

ВИДІЛЕННЯ ПРЕПАРАТУ β -ФРУКТОФУРАНОЗИДАЗИ З БІОМАСИ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Л.Д. Бобрівник, О.М. Мірошников, І.І. Майко, Н.Я. Малінова
Український державний університет харчових технологій

Залишаються актуальними питання розробки більш вдосконаленої технології, нових, ефективних продуцентів β -фруктофуранозидози.

До препаратів, що використовуються в кондитерській та безалкогольній галузях харчової промисловості для одержання інвертних сиропів, належить β -фруктофуранозидаза. Основним джерелом промислового одержання β -фруктофуранозидози є мікроорганізми. Проте, існуючі технологічні розробки та продуценти не вирішують проблему одержання високоактивної β -фруктофуранозидози.

На сьогодні в Україні не існує виробництва інвертази. Ми пропонуємо технологічну схему одержання ферментного препарату, основними стадіями якої є: обробка суспензії дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* механічного виробництва в балістичному дезінтеграторі ФУГ-1М, осадження фермента з супернатанта дезінтеграта, криогенне висушування фермента. Препарат, одержаний за наведеною схемою, являє собою комплексний ферментний препарат, що містить не лише інвертазу, а й амілолітичний та протеолітичний комплекси.

Скориставшись методом балістичної дезінтеграції біомаси, ми встановили режими руйнування дріжджових клітин, при яких можливе значне вилучення інвертази (до 50%) за мінімальну кратність процесу дезінтеграції (1-2 цикли). Необхідно відмітити, що β -фруктофуранозидаза дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* локалізується у периплазматичній зоні і належить до позаклітинних білків. Для вилучення фермента достатнім є руйнування клітинної стінки мікроорганізма. Експериментально визначено, що при обраних концентраціях дріжджової суспензії (500 г/л та 660 г/л) 60-65% інвертази виходить у дезінтеграт при ступіню дезінтеграції (СД), що складає 50-55%.

Макимальне вилучення інвертази за вибраних нами умов спостерігали при таких значеннях параметрів: частоті обертання ротора $\omega = 2000 \text{ хв}^{-1}$, швидкості потоку 1 л/хв, насипному об'ємі мелючих тіл 125 мл. При одноразовій обробці дріжджової суспензії з концентрацією 16,5% СР інвертазна активність у супернатанті дезінтеграта становила 80 од./мл, а при двократній - до 143 од./мл (СД при цьому складав 42%).

Ми дослідили загальну картину дезінтеграції за ступенем руйнування клітин, а саме, співвідношення між цілими клітинами, протопластами та повністю зруйнованими клітинами у дезінтегратах дріжджових суспензій з концентраціями 500 г/л і 660 г/л при насипному об'ємі мелючих тіл 150 мл після 3-9 циклів дезінтеграції. Аналіз діаграм розподілу дозволив виявити, що незалежно від концентрації дріжджової суспензії, кількість повністю зруйнованих клітин досягала 40% вже після 4-х циклів обробки суспензії з концентрацією 500 г/л та 5-ти циклів обробки суспензії з концентрацією 660 г/л і залишалася незмінною на протязі наступних циклів дезінтеграції. Тобто, зменшення кількості цілих клітин, отже, збільшення СД відбувалося за рахунок збільшення кількості протопластів.

Осадження інвертази з супернатанту дезінтеграта здійснювали висолюванням сульфатом амонію або осадженням етиловим спиртом. Висолювання сульфатом амонію проводили при насиченнях ферментного розчину сіллю від 0,6 до 1,0. Метод не дав очікуваних результатів через неефективне осадження фермента. Вивчали вплив різних концентрацій етилового спирту в суміші на осадження β -фруктофуранозидози. Найбільший вихід препарату, за масою і за активністю ферменту, спостерігали при використанні 4 об'ємів етилового спирту. Вихід за активністю ферменту становив 90-94%.