

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА ФРУКТАВАМОРИН Г10Х

Ферментные препараты, обладающие β -фруктофуранозидазной активностью, широко применяются в различных отраслях пищевой промышленности [1, 3, 5]. Однако имеющиеся в литературе сведения в основном относятся к дрожжевой β -фруктофуранозидазе [1, 3, 5–7].

Целью настоящего исследования являлось изучение некоторых физико-химических свойств β -фруктофуранозидазы ферментного препарата, полученного из глубиной культуры плесневого гриба *Asp. awamori* – 16 осаждением этиловым спиртом [2].

Активность β -фруктофуранозидазы определялась по расщеплению 10%-ного раствора сахарозы в единицу времени при определенных стандартных условиях (30 °С, 30 мин, pH = 4,6). Редуцирующие сахара определялись по методу Бертрана [4]. Результаты исследований выражались в единицах активности на 1 г препарата и в процентах по отношению к контролю. Активность препарата составляла 4000–7000 ед. на 1 г препарата, что в 3–6 раз выше, чем активность препарата, полученного из избыточных пивных дрожжей [1, 5]. Установлено, что в состав ферментного комплекса препарата фруктаваморин Г10Х входят также α -галактозидаза и фосфатаза [2].

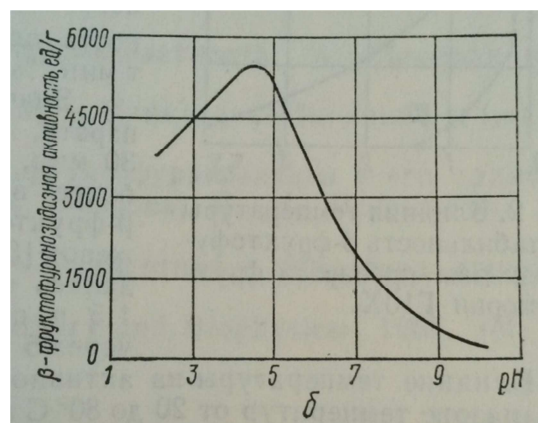
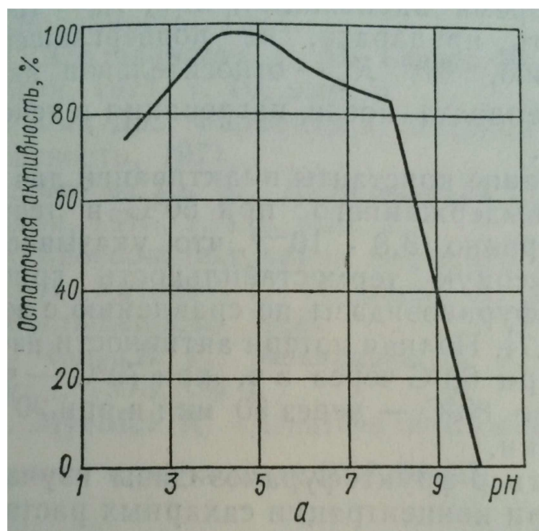


Рис. 1. Влияния pH на стабильность (а) и активность (б) β -фруктофуранозидазы препарата фруктаваморин Г10Х.

Изучение влияния активной кислотности на стабильность препарата фруктаваморин Г10Х проводилось при температуре 18–20 °С в интервале pH 2–9 и выдержке в течение 24 ч. Требуемая величина pH устанавливалась с помощью буферной смеси, состоящей из фосфорной, уксусной и борной кислот, 0,04 М в отношении каждой из них с соответствующим количеством 0,2 н. раствора едкого натра. Активность

препарата, растворенного в воде и имеющего рН 6,5, служила контрольной, по отношению к которой затем вычислялась остаточная активность в процентах. Как видно из рис. 1, а препарат практически стабилен в интервале рН 4—5. При уменьшении рН до 3 или увеличении до 7 активность снижается на 13%. Следует отметить стойкость препарата в кислой среде. Даже при рН 2 его активность сохраняется на 75%. В щелочной среде активность препарата резко падает и при рН 10 происходит полная инактивация фермента.

Исследование влияния различных концентраций водородных ионов на активность β-фруктофуранозидазы проводилось при температуре 30 °С и рН 2—10. Максимальная активность препарата наблюдалась при рН 4—4,5 (рис. 1, б), как и у дрожжевой β-фруктофуранозидазы [3, 5].

Термостабильность определялась нагреванием водного раствора препарата в интервале температур от 30 до 90 °С в течение 0,25; 0,5; 1; 2; 4 и 24 ч. После заданной экспозиции в условиях каждой из температур пробирки с раствором фермента охлаждались на ледяной бане, после чего определялась активность β-фруктофуранозидазы. Остаточная активность выражалась в процентах по отношению к активности раствора, не подвергавшегося нагреванию. Представленные на рис. 2 данные показывают, что препарат довольно термостабильный: выдерживание в течение 24 ч при температурах 30, 40 и 50 °С не сказывалось на активности β-фруктофуранозидазы. Препарат заметно инактивировался при температуре 60 °С и выше. При 60 °С потеря активности в течение первых 15 мин составила 15%, а за 30 мин – 23%, через 60 мин активность препарата уменьшилась в два раза. Определив активность препарата после нагревания, можно рассчитать константу инактивации по следующей формуле [7]:

$$-K_{\text{ин}} = \frac{1}{\tau} \log \frac{K_0}{K_{\tau}},$$

где τ – время экспозиции, мин; $K_0 = 100$ – активность препарата, не подвергавшегося нагреванию, %; K_{τ} – относительная активность препарата после нагревания в течение τ мин, %.

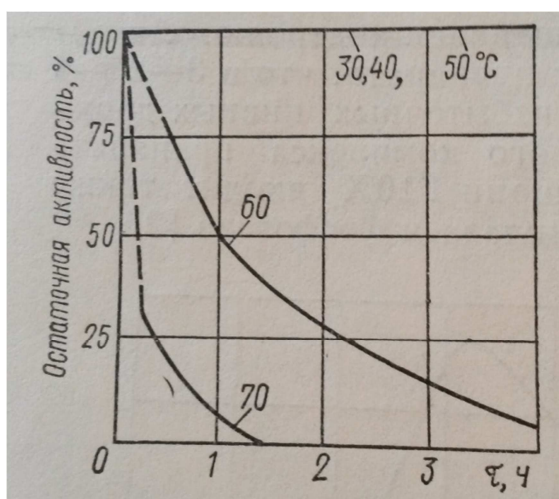


Рис. 2. Влияния температуры на стабильность β-фруктофуранозидазы препарата фруктаваморин Г10Х.

Значение константы инактивации для препарата, выдержанного при 60 °С в течение 30 мин, равно $3,8 \cdot 10^{-3}$, что указывает на более высокую термостабильность грибной β-фруктофуранозидазы по сравнению с дрожжевой [3, 7]. Полная потеря активности наблюдалась при 60 °С через 5 ч, при 70 °С – через 1,5 ч, при 80 °С – через 30 мин и при 90 °С – через 5 мин.

Влияние температуры на активность β -фруктофуранозидазы изучалось в диапазоне температур от 20 до 80 °С при концентрации сахарных растворов 5, 10, 15, 20 и 40%. Результаты исследований приведены в таблице, из которой видно, что концентрация сахарного раствора существенно влияет на определение оптимальной температуры для действия фермента. Так, максимальная активность β –фруктофуранозидазы для сахарных растворов концентраций 5 и 10% отмечалась при 50 °С, для 15 и 20%-ных растворов – при 55 °С, а для 40% - при 65 °С, т. е. повышение концентрации раствора смещает температурный оптимум в сторону более высоких температур. Это объясняется защитным действием субстрата и продуктов реакции тепловой инактивации молекулы β -фруктофуранозидазы [3, 5, 6].

Температура, °С	Активность β -фруктофуранозидазы препарата фруктаваморин Г10Х, ед./г, при концентрации сахарных растворов, %				
	5	10	15	20	40
20	3640,8	3743,1	3784,4	3816,0	3957,1
30	4234,4	4907,0	5126,0	5688,0	5282,0
40	6468,0	7947,0	8040,0	7982,0	8086,0
45	8817,4	9153,0	9385,0	10241,2	10816,4
50	9916,0	10728,0	10971,0	11008,1	11247,2
55	7934,6	9083,0	11271,0	11417,0	12006,1
60	6726,0	8407,0	9905,0	10704,0	12894,0
65	4638,4	6821,1	7089,1	8418,3	13012,0
70	2748,0	5271,0	5410,0	5822,0	12558,0
80	1492,2	1702,0	1934,0	2082,0	3443,0

Таким образом, β -фруктофуранозидаза препарата фруктаваморин Г10Х стабильна в интервале pH 4-5 при температурах 30, 40, и 50 °С. Ее оптимальное действие проявляется при pH 4—4,5и 50 °С для 5 и 10%-ных растворов сахарозы, 55 °С – для 15 и 20%-ных растворов и 65 °С – для 40%-ного раствора. Изученные свойства препарата фруктаваморин Г10Х показывают возможность его применения в различных отраслях пищевой промышленности наряду с препаратами, полученными из остаточных пивных дрожжей.

Список литературы

1. Грачева И. М. Технология ферментных препаратов. М., Пищевая промышленность, 1974.
2. Добролинская Г. М., Серова Ю. З. – Прикладная биохимия и микробиология, 1974, т. 10, вып. 5.

3. **Рид Дж.** Ферменты в пищевой промышленности. М., Пищевая промышленность, 1971.
4. **Серова Ю. З., Добролинская Г. М.** – Прикладная биохимия и микробиология, 1975, т. 11., вып. 2.
5. **Способы** получения фермента β -фруктофуранозидазы и его применение/ А. А. Катаева, Н. И. Баер, А. И. Омарова, Л. Н. Мендельсон. М., ЦИНТИпищепром, 1966.
6. **Чичуа В. Г., Микаладзе Г. Г.** – Ферментная и спиртовая промышленность, 1973, № 6.
7. **Myzback K.** «Archives of Biochemistry and Biophysics», 1957, vol. 69.

Поступила в редколлегию 02.04.76.