



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

241 624

(11)

{B1}

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 13 12 83
(21) PV 9361-83

(51) Int. Cl.⁴

C 12 P 19/02

(40) Zveřejněno 22 08 85
(45) Vydáno 01 01 88

(75)
Autor vynálezu

MÁCHA JAROSLAV RNDr., PRAHA;
KRUPÍČKA PAVEL ing., DOL;
FURMAN JAROSLAV ing., ČERNOŠICE

(54)

Způsob enzymatické hydrolýzy sacharózy

Způsob výroby invertovaných cukerných sirupů hydrolýzou roztoků sacharózy, spočívá ve štěpení roztoku sacharózy působením zbytků kvasinek, které vznikají zahřátím kvasinek v roztoku sacharózy nebo fruktózy v koncentraci 10 až 80 hmotnostních % na teplotu 45 až 85 °C. Kvasinky mohou být zahřáty přímo v roztoku sacharózy, určeném k inverzi. Postup je velice jednoduchý a levný. Při výrobě odpadají potíže s plazmolytickými činidly, reakce je rychlá, podmínky mohou být zvoleny tak, že dochází k obohacení sirupu vitaminy. Získané sirupy jsou vhodné k použití v potravinářství a včelařství.

Vynález řeší způsob výroby invertovaných cukerných sirupů hydrolýzou roztoků sacharózy.

Hydrolýzu sacharózy je možno katalyzovat buď kyselinami, nebo enzymy. Při kyselé hydrolýze dochází ke vzniku hydroxymethylfuralu a dalších toxických produktů, které jsou nevhodné, zvláště pro použití ve včelařství a farmaceutice. Příprava invertu z cukrovarnických meziproduktů jako surový nebo afinovaný cukr kyselou hydrolýzou poskytuje produkt nižší kvality díky komplikovaným reakcím nečistot v kyselém prostředí za vysoké teploty. Také organoleptické vlastnosti výrobků jsou zhoršeny vlivem solí vzniklých neutralizací kyseliny použité k hydrolýze. Enzymatická hydrolýza sacharózy nemá uvedené nevýhody. Nejčastěji používaná invertáza / beta-D-fruktofuranozidáza / z kvasinek je vázaná mezi buněčnou stěnou a cytoplazmatickou membránou kvasinek. Pro přípravu enzymatických preparátů je invertáza obvykle uvolněna autolýzou v přítomnosti plazmolytických činidel a dále purifikována. Nevýhodou dosavadních postupů jsou vysoké náklady na purifikaci a případné obtíže s odstraněním plazmolytického činidla.

Předmětem vynálezu je způsob enzymatické hydrolýzy sacharózy, který spočívá v tom, že roztok sacharózy se štěpí

invertázou, vázanou na zbytky kvasinek, které vznikají z kvasinek působením teploty 45 až 85°C v roztoku sacharózy nebo fruktózy o koncentraci 10 až 80 hmotnostních %. Kvasinky jsou usmrceny a plazmolizovány, zvýšená teplota inaktivuje většinu jiných enzymů, zvláště proteáz, které by invertázu postupně degradovaly a uvolňovaly ji z vazby na zbytky buněk. Záhřev kvasinek je nutno provádět v přítomnosti substrátu. Při 75°C došlo po 15 min. k úplné inaktivaci invertázy u kvasinek suspendovaných ve vodě, k částečné inaktivaci u kvasinek suspendovaných v 10% roztoku sacharózy, ale kvasinky rozmíchané se stejnou váhou sacharózy měly po záhřevu vyšší enzymatickou aktivitu než autolyzát připravený dietyéterem. Bylo zjištěno, že vázaná invertáza je teplotně stabilnější. K částečné inaktivaci enzymu dochází v přítomnosti sacharózy až při 85°C, zatímco volná invertáza získaná autolýzou je za stejných podmínek částečně inaktivována již při 60°C.

Větší stabilita enzymu umožňuje použít vyšší teplotu při inverzi, a tím dochází ke zvýšení rychlosti reakce. Použití invertázy vázané na zbytky buněk zamezí ztrátám enzymu při autolýze a případné purifikaci. Postup je velmi jednoduchý a levný. Ve většině aplikací je možno provést usmrcení kvasinek a inaktivaci nežádoucích enzymů přímo zahřátím kvasinek v roztoku sacharózy určeném k inverzi. Buněčný obsah obohatí produkt biologicky aktivními látkami, především vitaminy skupiny B a malá změna organoleptických vlastností produktu obvykle nevedí. Enzymatickou reakce je možno ukončit

záhřevem na teplotu vyšší než 85°C nebo odfiltrováním zbytků kvasinek. Filtraci je vhodné zařadit při výrobě potravinářských invertů, pro využití ve včelařství není filtrace nutná.

Příklad 1

2 g pekařského droždí a 2 g afinovaného cukru byly promíchány ve zkumavce a na 15 min. umístěny na vodní lázeň o teplotě 75°C . Suspenze zbytků kvasinek byla vypláchnuta 25 ml vody do zábrusové baňky, k roztoku bylo přidáno 75 g afinovaného cukru, pH bylo nastaveno kyselinou octovou na 5,0 a roztok byl míchán 3 hod. při 70°C . Pak byl sirup odsát na Büchnerově nálevce přes vrstvičku křemeliny. Žlutý sirup obsahoval 77 % sušiny, inverze proběhla na 76 %.

Příklad 2

13,5 kg rafinovaného cukru bylo rozpuštěno v 8,5 l vody a pH bylo nastaveno kyselinou citronovou na 5,0. 200 g pekařského droždí bylo rozetřeno s 200 g cukru, pH nastaveno na 5,0 a přidáno k cukernému roztoku. Teplota byla udržována na 70°C za míchání 3 hod. Pak byl roztok vyhřát na 95°C , po 15 min. bylo přidáno 6,5 kg rafinovaného cukru a mícháno do rozpuštění. Získaný sirup obsahoval 75 % hmotnostních sušiny, inverze proběhla na 53 %. Včely krmené tímto vitaminy obohaceným invertem měly průměrnou délku života delší o 30 % než včely, krmené roztokem cukru.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

241 824

Způsob enzymatické hydrolýzy sacharózy vyznačující se tím, že roztok sacharózy se štěpí invertázou, vázanou na zbytky kvasinek, které vznikají z kvasinek působením teploty 45^o~~o~~ 85^o C v roztoku sacharózy nebo fruktózy o koncentraci 10^o~~o~~ 80 hmotnostních %.