (v g sušiny),
● aktivita (μ kat na g sušiny) a
○ špecifická aktivita (v μ kat na mg proteínov) invertázy v precipitáte

vali pH a teplotný profil invertázy, pričom bolo zistené, že pH optimum má hodnotu 5 a teplotné 55 °C. Michaelisova konštanta K_M mala hodnotu $54,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ a aktivita preparátu sa pohybovala okolo $80 \mu\text{kat/g}$ sušiny. V dôsledku nízkej efektivity izolácie, ako aj pomerne malej aktivity enzýmového preparátu bola otázka efektívnejšieho získavania invertázy riešená s využitím ultrafiltrácie a následného zahustenia. Ultrafiltráciu sme realizovali na zariadení DDS s membránami, ktorých deliaca schopnosť bola v oblasti relatívnej molekulovej hmotnosti 20 000. Ultrafiltráciou 480 l supernatantu sme získali 80 l ultrafiltrátu s aktivitou $9,4 \mu\text{kat}$ na ml. Permeát slúžil ďalej na izoláciu nukleotidov (adsorpciou na aktívnom uhlí) a finalizáciu kvasničného extraktu rozprašovacím sušením. Ultrafiltrát supernatantu, ktorý predstavuje koloidný roztok, sme zahustili na vákuovej odparke na polovicu pôvodného objemu, prakticky bez straty aktivity. Ďalšou možnosťou ako zvýšiť predovšetkým špecifickú aktivitu invertázy bolo odstránenie koloidných častíc z roztoku za predpokladu, že invertáza nie je na ne viazaná. Z týchto dôvodov sme ultrafiltrát prefiltrovali na vákuovom filtri. Po filtrácii sme získali číry roztok, v ktorom sme však pozorovali pokles aktivity cca o $6 \mu\text{kat/ml}$. Na druhej strane však filtráciou došlo k markantnému zvýšeniu aktivity (v μkat na g sušiny), ako aj špecifickej aktivity (v μkat na mg proteínov). Pôvodná hodnota špecifickej aktivity zahusteného ultrafiltrátu sa zvýšila desaťkrát ($4 \mu\text{kat}$ na mg proteínov, tab. 1). Ďalšou výhodou tohto

Tabuľka 1. Aktivita invertázy v jednotlivých frakciách počas izolácie enzýmu z pekárskeho droždia

Analyzovaná vzorka	Obsah sušiny (%)	Aktivita ($\mu\text{kat/ml}$)	Špecifická aktivita ($\mu\text{kat/mg}$ proteínov)
1. supernatant autolýzátu	4,4	0,08	0,0045
2. ultrafiltrát supernatantu	17,3	9,4	0,4
3. zahustený ultrafiltrát (2krát)	14,4	17,1	0,4
4. vákuovo filtrovaný ultrafiltrát	7,5	12,0	4,0
5. zahustený filtrát (8krát)	63,3	77,3	4,0

postupu je fakt, že prefiltrovaný číry roztok je možné neobmedzene zahusťovať na vákuovej odparke prakticky bez straty aktivity.

Vzhľadom na to, že v cukrovinkárstve sa v technologickej praxi využívajú zahraničné preparáty s aktivitou okolo $100 \mu\text{kat}$ na ml, snažili sme sa priblížiť tejto hodnote. Získaný preparát po zahutnení vykazoval aktivitu $77,3 \mu\text{kat/ml}$. Keďže izolované preparáty invertázy sú pomerne nestabilné, z hľadiska komerčného využitia je nevyhnutná ich stabilizácia. My sme odskúšali prídavok glycerolu a sacharózy. Na obr. 3 je zachytený teplotný profil preparátov invertázy s rôznym prídavkom glycerolu v porovnaní s nestabilizovaným enzýmom. Na základe získaných experimentálnych poznatkov je možné konštatovať, že enzým bez prídavku stabilizátora má teplotné optimum pri 50 °C a po-

Obr. 3. Teplotné profily preparátov solubilnej invertázy stabilizovaných prídavkom glycerolu vo výslednej koncentrácii

0 ○, 23 ●, 33 ●, 42 ● a 50 ○ % obj.

Aktivita pôvodného enzýmu izolovaného z pekárskeho droždia bola pri 40 °C $77,3 \mu\text{kat/ml}$

tom dochádza k rýchlej inaktivácii. Pridaním glycerolu k zahustenému ultrafiltrátu invertázy v objemovom množstve cca od 20 do 45 % sa teplotné optimum posúva z 55 °C na 60 °C. Po prekročení hranice 60 °C však prudko klesá aktivita aj v stabilizovaných preparátoch. Maximálna hodnota invertázovej aktivity bola dosiahnutá pri teplote 60 °C prídavkom glycerolu v množstve 0,3 ml k 1 ml pôvodného invertázového preparátu (po prepočítaní na pôvodný preparát to zodpovedá $157 \mu\text{kat/ml}$). Stabilizačný efekt glycerolu sa prejavil v porovnaní s kontrolou v celom rozsahu prídavkov. Okrem toho sme realizovali dlhodobé experimenty, v ktorých sme sledovali vplyv prídavku sacharózy a glycerolu na stabilitu enzýmového preparátu jednak pri laboratórnej teplote, ako aj pri 4 °C. Rozhodujúcim kritériom pre posúdenie stabilizačného efektu boli zmeny v aktivite počas sledovaného obdobia. Celková aktivita preparátu je pochopiteľne závislá od stupňa nariadenia prídavkom stabilizačného roztoku (obr. 4). Z obrázku vyplýva, že roztok enzýmu v 50%-nom glycerole je dostatoč-

Obr. 4. Priebeh inaktivácie solubilnej invertázy stabilizovanej prídavkom glycerolu vo výslednej koncentrácii 50 ○, 25 ●, 12,5 ●, a 0 ● % obj. počas inkubácie pri laboratórnej teplote

ne stabilný pre aplikačné využitie. Podobný efekt bol pozorovaný aj pri teplote 4 °C. Preparáty s obsahom 12,5 a 25 % glycerolu vykazovali pri oboch teplotách výrazné poklesy aktivity, pričom v prípade kontroly bez prídavku stabilizátora bola strata aktivity ešte markantnejšia (cca 40 %). Pri stabilizácii enzýmu rôznym podielom sacharózy došlo po úvodnom poklese aktivity o cca 20 % k ustáleniu aktivity na jednej hodnote, pričom pri inkubácii v chlade bol priebeh poklesu aktivity pomalší. Spomedzi testovaných preparátov bol najstabilnejší preparát so 40%-ným obsahom sacharózy.

Získané prípravky boli testované vo viacerých oblastiach ich plánovaného využitia a to v cukrovinkárstve pri výrobe obalovaných cukríkov, ďalej pri výrobe glukózo-fruktózových sirupov pre nápojový priemysel, resp. na dokrmovanie včelstiev v zimnom období, ako aj pri príprave enzýmových termistorov.

V štátnom podniku Cukrovinky v Bratislave bol realizovaný overovací pokus s invertázou stabilizovanou 40%-nou sacharózou pri výrobe ovocných pastiliek, do ktorých sa podľa technologickej normy pridáva na 100 kg tuhnúcej hmoty 10 g invertázy firmy Merck s aktivitou 130 μ kat/ml. Vzhľadom na to, že izolovaný preparát mal aktivitu o polovicu nižšiu a navyše bol nariadený roztokom sacharózy (stabilizácia), pridali sme na 100 kg fondánovej hmoty 30 g invertázového preparátu. V získaných produktoch bol dosiahnutý dokonca výraznejší efekt zmäknutia v porovnaní s kontrolou, pričom nedošlo k žiadnej negatívnej zmene senzorkých vlastností. Dôležitým faktorom sledovaným u komponentov aplikovaných do potravinárskych výrobkov je ich hygienická nezávadnosť. Na špecializovanom pracovisku spomínaného podniku boli vykonané príslušné mikrobiologické testy, pričom bolo zistené, že testovaný preparát spĺňal požiadavky podľa ČsL 3 (tab. 2).

Tabuľka 2. Mikrobiologické vyšetrenie preparátu invertázy vyrobeného z pekárského droždia

Celkový počet mikroorganizmov	Plesne	Kvasinky	Koli-formné	Podmienené patogény
400/g	200/g	150/g	negat.	negat.

Ďalej bol preparát invertázy overený pri hydrolyze sladených hroznových muštov určených pre výrobu nealkoholických nápojov s cieľom zvýšenia ich sladivosti za účelom šetrenia sacharózou (obr. 5). Z obrázku vyplýva, že inkubáciou 1 l muštu s 1,6 ml roztoku invertázy (60 μ kat/ml) pri laboratórnej teplote dochádza k 100%-nej hydrolyze sacharózy približne za 40 hodín.

Pre aplikáciu vo včelárstve bol izolovaný preparát invertázy s aktivitou 60 μ kat/ml testovaný pri príprave cukorného krmiva pre včelstvá v zimnom období. Na dokrmovanie sa používajú takmer nasýtené sacharózové roztoky, preto aj v našich experimentoch sme sledovali hydrolyzu koncentrova-

Obr. 5. Hydrolyza sacharózy v sladenom hroznovom mušte (78 g sacharózy/l) katalyzovaná invertázovým preparátom

Aktivita 60 μ kat/ml. Intenzita prebiehala pri laboratórnej teplote v 1 l muštu s prídavkom 1,6 ml enzýmového preparátu

ných sacharózových roztokov s využitím izolovaného enzýmu. Výsledky týchto experimentov sú sumarizované v tab. 3, kde sú uvedené množstvá

Tabuľka 3. Množstvo invertázového preparátu s aktivitou 60 μ kat/ml potrebné na dosiahnutie 100% hydrolyzy sacharózy v 1 l nasýteného roztoku pri rôznych teplotách

Čas	Teplota		
	24 °C	30 °C	50 °C
24 h	25 ml	20 ml	15 ml
48 h	15 ml	10 ml	5 ml

invertázového preparátu potrebné na 100%-nú hydrolyzu sacharózy pri teplotách 24 °C, 30 °C a 50 °C počas 24 a 48 hodín.

Izolovaný preparát bol úspešne overený včelármi mestskej organizácie Zväzu včelárov v Bratislave, pričom neboli pozorované žiadne negatívne vplyvy na včelstvá, naopak, tieto boli vitálnejšie.

V spolupráci so špecializovaným pracoviskom CHÚ SAV bol preparát invertázy využitý pri konštrukcii enzýmového termistora. Invertáza bola kovalentne imobilizovaná na celulózoový nosič a umiestnená v kolóne, kde prebiehala hydrolytická reakcia pri súčasnom monitorovaní tepelného zafarbenia reakcie. Takéto zariadenie je využiteľné pre priame, vysokocitlivé a špecifické stanovenie sacharózy v potravinárstve, fermentačnom priemysle, medicíne atď. [18].

Po ukončení autolýzy väčšia časť invertázy zostáva viazaná na stenové fragmenty, ktoré sa po odstredení autolýzátu nachádzajú v sedimentnej frakcii. Z hľadiska chemického zloženia je sediment tvorený prevažne polysacharidmi (70 %), zvyškami proteínov a nukleových kyselín (20 %) a prakticky všetkými bunkovými lipidmi (10 %).

V porovnaní s intaktnými bunkami pekárského droždia je výhodné, že v priebehu autolýzy dochádza k uvoľneniu cytoplazmatického obsahu bunky do supernatantu, vďaka čomu sa zvýši ak-

tivita i špecifická aktivita invertázy v sedimente autolýzátu (obr. 1). Invertáza viazaná v bunkových stenách má teplotné optimum pri 60 °C. Pri tejto teplote sme sledovali stabilitu stenovoviazanej invertázy v porovnaní so stálosťou voľného enzýmu stabilizovaného prídavkom sacharózy (obr. 6).

Obr. 6. Porovnanie stability preparátu solubilnej invertázy získaného zo supernatantnej frakcie autolýzátu pekárskoho droždia stabilizovaného

○ prídavkom sacharózy
● s prídavkom obsahujúcim enzým viazaný v bunkových stenách. Inkubácia prebiehala pri teplote 60 °C

Z obrázku vyplýva, že stabilita prirodzene imobilizovaného enzýmu je dvojnásobne vyššia, čo pochopiteľne zvyhodňuje použitie tohto preparátu pri práci v extrémnejších podmienkach. Ponúka sa predovšetkým jeho využitie pre prietokovú hydrolyzu koncentrovaných sacharózových roztokov v kolónovom usporiadaní pri výrobe glukózo-fruktózových sirupov pre náš nápojový priemysel. Takáto aplikácia však vyžaduje patričné fyzikálno-chemické úpravy stenového preparátu s cieľom dosiahnutia jeho žiadaných hydrodynamických vlastností, čo je v súčasnosti predmetom nášho snaženia.

Literatura

- [1] ALEKSANIAN, E. R., MARKOSIAN, L. S.: Prikl. Biochim. Microbiol., **22**, 1986, s. 63.
- [2] RÖMBACH, J., KLUGE, H.: Lebensmittelindustrie, **35**, 1989, s. 70.
- [3] NAKAJIMA, M., et al.: Process Biochem. **22**, 1988, s. 32.
- [4] ADLER-NISSEN, J.: Trends Biotechnol. **5**, 1987, s. 170.
- [5] RAHMI, M. A. N., LUBRANO, G. J., GUILBAULT, G. G.: J. Agric. Food Chem. **35**, 1987, s. 1001.
- [6] WOODWARD, J., WISEMANN, A.: In „Developments in Food Carbohydrates, vol. 3“ ed. C. K. Lee, M. G. Lindsley, Applied Science Publishers, London, 1982, s. 1.
- [7] LUKAS, W., JARCZEWSKI, G.: Lebensmittelindustrie, **36**, 1989, s. 41.
- [8] ILLANES, A., GORGOLLON, Y.: Enzyme Microb. Technol. **8**, 1986, s. 81.
- [9] WISEMANN, A.: Handbook of Enzyme Biotechnology, Ellis Harwood Limited, Chichester, 1985, s. 282.
- [10] Pat. ČSFR; AO 259 288.
- [11] ŠTURDÍK, E., et al.: Kvas. prům. **34**, 1988, s. 241.
- [12] ŠTURDÍK, E., et al.: Kvas. prům. **35**, 1989, s. 74.
- [13] ŠAJBIDOR, J., et al.: Kvas. prům. **35**, 1989, s. 242.
- [14] Pat. ČSFR AO 259 289.
- [15] DAVÍDEK, J. et al.: Laboratorní příručka analýzy potravin, 1. vyd., SNTL Praha, 1981, s. 182.
- [16] LOWRY, O. M., et al.: J. Biol. Chem., **193**, 1951, s. 265.
- [17] BABAYAN, T. I., BEZRUKOV, M. G.: Acta Biotechnol. **5**, 1985, s. 129.
- [18] ŠTEFUCA, V., et al.: Enzyme Microbiol. Technol. (v tlači).

Lektoroval Ing. F. Machek, CSc.

Kollár, R. - Šturdík, E. - Galková, M. - Gočová, S.: Frakcionácia kvasničnej biomasy. V. Výroba a využitie preparátov invertázy. Kvas. prům., **35**, 1990, č. 10–11, s. 304–308.

V rámci programu komplexnej frakcionácie pekárskoho droždia bol vypracovaný postup izolácie invertázy zo supernatantnej frakcie autolýzátu popri súčasnom získavaní kvasničného extraktu, nukleotidov, ergosterolu, fosfolipidov, bunkových stien a glukánov. Vyrobený invertázový preparát bol s úspechom odskúšaný v cukrovinkárstve pri výrobe cukríkov s fondánovou náplňou, ďalej pri príprave glukózo-fruktózových sirupov pre nápojový priemysel a včelárstvo, ako aj pri konštrukcii enzýmového termistora vhodného na stanovenie sacharózy.

Коллар, Р. - Штурдик, Э. - Галькова, М. - Гочова, С.: Фракционирование дрожжевой биомассы. V. Производство и использование препаратов инвертазы. Квас. прум., **36**, 1990, № 10–11, стр. 304–308.

V rámci programu komplexného frakcionovania chlebopekarňských droždí bol vypracovaný spôsob izolovania invertázy zo supernatantnej frakcie autolýzátu pri súčasnom získavaní kvasničného extraktu, nukleotidov, ergosterolu, fosfolipidov, bunkových stien a glukánov. Vyrobený invertázový preparát bol s úspechom testovaný pri produkcii konfet s pomazkou, ďalej pri príprave glukózo-fruktózových sirupov pre nápojový priemysel a včelárstvo, a tiež pri konštruovaní enzýmového termistora, vhodného na stanovenie sacharózy.

Kollár, R. - Šturdík, E. - Galková, M. - Gočová, S.: Fraktionierung der Hefebiomasse. V. Production and Application of Invertase. Kvas. prům., **36**, 1990, No. 10–11, pp. 304–308.

The isolation procedure of invertase from the supernatant fraction of autolysate was developed. The procedure also permits to obtain yeast extract, nucleotides, ergosterol, phospholipids, cell walls and glucans. The preparation of invertase has been tested in a confectionary, in a preparation of glucose-fructose syrup for beverages and a bee-keeping as well as for a construction of the enzyme thermistor for the saccharose determination.

Kollár, R. - Šturdík, E. - Galková, M. - Gočová, S.: Fraktionierung der Hefebiomasse. V. Herstellung und Applikation der Invertase-Präparate. Kvas. prům., **36**, 1990, Nr. 10–11, S. 304–308.

Im Rahmen des komplexen Programms der Backhefe-Fraktionierung wurde ein Verfahren zur Isolierung der Invertase aus der supernatanten Autolysat-Fraktion bei gleichzeitiger Gewinnung von Hefeextrakt, Nukleotiden, Ergosterol, Phospholipiden, Zellwände und Glukanen ausgearbeitet. Das hergestellte Invertase-Präparat wurde mit Erfolg in der Süßwarenindustrie bei der Herstellung von Bonbons mit Fondant-Füllung erprobt, weiter auch bei der Bereitung von Glukose-Fruktose-Sirupen für die Getränkeindustrie und Bienenwirtschaft, sowie auch bei der Konstruktion eines Enzym-Thermistors, der zur Bestimmung der Saccharose geeignet ist.