

## Možnosti využitia technického preparátu invertázy v nápojovom priemysle

663.14 663.252

Ing. JOZEF KOVÁČ, CSc., Ing. ROBERT MIKONY — Výskumný ústav potravinársky, Biotechnologické centrum MODRA, pracovisko biochemickej technológie nápojov.

**Kľúčové slová:** nápojový priemysel, invertáza, inverzia sacharózy, zahustený mušt, hydrolýza.

### ÚVOD

Spotreba osviežujúcich nealkoholických a nízkoalkoholických (sýtených a nesýtených) nápojov má u nás i v zahraničí stúpajúcu tendenciu. V súvislosti s tým sa dostáva do popredia otázka kvality a sortimentu ponúkaných nápojov. Napriek snahe využívať v maximálnej miere prírodnú surovinovú bázu (mušty, šťavy, ovocné koncentráty a pod.) tvorí sacharóza jeden z najčastejšie používaných komponentov sirupov na výrobu nápojov.

V práci sme sa zamerali na zistenie možnosti štiepenia sacharózy v zahustených hroznových muštoch a iných substrátoch s cieľom dosiahnuť vyššiu sladivosť základných surovín na výrobu nápojov, ako aj lepšiu využiteľnosť získaných monosacharidov — glukózy a fruktózy. Pritom sme porovnávali rýchlosť enzýmovej a kyslej hydrolýzy sacharózy.

Enzýmový preparát sme získali z Katedry biochemickej technológie Chemickotechnologickej fakulty SVŠT v Bratislave, kde bol pripravený v rámci programu komplexnej frakcionácie kvasničnej biomasy [1, 2, 3]. Práca tak nadväzuje na uvedený program, resp. na využitie jedného zo súboru frakcionáciou získaných preparátov — invertázy [4].

### MATERIÁLY A METÓDY

#### Použité chemikálie a roztoky

V práci sa použili vodné roztoky nasledujúcich reagensov:

- Kyselina octová ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ );  $c = 0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ .
- Octan sodný ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ );  $c = 0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ .
- Hydroxid sodný ( $\text{NaOH}$ );  $c = 2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ .
- Vínan sodno-draselný ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), čistý.
- Kyselina citrónová ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), potravinárska.
- Reagencia na stanovenie redukujúcich sacharidov [5]:  
Navážia sa 1 g kyseliny 3,5-dinitrosalicilovej, pridá sa k 20 ml roztoku  $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  NaOH a pridá sa 50 ml destilovanej vody. Obsah sa rozpustí, pridá sa 30 g vínanu sodno-draselného, prefiltruje sa cez skladaný filter a doplní destilovanou vodou na 100 ml.

#### Invertáza

Enzým invertáza sa získal z buniek *Saccharomyces cerevisiae* indukovanou autolýzou [4]; hotový

preparát nám láskavo poskytli autori. Stabilizoval sa vo vysokokonzentrovanej sacharózovej roztoku.

#### Zahustený hroznový mušt

V experimentoch sa používal sacharózou zahustený hroznový mušt stabilizovaný proti prekvášaniam prídavkom vysokej dávky  $\text{SO}_2$ , nasledovného zloženia:

Titrovateľné kyseliny:	$3,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$
Redukujúce sacharidy:	$92 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$
Obsah sacharózy:	$600 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$
Celkový $\text{SO}_2$ :	$348,0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$
Voľný $\text{SO}_2$ :	$177,0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$

#### Modelový sacharózový roztok

Pri sledovaní teplotného optima a pH optima invertázy sa používal acetátový tlmivý roztok  $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  o pH 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 s koncentráciou sacharózy  $50 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ .

#### Stanovenie invertázovej aktivity

Invertázová aktivita sa určovala stanovením koncentrácie redukujúcich látok, vzniknutých hydrolýzou sacharózy (glukóza, fruktóza), ktoré za varu redukujú kyselinu 3,5-dinitrosalicilovú na kyselinu 3-nitro-5-aminosalicylovú s absorpčným maximom pri 540 nm. Analytická čiara na stanovenie redukujúcich sacharidov bola zhotovená pomocou roztokov D-glukózy. Invertázová aktivita sa stanovila v modelovom roztoku s hodnotou pH = 3,30 pri koncentrácii enzýmovej substance asi  $0,30 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ , pri teplote  $30^\circ\text{C}$  a pri počiatočnej koncentrácii sacharózy  $50 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ .

Použil sa nasledovný postup: na analytických váhach sa zistila presná hmotnosť suchej reakčnej nádoby, prikvapkala sa enzýmová substancia (2–3 kvapky) a z rozdielu hmotností sa určila čistá hmotnosť enzýmu. Do samostatnej kadičky sa navážilo 10 g sacharózy a doplnilo sa na objem 200 ml acetátovým tlmivým roztokom o koncentrácii  $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  s pH 3,30. Nádobka so sacharózou sa nechala temperovať vo vodnom kúpeli 20 min pri  $30^\circ\text{C}$ . Vytemperovaný roztok sacharózy sa preliat do nádoby s enzýmom, a zaznamenal sa čas (štart reakcie). Obsah sa dokonale premiešal a nádobka sa temperovala v termostate bez miešania pri žiadanej teplote. V 15 až 20 minútových intervaloch sa odoberala vzorka (asi  $100 \mu\text{l}$ ) a stanovila sa koncentrácia redukujúcich sacharidov pomocou kyseliny 3,5-dinitrosalicilovej [5].

**Výpočet kinetických konštánt ( $K_M$  a  $v_{\max}$ ) enzýmovej hydrolýzy sacharózy**

Pri kinetických výpočtoch sa predpokladalo, že hydrolýza sacharózy pomocou invertázy je reakciou neinhibovanou a jej priebeh sa dá opísať rýchlostnou rovnicou Michaelis-Mentenovej:

$$v = \frac{v_{\max} \cdot C_S}{K_M + C_S}$$

kde  $v$  je rýchlosť prírastku koncentrácie produktu ( $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )

$C_S$  — koncentrácia substrátu ( $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ )

$K_M$  — Michaelisova konštanta ( $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ )

Pri zisťovaní konštánt  $K_M$  a  $v_{\max}$  sa vybral postup priamočiary. V neprietočnom systéme sa experimentálne zistila závislosť prírastku koncentrácie produktu od času:  $C_p = f(t)$ .

Po integrovaní rovnice Michaelis-Mentenovej sa získal tvar:

$$t = \frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \ln \left( \frac{C_S(0)}{C_S} \right) + \frac{1}{v_{\max}} \cdot [C_S(0) - C_S]$$

Integrovaný tvar rovnice sa dá napísať nasledovne:

$$y = a_1 \cdot x_1 + a_2 \cdot x_2$$

$$\text{kde } y = t \quad a_1 = \frac{K_M}{v_{\max}} \quad x_1 = \ln \frac{C_S(0)}{C_S}$$

$$x_2 = C_S(0) - C_S \quad a_2 = \frac{1}{v_{\max}}$$

Po aplikovaní metódy najmenších štvorcov pri spracovaní experimentálnych dát sa získala sústava lineárnych rovníc, ktorej riešením sú koeficienty  $a_1$ ,  $a_2$ . Potom pre  $v_{\max}$  a  $K_M$  dostaneme:

$$v_{\max} = \frac{1}{a_2} \quad K_M = a_1 \cdot v_{\max}$$

**Výpočet aktivity enzýmu**

Enzýmová aktivita pri daných podmienkach sa určila pomocou počiatočnej rýchlosti enzýmovej reakcie, ktorá sa vypočítala numerickým derivovaním závislosti  $C_p = f(t)$  v čase  $t = 0$ . Na základe známych konštánt  $K_M$  a  $v_{\max}$  sa vypočítal čas ( $\Delta t$ ) potrebný na 1% konverziu substrátu. Pre počiatočnú rýchlosť potom platí:

$$v(0) = \frac{C_S(0)}{100 \cdot \Delta t}$$

A pre aktivitu enzýmu dostaneme:

$$A = \frac{v(0)}{C_E}$$

kde  $C_E$  je hmotnostná koncentrácia enzýmovej substancie ( $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ).

**Výpočet rýchlostnej konštanty chemickej hydrolýzy sacharózy.**

Za predpokladu, že chemická hydrolýza sacharózy je reakciou prvého poriadku, pre rýchlosť úbytku substrátu môžeme napísať:

$$-\frac{dC_S}{dt} = k \cdot C_S$$

Na základe experimentálnej závislosti  $C_p = f(t)$  pomocou metódy najmenších štvorcov sa vypočítala rýchlostná konštanta  $k$ .

**VÝSLEDKY A DISKUSIA**

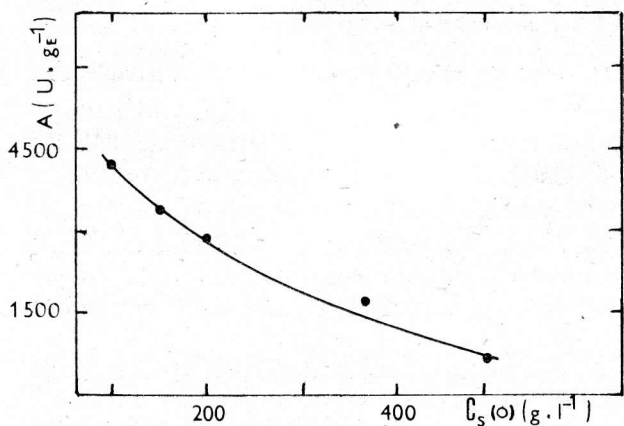
Závislosť aktivity invertázy od teploty a určenie kinetických konštánt  $K_M$  a  $v_{\max}$  Michaelis-Mentenovej rovnice sa zisťovala experimentami v modelovom roztoku. Reálny substrát (zahustený mušt) nie je žiadúce zohrievať na vyššie teploty z energetického a senzorického hľadiska, pretože nastáva možnosť vzniku varnej príchuť. Preto sa pre pokusy zvolil rozsah teplôt 10 až 50 °C. Výsledky pokusov sú zhrnuté v tab. 1. Z výsledkov vyplýva,

Tab. 1. Aktivita invertázy a jej využitie v závislosti od teploty. Podmienky experimentu: acetátový tlmiavý roztok 0,2 mol.l<sup>-1</sup> s pH = 3,3,  $C_S(0) = 50 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Stanovenie aktivity prebiehalo bez miešania reakčnej zmesi.

Teplota (°C)	Aktivita (U.g <sup>-1</sup> )	$K_M$ (mol.l <sup>-1</sup> )	$v_{\max}/10^{-5}$ (mol.l <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	Využitie aktivity (%)
12	1306	0,1218	2,22	14,6
20	1902	0,0382	3,36	21,3
30	4042	0,0729	2,99	45,2
40	5059	0,0838	3,46	56,6
50	8939	0,0366	8,59	100,0

že aktivita invertázy s vyššou teplotou v sledovanom teplotnom intervale stúpa.

Závislosť aktivity enzýmu od koncentrácie sacharózy sa sledovala v modelových roztokoch s rôznymi počiatočnými koncentraciami sacharózy  $C_S(0)$ : 100, 150, 200, 350, 500 g.l<sup>-1</sup>. Zistilo sa, že aktivita invertázy s narastajúcou koncentráciou sacharózy v uvedenom rozsahu koncentrácií klesá (obr. 1); je

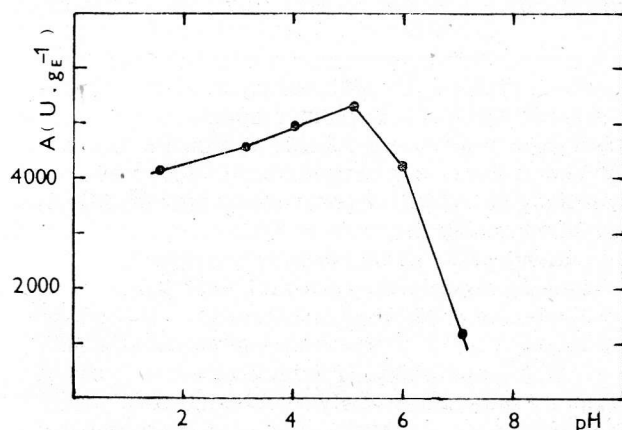


Obr. 1. Závislosť aktivity invertázy od počiatočnej koncentrácie sacharózy. Podmienky experimentu: acetátový tlmiavý roztok, 0,2 mol.l<sup>-1</sup>,  $t = 30^\circ\text{C}$ , pH = 3,3. Stanovenie aktivity prebiehalo bez miešania reakčnej zmesi.

to spôsobené pravdepodobne vyššou viskozitou roztoku, kedy transport produktu od molekuly enzýmu je značne spomalený. Z obr. 1 tiež vyplýva, že k saturácii enzýmu substrátom dôjde pri  $C_S(0) \leq 100 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ .

Všetky experimenty sa robili v nemiešaných systémoch. Pridaný enzýmový preparát v substráte sa iba jednorázovo zhomogenizoval. Simulovali sa tým najjednoduchšie podmienky výroby praxe, t. j. keď inverzia prebieha v nemiešaných a neohrievaných skladovacích nádobách.

Vplyv pH na aktivitu invertázy sa sledoval v rozmedzí hodnôt pH 2,5 až 7,0 (obr. 2). Z obr. 2 vy-



Obr. 2. Závislosť invertázovej aktivity od pH pri 30°C. Podmienky experimentu: acetátový tlmivý roztok, 0,2 mol.l<sup>-1</sup>, C<sub>S</sub>/O = 50 g.l<sup>-1</sup>. Stanovenie aktivity prebiehalo bez miešania reakčnej zmesi.

plýva, že najvyššia hodnota aktivity invertázy je pri pH 4,9. Ďalej možno usudzovať, že aktivita enzýmu v oblasti pH ≤ 5 sa výrazne nemení. Vyplýva to aj z tab. 2, v ktorej sú uvedené hodnoty aktivity

Tab. 2. Aktivita invertázy a jej využitie v závislosti od pH. Podmienky experimentu: t = 30°C, 0,2 mol.l<sup>-1</sup> acetátový tlmivý roztok C<sub>S</sub>/O = 50 g.l<sup>-1</sup>. Stanovenie aktivity prebiehalo bez miešania reakčnej zmesi.

pH	2,5	3,0	4,0	4,9	6,0	7,0
A (U · gE <sup>-1</sup> )	4165	4618	5009	5292	4103	1214
Využitie aktivity (%)	78,7	87,3	94,7	100,0	77,5	22,9

i účinnosti invertázy v závislosti od pH. V oblasti hodnôt pH muštov (2,5 až 3,5) je využitie aktivity asi 80 %.

Vplyv obsahu etanolu na aktivitu invertázy sa sledoval v modelovom roztoku s nasledovnými objemovými percentami etanolu: 5, 10, 15, 20 %. Aktivita invertázy v jednotlivých modelových rozto-

koch sa porovnávala s kontrolou, ktorá neobsahovala etanol. Výsledky experimentu sú uvedené v tab. 3

Tab. 3. Závislosť invertázovej aktivity od koncentrácie etanolu. Podmienky experimentu: t = 30°C, acetátový tlmivý roztok 0,2 mol.l<sup>-1</sup> s pH = 3,3, C<sub>S</sub>/O = 50 g.l<sup>-1</sup>. Stanovenie aktivity prebiehalo bez miešania reakčnej zmesi.

Etanol (obj. %)	0	5	10	15	20
Aktivita (U · gE <sup>-1</sup> )	4126	1293	862	436	411

a ukazujú, že etanol vplýva na invertázu inhibične. Napríklad pri 15 % obj. etanolu aktivita invertázy bola 9,5-krát nižšia ako vo vzorke bez prítomnosti etanolu.

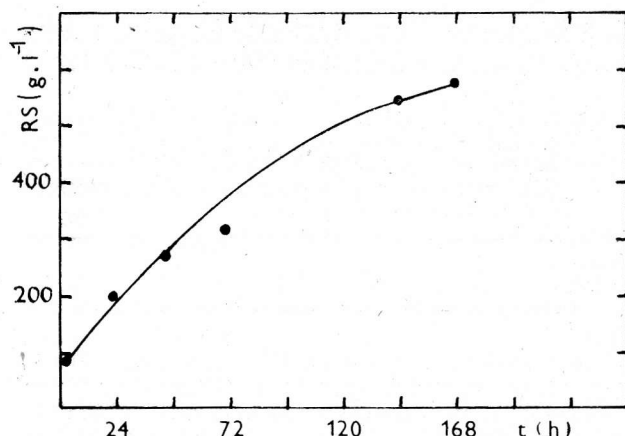
Po zistení základných fyzikálno-chemických a biochemických vlastností invertázy a vplyvu faktorov na jej aktivitu ďalšie experimenty sa zamerali na porovnanie enzýmovej inverzie a kyslej hydrolýzy sacharózy. Experimenty sa uskutočnili v reálnom roztoku, t. j. v zahustenom zasiatnom hroznovom mušte. Pripravili sa dve paralelné série pokusov, do ktorých sa zobral rovnaký objem muštu, avšak s rôznou koncentráciou titrovateľných kyselín. V prvej sérii experimentov hydrolýza sacharózy prebiehala pomocou invertázy, v druhej spontánne — chemicky. Prehľad obsahu titrovateľných kyselín je uvedený v tab. 4. Obsah kyselín sa upravoval kyselinou citrónovou.

Priebeh enzýmovej a kyslej hydrolýzy sacharózy v zahustenom mušte je znázornený na obr. 3 a 4. Ako vidieť z obr. 4 závislosť koncentrácie redukujúcich sacharidov od času je lineárna, a teda hydrolýzu možno považovať za reakciu 1. poriadku, ktorej rýchlosť môžeme charakterizovať rýchlostnou konštantou k. Na základe sledovania zmien koncentrácie redukujúcich sacharidov v jednotlivých pokusoch sa zistila aktivita enzýmovej, resp. rýchlostná konštanta kyslej hydrolýzy pri uvedených podmienkach. Výsledky sú zhrnuté v tab. 4. Ako vyplýva z tab. 4, aktivita enzýmu pri rôznych obsahoch kyselín v mušte sa výrazne nelíši. To možno vysvetliť tak (vyplýva to tiež z tab. 4), že napriek pridaniu rôznych množstiev kyseliny citrónovej do muštu nedošlo k výraznej zmene pH (max. pH = 3,24, min. pH = 2,64). Taká malá zmena pH nemôže výrazne ovplyvniť enzýmovú aktivitu. Skutočnosť, že úprava kyslosti muštu kyseli-

Tab. 4. Zloženie zahusteného muštu v jednotlivých pokusoch pri kyslej a enzýmovej hydrolýze sacharózy a namerané hodnoty rýchlostnej konštanty chemickej hydrolýzy resp. aktivity invertázy. Podmienky experimentu: t = 17°C, zahustený mušt bez miešania.

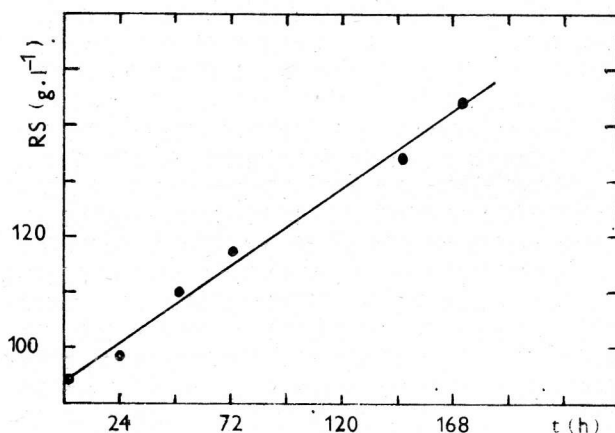
Číslo experimentu	1	2	3	4	5	6	7	8
KC (g.l <sup>-1</sup> )	3,5	7,5	11,5	15,5	3,5	7,5	11,5	15,5
C <sub>E</sub> (g.l <sup>-1</sup> )	1,424	1,168	1,240	1,252	—	—	—	—
k/10 <sup>-4</sup> (h <sup>-1</sup> )	—	—	—	—	3,5437	3,6457	3,6887	3,7559
A (U · gE <sup>-1</sup> )	210	216	148	208	—	—	—	—
pH	3,24	2,80	2,84	2,64	3,24	2,80	2,84	2,64





Obr. 3. Priebeh enzýmovej hydrolýzy sacharózy v zahustenom mušte. Podmienky experimentu:  $t = 17^\circ\text{C}$ ,  $KC = 3,5 \text{ g.l}^{-1}$ ,  $C_E = 1,424 \text{ g.l}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 3,24$ , bez miešania reakčnej zmesi.

nou citrónovou nevyvoláva podstatné zmeny pH, sa môže vysvetliť tlmivou schopnosťou muštu. Pri sledovaní kyslej hydrolýzy sacharózy sa zistilo (tab. 4), že rýchlosť hydrolýzy charakterizovaná rýchlostnou konštantou  $k$  rastie so zvyšujúcou sa koncentráciou kyselín, teda s klesajúcou hodnotou pH.



Obr. 4. Priebeh kyslej hydrolýzy sacharózy v zahustenom mušte. Podmienky experimentu:  $t = 17^\circ\text{C}$ ,  $KC = 3,5 \text{ g.l}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 3,24$ , bez miešania reakčnej zmesi.

Aby sa dala porovnať účinnosť kyslej a enzýmovej hydrolýzy sacharózy, porovnal sa čas potrebný na dosiahnutie 50% konverzie substrátu pomocou enzýmu (s konc.  $C_E = 1 \text{ g.l}^{-1}$ ) a pomocou chemickej hydrolýzy pri uvedených obsahoch kyselín. V tab. 5 sú uvedené údaje, ktoré nás informujú o tom, koľkokrát bol čas na dosiahnutie 50% konverzie substrátu účinkom enzýmu kratší.

Tab. 5. Porovnanie rýchlosti kyslej a enzýmovej hydrolýzy sacharózy v zahustenom mušte pri rôznych obsahoch KC pri teplote  $17^\circ\text{C}$ .

KC ( $\text{g.l}^{-1}$ )	3,5	7,5	11,5	15,5
$t_{1/2}$ (h)	194,40	190,23	187,92	184,64
$t'_{1/2}$ (h)	78,10	85,40	97,50	88,20
X	2,49	2,23	1,93	2,10

Z tab. 5 vyplýva, že rýchlosť hydrolýzy sacharózy v prípade aplikácie enzýmu v spomínanej koncentrácii bola v priemere 2,2krát vyššia. Pri aplikácii enzýmu v konc.  $5 \text{ g.l}^{-1}$ , resp.  $10 \text{ g.l}^{-1}$  rýchlosť hydrolýzy sa zvyšuje v porovnaní s kyslou hydrolýzou 10, resp. 22krát.

V ďalšej práci sa sledoval vplyv teploty a obsahu kyselín na priebeh samotnej kyslej hydrolýzy. Ako vidieť z tab. 4, značné rozdiely v obsahu kyselín pri teplote  $17^\circ\text{C}$  vyvolávajú len nepatrný rozdiel v rýchlosti hydrolýzy. Predpokladalo sa, že pri vyšších teplotách rozdiely rýchlosti hydrolýzy pri rôznych obsahoch kyselín budú vyššie, preto sa uskutočnila séria pokusov s reálnym substrátom a obsahom titrovateľných kyselín  $3,5$  a  $15,5 \text{ g.l}^{-1}$ . Paralelne sa sledoval priebeh hydrolýzy pri teplotách  $17, 30, 45, 60^\circ\text{C}$ . Jednotlivé rýchlosti hydrolýzy sa charakterizovali rýchlostnou konštantou  $k$ . Aby sa mohli porovnať rýchlosti hydrolýzy v závislosti od obsahu kyselín pri uvedených teplotách, vypočítal sa pomer  $k_2/k_1$ , kde  $k_1$  je rýchlostná konštantá hydrolýzy pri obsahu kyselín  $3,5 \text{ g.l}^{-1}$  a  $k_2$  je rýchlostná konštantá hydrolýzy pri obsahu kyselín  $15,5 \text{ g.l}^{-1}$ . Výsledky experimentu sú zhrnuté v tab. 6. Ako vidieť z tab. 6, pri  $17^\circ\text{C}$  pomer  $k_2/k_1$

Tab. 6. Porovnanie rýchlosti kyslej hydrolýzy sacharózy v závislosti od koncentrácie (KC) a od teploty v zahustenom mušte.

Teplota ( $^\circ\text{C}$ )	$k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$k_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$k_2/k_1$
17	$6,073 \cdot 10^{-5}$	$6,257 \cdot 10^{-5}$	1,0302
30	0,0665	0,0756	1,1375
45	0,1446	0,1876	1,2974
60	0,2165	0,6163	2,8467

( $K_1 = 3,5 \text{ g.l}^{-1} \text{ KC}$ )

sa rovná 1,0302, to znamená, že  $k_1 \approx k_2$ . Z toho vyplýva, že zvýšený obsah kyselín pri spomínanej teplote nemal vplyv na rýchlosť hydrolýzy. Ako ďalej vyplýva z tab. 6, so zvyšujúcou sa teplotou pomer oboch rýchlostných konštánt sa zväčšuje, čiže rôzne obsahy kyselín ovplyvňujú rýchlosť chemickej hydrolýzy len pri vyšších teplotách.

Fakulta potravinářské a biochemické technologie VŠCHT Praha,  
Technická 5, Praha 6

pořádá každé první úterý v měsíci semináře  
v posluchárně B II od 15 hodin.  
Délka semináře asi 60 minut.

**Dne 4. 12. 1990 přednese doc. Ing. Jana Hajšlová, CSc.**  
přednášku na téma Problematika kontroly hygienicko-toxikologické jakosti potravin

## ZÁVER

Z výsledkov práce vyplynulo, že technický preparát invertázy je vhodný na inverziu sacharózy v zahustených muštach v širokom rozsahu koncentrácií sacharózy. Na účinnosť inverzie pozitívne vplyva teplota. Obsah kyselín má vplyv na rýchlosť kyslej hydrolýzy sacharózy najmä pri vyšších teplotách, v prípade použitia invertázy nie je významný.

Z technologického hľadiska sa pri výrobe nápojov, resp. surovín na ich výrobu, javí aplikácia invertázy ako vhodná. Zabezpečuje úplnú inverziu sacharózy v oveľa kratšom čase v porovnaní so spontánnou kyslou hydrolýzou, najmä v podmienkach skladovania zahustených muštov, t. j. pri pomerne nízkych teplotách. Z ekonomického hľadiska táto jej vlastnosť vystupuje do popredia predovšetkým v prípade inverzie čistých sacharózových roztokov pri výrobe glukózo-fruktózových sirupov, ktoré neobsahujú komponenty (najmä organické kyseliny), zabezpečujúce spontánne štiepenie sacharózy. Prídavok potrebného množstva enzýmového preparátu neovplyvňuje negatívne na senzorické vlastnosti substrátu, ani na jeho neskoršiu stabilitu v hotovom nápoji, ako napr. v prípade využitia invertázovej aktivity buniek *S. cerevisiae*. Výsledky pokusov ako aj senzorické hodnotenie kvality získaných produktov ukazujú, že technický preparát invertázy, získaný v procese komplexnej frakcionácie kvasničnej biomasy bude možné po stanovení reálnej ceny výhodne využiť v nápojovom priemysle na prípravu základnej suroviny na výrobu nápojov.

## Zoznam symbolov

A	— aktivita invertázy
$K_M$	— Michaelisova konštanta
$v_{max}$	— maximálna rýchlosť enzýmovej reakcie
KC	— kyselina citrónová [ $g \cdot l^{-1}$ ]
$C_E$	— koncentrácia enzýmovej substancie [ $g \cdot l^{-1}$ ]
k	— rýchlostná konštanta chemickej hydrolýzy sacharózy
$t_{1/2}$	— čas (h), ktorý je potrebný na dosiahnutie 50 % nej konverzie sacharózy pri kyslej hydrolýze
$t'_{1/2}$	— čas (h), ktorý je potrebný na dosiahnutie 50 % nej konverzie sacharózy pri enzýmovej hydrolýze
X	— pomer $t_{1/2}/t'_{1/2}$
$k_1$	— rýchlostná konštanta kyslej hydrolýzy pri koncentrácii KC 3,5 $g \cdot l^{-1}$
$k_2$	— rýchlostná konštanta kyslej hydrolýzy pri koncentrácii KC 15,5 $g \cdot l^{-1}$
$C_{s/0}$	— počiatočná koncentrácia substrátu (v čase 0)
$C_P$	— koncentrácia produktu
$g_E$	— hmotnosť enzýmovej substancie (g)
U	— jednotka enzýmovej aktivity

## Literatura

- [1] Pat. ČSFR AO 259 288
- [2] ŠTURDÍK, E. et al.: Kvas. prům., **34**, 1988, s. 241
- [3] ŠTURDÍK, E. et al.: Kvas. prům., **35**, 1989, s. 74
- [4] KOLLÁR, R. et al.: Kvas. prům., **36**, 1990, s. 304
- [5] DE MOT, R., ANDRIES, K., VERCHTERT, H.: Syst. Appl. Microbiol., **5**, 1984, s. 106

Lektorovala Prof. Ing. G. Basařová, DrSc.

Kováč, J. - Mikony, R.: Možnosti využitia technického preparátu invertázy v nápojovom priemysle. Kvas. prům., **36**, 1990, č. 10—11, s. 309—313.

Technický preparát invertázy, získaný procesom indukovanej autolýzy z biomasy *Saccharomyces cerevisiae* (pekárského droždia) a purifikovaný bežnými postupmi, sa použil na enzýmovú inverziu sacharózy. Rýchlosť inverzie v zahustenom hroznovom mušte sa porovnala s rýchlosťou kyslej hydrolýzy.

Z výsledkov vyplýva, že technický preparát invertázy je vhodný na inverziu sacharózy v zahustených muštach v širokom rozsahu koncentrácií sacharózy. Na účinnosť enzýmu pozitívne vplyva teplota. Obsah kyselín má vplyv na rýchlosť kyslej hydrolýzy sacharózy najmä pri vyšších teplotách, pri enzýmovej hydrolýze nie je významný.

Ковач, И. - Миконы, Р.: Возможности использования технического препарата инвертазы в промышленности напитков. Квас. прум., **36**, 1990, № 10—11, стр. 309—313.

Технический препарат инвертазы, полученный процессом автолиза из биомассы *Saccharomyces cerevisiae* (хлебопекарных дрожжей) и очищенный обычным способом, был применен для энзимного превращения сахарозы. Скорость инверсии в сгущенном виноградном соке сопоставлялась со скоростью кислого гидролиза.

Из результатов вытекает, что технический препарат инвертазы подходит для инверсии сахарозы в сгущенных соках в широком диапазоне концентраций сахарозы. На действие энзима благоприятное влияние оказывает температура. Содержание кислот влияет на скорость кислого гидролиза особенно при высших температурах, при энзимном гидролизе оно незначительное.

Kováč, J. - Mikony, R.: Application of Crude Invertase Prepare in Beverage Industry. Kvas. prům., **36**, 1990, No. 10—11, pp. 309—313.

A crude invertase prepare was used for the enzyme conversion of saccharose. The enzyme prepare was obtained from the biomass of *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast) in the process of induced autolysis. Further the enzyme was purified using usual procedures. The rate of inversion in a concentrated grape cider was compared with the rate of acid hydrolysis. The results showed that the invertase prepare is applicable for the saccharose inversion in concentrated ciders in a large range of the saccharose concentrations. A positive effect of the temperature on the enzyme efficiency has been observed. The content of acids affects the rate of acid hydrolysis especially at higher temperatures. For the enzyme hydrolysis their effect can be neglected.

Kováč, J. - Mikony, R.: Möglichkeiten der Anwendung des technischen Invertase-Präparats in der Getränkeindustrie. Kvas. prům., **36**, 1990, Nr. 10—11, S. 309—313.

Das technische Invertase-Präparat, das in dem Prozeß der induzierten Autolyse aus der Biomasse *Saccharomyces cerevisiae* (Backhefe) gewonnen und mittels üblicher Verfahren purifiziert wurde, wurde zur Enzyminversion der Saccharose angewandt. Die Geschwindigkeit der Inversion in konzentriertem Traubenmost wurde mit der Geschwindigkeit der sauren Hydrolyse verglichen.

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß das technische Invertase-Präparat für die Saccharose-Inversion in konzentrierten Mosten in einem breiten Bereich der Saccharose-Konzentrationen geeignet ist. Die Wirksamkeit des Enzyms wird positiv durch die Temperatur beeinflusst. Der Säuregehalt beeinflusst die Geschwindigkeit der sauren Hydrolyse hauptsächlich bei höheren Temperaturen. Bei der Enzymhydrolyse ist der Säuregehalt unbedeutend.