

## Enzymová hydrolýza cukrovarníckych repných rezkov

ELENA PANGHYOVÁ - STANISLAV ŠILHÁR - BRIGITA GLONČÁKOVÁ

**SÚHRN.** Cieľom predkladanej práce bolo získanie kvalitnej potravinárskej vlákniny z repných rezkov využitím celulolytických enzýmov. Aplikáciou celulolytického enzýmu EC 3.2.1.4. na vysladené repné cukrovarnícke rezky sa získala vláknina bez repného zápachu s vlastnosťami porovnateľnými s produktami vyrábanými fyzikálno-chemickými postupmi. Enzymová hydrolýza zvýšila väznosť vody produktu približne o 13 % a najúčinnejšie prebiehala v rozmrazených repných rezkoch.

**KLÚČOVÉ SLOVÁ:** vláknina; cukrová repa; celulolytické enzýmy

Vysladené repné rezky sú jedným zo zdrojov pre veľkotonážnu výrobu vlákniny. Z hľadiska obsahu vlákniny štruktúru repných rezkov tvoria nerozpustná vláknina, celulóza 22–24 %, hemicelulóza 26–32 %, lignín 1–2 %, rozpustnú časť vlákniny predstavujú pektíny [1]. Vo všeobecnosti možno povedať, že ide o vlákninu tzv. „cellan type“ [2], ktorá má vysokú väznosť vody, čo umožňuje napríklad predĺžiť trvanlivosť pekárskych výrobkov. V rôznych klinických štúdiách [3, 4] sa popisuje schopnosť repnej vlákniny zvyšovať objem obsahu hrubého čreva, čím sa predchádza vzniku rektálneho karcinómu, znižovať obsah krvnej glukózy a množstvo cholesterolu v krvi. V zahraničí sa vláknina tohto typu vyrába a na trh sa uvádza pod komerčnými názvami Fibrex, Sinecal a Beta Fibre [5, 6]. Vláknina v prípade použitia ako aditívum do potravín musí spĺňať požiadavky na neutrálnu chuť a vôňu, v prípade repnej vlákniny však je problematické odstránenie práve typickej repnej arómy a chuti. Grethlein a Borries problém riešili použitím rôznych chemických a fyzikálnych spôsobov, ktoré sú predmetom patentovej ochrany [7, 8]. Na Slovensku sa tento potenciálny zdroj vlákniny využíva len na kŕmne účely, resp. v cukrovare Rimavská Sobota, ktorý vlastní rakúska firma Agrana, sušia časť rezkov na export. Hutňan a kol. [9] popisujú použitie rezkov na anaeróbnu fermentáciu za účelom výroby bioplynu.

---

Ing. Elena PANGHYOVÁ, Doc. Ing. Stanislav ŠILHÁR, CSc, Ing. Brigita GLONČÁKOVÁ, Výskumný ústav potravinársky, pracovisko Biocentrum Modra, Kostolná 7, 90001 Modra.  
Korešpondujúci autor: Ing. Elena PANGHYOVÁ, e-mail: vup-bc.modra@ba.telecom.sk

## **Materiál a metódy**

### *Enzým EC 3.2.1.4.*

Enzým EC 3.2.1.4. vyrába firma Novo Nordisk A/S. Optimálne podmienky pre hydrolýzu týmto enzýmom sú pH 4,8 a teplota 50 °C v dávke 0,2 ml na 100 g substrátu.

### *Repné rezky*

Na enzýmovú hydrolýzu sme použili vysladené rezky z repnej kampane 2000 z cukrovaru Trnava so sušinou 22 %, s obsahom hrubej vlákniny 22,1 % a popola 2,53 %. Na ďalšie pokusy boli rezky upravené sušením pri teplote 50 °C na sušinu 92 % a pomalým mrazením na teplotu -20 °C.

### *Pracovný postup*

100 g rozmixovaných repných rezkov sme zaliali 300 ml vody a pH reakčného prostredia sme upravili kyselinou citrónovou na 4,8. Enzým sme pridávali v množstve 0,2 ml, 1 ml a 2 ml na 100 g rezkov. Enzýmová hydrolýza trvala 1 h pri 50 °C za občasného premiešavania. Sledovali sme nárast množstva glukózy a pokles obsahu hrubej vlákniny na konci pokusu. Identické podmienky sme použili pri hydrolýze čerstvých, mrazených i sušených repných rezkov, ale v prípade sušených rezkov sme zvýšili množstvo pridanej vody na 600 ml na 100 g sušeného substrátu.

### *Použité metódy*

Redukujúce sacharidy sme izolovali extrakciou do alkoholu [10] a následne sme ich stanovili reakciou s kyselinou dinitrosalicylovou spektrofotometricky.

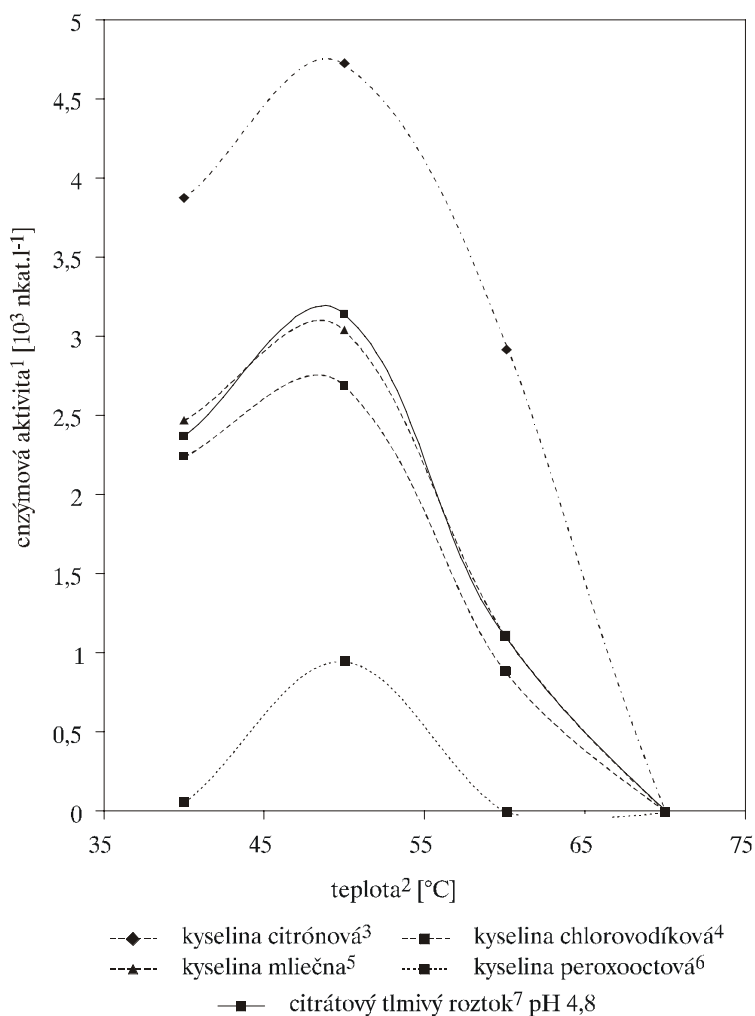
Hrubú vlákninu sme stanovili metódou podľa Henneberga a Stohmana [10], ktorej princípom je odbúranie rozpustných zložiek varom v 5% kyselíne sírovej a 5% hydroxide sodnom.

Väznosť vody sme stanovili modifikovanou metódou podľa Godmana [11]. Touto metódou sa stanoví vázkovo voda naviazaná na skúmanú vzorku po centrifugácii a zliatí prebytočnej vody.

Senzoricky sme hodnotili vlákninu párovým testom oproti nehydrolyzovanej vláknine.

Aktuálnu aktivitu enzýmu sme overili metódou FPA (Filter paper activity) [12] založenej na spektrofotometrickom stanovení redukujúcich sacharidov vzniknutých hydrolýzou filtračného papiera pri rôznych teplotách a rôznom pH reakčného prostredia. Vplyv úpravy prostredia na aktivitu enzýmu znázorňuje obr. 1.

V priebehu pokusov sme kontrolovali aktivitu enzýmu, ktorá poklesla



OBR. 1. Vplyv úpravy prostredia na aktivitu celulytického enzýmu EC 3.2.1.4. pri pH 4,8.

FIG. 1. Influence of the medium adjustment on the activity of the cellulolytic enzyme EC 3.2.1.4. at pH 4.8.

1 - enzymatic activity, 2 - temperature, 3 - citric acid, 4 - hydrochloric acid, 5 - lactic acid, 6 - peroxyacetic acid, 7 - citrate buffer.

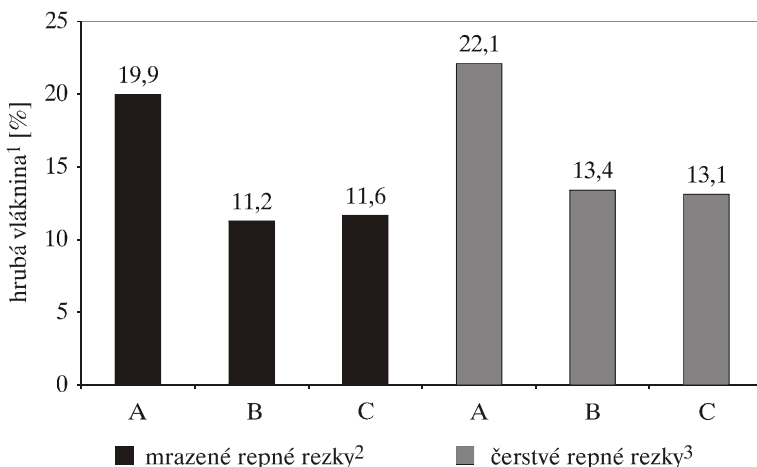
zo  $6,25 \cdot 10^3$  nkat.l<sup>-1</sup> na  $2,85 \cdot 10^3$  nkat.l<sup>-1</sup> a množstvo enzýmu na hydrolýzu repných rezkov sme korigovali v závislosti od aktuálneho poklesu aktivity.

## Výsledky a diskusia

### *Vplyv množstva enzýmu*

Po pridaní enzýmu v množstve 0,2 ml na 100 g substrátu sme nepozorovali výrazné zmeny v obsahu hrubej vlákniny, redukujúcich sacharidov, ani zmeny senzorickej kvality, preto sme zvýšili aplikovanú dávku enzýmu na 1 ml a 2 ml na 100 g rezkov. Po pridaní enzýmu v množstve 1 ml na 100 g substrátu poklesol obsah hrubej vlákniny na 11,2 %. Zvýšenie dávky enzýmu na 2 ml na 100 g substrátu nevedlo k zvýšeniu stupňa hydrolýzy, ani k zmene obsahu a kvality vlákniny (obr. 2).

Sledovaním zmien obsahu redukujúcich sacharidov počas hydrolýzy sme zistili, že množstvo redukujúcich sacharidov narastá do 60 min trvania hydrolýzy minimálne, len o 7 %. Hydrolýza trvajúca dlhšie, 75 a viac minút,

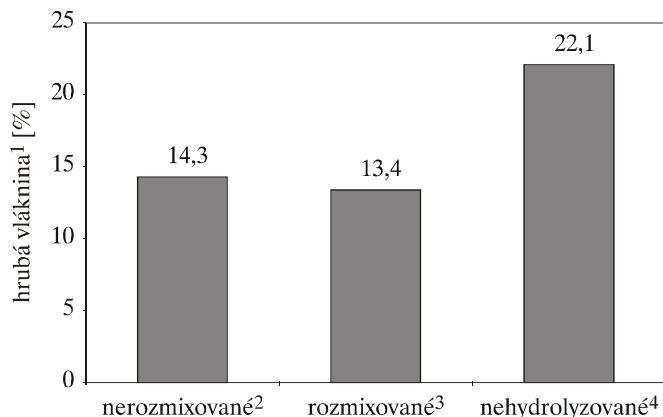


OBR. 2. Vplyv množstva enzýmu na hydrolýzu hrubej vlákniny rozmixovaných repných rezkov.

A - nehydrolyzované, B - 1 ml enzýmu na 100 g substrátu, C - 2 ml enzýmu na 100 g substrátu.

FIG. 2. Influence of the enzyme quantity on the hydrolysis of the crude fibre from crushed beet slices.

1 - crude fibre, 2 - frozen slices, 3 - raw slices, A - non-hydrolysed, B - 1 ml of the enzyme per 100 g of the substrate, C - 2 ml of the enzyme per 100 g of the substrate.



OBR. 3. Vplyv štruktúry čerstvých repných rezkov na priebeh enzymovej hydrolýzy.

FIG. 3. Influence of raw beet slices structure on the process of the enzymatic hydrolysis.

1 - crude fibre, 2 - non-crushed slices, 3 - crushed slices, 4 - non-hydrolysed.

spôsobila nárast redukujúcich sacharidov až o 30 %. Znamená to, že v prvom štádiu prebiehala hydrolýza hlavne na glykozidických väzbách vo vnútri reťazca a vznikali štepy kratších reťazcov celulózy. V ďalšom štádiu hydrolýza prebiehala na týchto štepoch a vznikala glukóza.

#### Vplyv úpravy rezkov

Ako vidieť na obr. 2, mrazenie malo vplyv na zmenu obsahu nerozpustnej vlákniny. Vysvetľujeme si to vznikom kryštálov vody v štruktúre celulózy počas pomalého mrazenia, čo spôsobuje lepší prístup enzýmu ku glykozidickým väzbám v reťazci celulózy. Preto aj obsah hrubej vlákniny rozmrazených rezkov poklesol o 1,2 % oproti čerstvým nemrazeným rezkom. Čiastočne tento predpoklad potvrdil i pokus s mixovaním čerstvých rezkov (obr. 3).

TAB. 1. Váznosť vody repných rezkov.

TAB. 1. Water binding capacity of beet slices.

Úprava rezkov¹	Váznosť vody² [g.g⁻¹]
čerstvé repné rezky sušené pri 50 °C	9,3
čerstvé repné rezky sušené pri 100 °C	3,3
čerstvé repné rezky hydrolyzované, sušené pri 50 °C	9,9
mrazené repné rezky hydrolyzované, sušené pri 50 °C	10,6

1 - form of the beet slices, 2 - water binding capacity.

V prípade, keď sme repné rezky rozmixovali, sa obsah hrubej vlákniny znížil o 0,9 %.

Väznosť vody je základným funkčným parametrom kvality vlákninových preparátov. Z tab. 1 je zrejmé, že väznosť vody výrazne klesala, keď sa teplota sušenia rezkov zvýšila z 50 °C na 100 °C.

Hydrolyzou sušených rezkov sa ich väznosť vody nemenila, hydrolyzou čerstvých a mrazených rezkov sa väznosť vody zvýšila maximálne o 13 %.

### Záver

Enzymovou hydrolyzou celulolytickým enzýmom EC 3.2.1.4. sme získali repnú vlákninu bez repného zápachu s jemnejšou konzistenciou ako mali pôvodné repné rezky.

Väznosť vody hydrolyzovanej vlákniny z mrazených repných rezkov bola 10,6 g vody na 1 g vlákniny, čo predstavuje zvýšenie väznosti vody vlákninou o 13 % oproti nehydrolyzovanej repnej vláknine.

### Literatúra

1. DONGOWSKI, G.: Extraction of dietary fibre from sugar beet cossettes. *Nahrung*, 37, 1993, č. 4, s. 364-373.
2. DONGOWSKI, G. - EHWALD, R.: Composition and properties of dietary fibre of the cellan type. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 36, 1997, č. 1, s. 85.
3. HARLAND, J.: Beta fibre: a case history. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 44, 1993, s. 87-96.
4. NAGAI, T. - ISHIZUKA, S. - HARA, H. - AOYAMA, Z.: Dietary sugar beet fiber prevents the increase in aberrant crypt foci induced by gamma-irradiation in the colorectum of rats treated with an immunosuppressant. *Journal of Nutrition*, 130, 2000, č. 7, s. 1682-1687.
5. PERSSON, K.: Dietary fibre from sugar beet - Fibrex. *Ernahrungs Umschau*, 33, 1986, č. 3, s. 98-99.
6. BROUGHTON, N. W. - DALTON, C. C. - JONES, G. C. - WILLIAMS, E. L.: Adding value to sugar beet pulp. *International Sugar Journal*, 97, 1995, č. 1154, s. 57-60, 93-95.
7. MICHIGAN BIOTECHNOLOGY INSTITUTE. Dietary fibers and a process for their production. GRETHLEIN, H. USA. Patent, US 4 997 665, US 417377. 5.10.1989.
8. AKTIEN ZUCKERFABRIK SCHOEPPENSTEDT. Verfahren und Vorrichtung zur Herstellung eines Rohstoffes aus extrahierten Zuckerruebenschnitzeln. BORRIES, U. Nemecko. Prihláška patentu, DE 39 21 504 A1, DE 3921504. 30.6.1989.
9. HUTNAN, M. - DRTEL, M. - MRAFKOVÁ, L.: Využitie vysladených repných rezkov na výrobu bioplynu. *Listy cukrovarnícké a řepařské*, 115, 1999, č. 12, s. 348-352.
10. DAVÍDEK, J. - a kol.: Laboratorní příručka analýzy potravin. 2. vyd. Praha : SNTL, 1981. 718 s.

11. AUFFRET, A. - RALET, M. C. - GUILLON, F. - BARRY, J. L. - THIBAUT, J. F.: Effect of grinding and experimental conditions on the measurement of hydration properties of dietary fibres. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 27, 1994, č. 2, s. 166-172.
12. PEŠKOVÁ, E.: Vplyv efektorov na produkciu celulózy. [Diplomová práca.] Bratislava : Chemickotechnologická fakulta SVŠT, 1985. 61 s.

Do redakcie došlo 11.3.2002.

### **Enzymatic hydrolysis of sugar beet slices**

PANGHYOVÁ, E. - ŠILHÁR, S. - GLONČÁKOVÁ, B.: *Bull. potrav. Výsk.*, 41, 2002, p. 99-105.

**SUMMARY.** The aim of the presented research was the preparation of a high-quality food-grade fibre from beet slices using cellulolytic enzymes. By the application of the cellulolytic enzyme EC 3.2.1.4. to sugar beet slices, fibre devoid of the beet off-flavour was prepared, with properties comparable to the fibre produced by physico-chemical processes. The enzymatic hydrolysis increased the water binding capacity of the product by approximately 13 % and was most effective in defrozen beet slices.

**KEYWORDS:** fibre; sugar beet; cellulolytic enzymes