

Stanovenie aktivity glukoa- mylázy v enzýmoch pre potravinársky priemysel

EDITA DUDÍKOVÁ – JÚLIUS ŠUBÍK

Súhrn. Práca sa zaoberá prieskumom a výberom metód na stanovenie aktivity glukoa-
mylázy so zreteľom na štandardizáciu metód analýzy priemyselných enzýmov. Experimen-
tálne sa overili metódy zakladajúce sa na stanovení obsahu redukujúcich sacharidov a na
enzýmovej analýze uvoľnenej glukózy po hydrolýze škrobových substrátov účinkom glu-
koamylázy. Z výsledkov vyplynulo, že na štandardizáciu je vhodná metóda podľa sovietskej
normy GOST s použitím Bio-La-testu Oxochróm-glukóza pre jednoduchosť a selek-
tívnosť stanovenia v prítomnosti α -amylázy.

Glukoamyláza, označovaná často ako amyloglukozidáza (1,4- α -D-glukan
glukohydroláza, EC 3.2.1.3), je najmenej špecifický amylolytický enzým,
ktorý katalyzuje hydrolýzu α -1,4-glukánových a α -1,6-glukánových väzieb
v polysacharidoch, ako je škrob, amylóza, amylopektín, amyloextrín, glyko-
gén a celý rad glukooligosacharidov. Hydrolyzuje aj pomerne zriedkavé α -1,3
rozvetvenie amylózy. Glukoamyláza odštiepuje glukózové jednotky z neredu-
kujúcich koncov reťazcov. Prednostne štiepi vysokomolekulárne substráty.
Jej optimálne pH je 4 až 6, optimálna teplota 50 °C, maximálna aktivita pri
55–65 °C. Vlastnosti jednotlivých druhov fungálnych glukoa-
myláz závisia pre-
dovšetkým od produkčného mikroorganizmu. Najlepší producenti sú plesne
rodu *Aspergillus*, *Rhizopus* a *Endomyces* (1–4).

Aktivita glukoa-
mylázy sa všeobecne definuje ako množstvo glukózy uvoľ-
nenej zo substrátu za jednotku času. V porovnaní s množstvom jednotiek, po-
užívaných výrobcami pre aktivitu α -amylázy, sa však pri glukoa-
myláze použí-
vajú najmä dve definície jednotiek:

– 1 jednotka U je množstvo enzýmu, ktoré uvoľní 1 μ mol glukózy za 1 mi-
nútu,

Ing. Edita Dudíková, RNDr. Július Šubík, DrSc., Výskumný ústav potravinársky, Tren-
čianska 53, 825 09 Bratislava.

– 1 jednotka GAU je množstvo enzýmu, ktoré uvoľní 1 g redukujúcich cukrov za 1 hodinu.

Metódy používané na stanovenie aktivity glukoamylázy sa zakladajú na stanovení redukujúcich sacharidov a na enzýmovej analýze uvoľnenej glukózy [5]. Reakčné podmienky pri hydrolýze sa pri jednotlivých metódach často odlišujú, predovšetkým čo sa týka teploty, rozdiely sú od 25 do 60 °C. Označenie jednotiek je však pri niektorých metódach odlišné napriek použitiu jednej z uvedených definícií aktivity (metódy FAO/WHO označujú „unit“ pre jednotku aktivity, definovanú ako jednotku GAU a pod.).

Stanovenie aktivity glukoamylázy meraním uvoľnených redukujúcich sacharidov. Metódy založené na tomto princípe sú nešpecifické, pretože výsledné hodnoty môže ovplyvňovať prítomnosť α -amylázy a pullulanázy. Často uplatňovanou metódou je postup podľa Somogyiho a Nelsona [6, 7]. Ako substrát sa osvedčil roztok rozpustného škrobu (10 g/l). Hydrolýzou uvoľnené redukujúce cukry sa stanovia Somogyi–Nelsonovým činidlom.

Iné metódy sa zakladajú na stanovení hydrolýzou uvoľnených redukujúcich cukrov postupom podľa Schoorla. Je to napr. postup firmy Jan Dekker [8], pri ktorom sa ako substrát uplatňuje kukuričný škrob, alebo postupy FAO/WHO [9], ktoré ako substrát používajú škrobový hydrolyzát (corn syrup solids) a rešpektujú rozdielne optimálne pH a teplotu pre enzýmy z rôznych funkčných zdrojov.

Na stanovenie aktivity glukoamylázy sa podobne ako pre α -amylázu používa stanovenie glukózy uvoľnenej hydrolýzou spektrometrickou metódou s alkalickým roztokom kyseliny 3,5-dinitrosalicylovej. Tento postup uplatňuje napr. aj norma NDR na stanovenie aktivity glukoamylázy po hydrolýze škrobového substrátu [10].

Stanovenie aktivity glukoamylázy enzýmovou analýzou uvoľnenej glukózy. Druhá skupina metód je v praxi značne rozšírená a postupne sa zdokonaľuje. Postupom podľa Ruttloff a kol. [3] sa glukóza odštiepená po hydrolýze škrobového substrátu (20 g/l) glukoamylázou pri teplote 45 °C a pH 5,5 stanoví pomocou glukózaoxidázy (GOD), peroxidázy (POD) a *o*-dianizidínu [11, 12]. Touto metódou možno selektívne stanoviť aktivitu glukoamylázy aj v prítomnosti α -amylázy [18]. Na tom istom princípe je založený postup podľa sovietskej normy GOST [13], ktorý pôvodne používal na vyvolanie farebnej reakcie ferokyanid draselný, neskôršie však bol nahradený *o*-dianizidínom [14]. Pri tomto postupe sa hydrolýza škrobového roztoku (10 g/l) robí pri teplote 30 °C. Obdobný typ enzýmovej analýzy na stanovenie aktivity glukoamylázy sa uplatňuje v metóde NOVO Industry, podľa ktorej sa glukóza uvoľnená hydrolýzou maltózy ako substrátu pri 25 °C stanovuje glukóza-dehydrogenázovým reagensom firmy Merck [15]. Firma NOVO Industry uplatňuje aj jedno-

duchú metódu, pri ktorej sa hydrolyzuje *p*-nitrofenylglukopyranozid (pNPG) a uvoľnený *p*-nitrofenol sa stanoví spektrofotometricky [16].

Okrem uvedených metód sa zavádzajú aj novšie postupy. Na stanovenie štyroch amylolytických enzýmov α -amylázy, β -amylázy, α -glukozidázy a glukoaamylázy na diagnostikovanie chorôb pankreasu i na priemyselné účely sa navrhuje postup, kde substrátom je polysacharid typu α -1,4-glukánu, rozpustný vo vode, označený nešpecificky rádionuklidom ^{14}C . Aktivita enzýmu je úmerná prírastku rádioaktivity chromatograficky separovaných reakčných produktov, prípadne úbytku rádioaktivity základného α -1,4-glukánu. Výhodou postupu je vysoká citlivosť a malý objem analyzovanej tekutiny [17]. Obdobne ako pre α -amylázu aj pre glukoaamylázu bol vyvinutý chromolytický tabletový S-test.

Cieľom tejto práce bol prieskum a výber metód stanovenia aktivity glukoaamylázy v enzýmových prípravkoch so zreteľom na ich štandardizáciu a uplatnenie v potravinárskom priemysle.

Materiál a metódy

Použili sa vzorky enzýmových preparátov zo Slovenských škrobární Dolná Krupá (glukobatatin z *Aspergillus batatae*), firmy Jan Dekker, Holandsko (Brew-N-zyme L-100 a L-300), firmy Serva, NSR (Amyloglucosidase Rohalase HT 11 U/mg a 18 U/mg), firmy MKC, NSR (Optidex L-200), firmy NOVO Industry, Dánsko (AMG 300 L) a KÉKI, MLR (Amyloglucosidase). Väčšinu použitých chemikálií vyrobila firma Lachema, Brno; rozpustný škrob firma Merck.

Analytické metódy a pracovné postupy

1. Modifikovaná metóda podľa sovietskej normy [13, 14]

Metóda stanovenia aktivity glukoaamylázy je založená na stanovení rýchlosti hydrolýzy rozpustného škrobu. Množstvo uvoľnenej glukózy sa stanoví enzýmovou analýzou s glukózaoxidázou (GOD), peroxidázou (POD) a chromogénnou látkou, ktorou je ferokyanid draselný [13], resp. *o*-dianizidín [14].

Modifikácia metódy spočíva v náhrade karcinogénneho *o*-dianizidínu pri analýze glukózy enzýmovým testom firmy Lachema Bio-La-test Oxochróm-glukóza. Pri stanovení oxochrómovým testom sa glukóza oxiduje kyslíkom

za katalýzy glukózaoxidázou na peroxid vodíka a glukonát. Vzniknutý peroxid vodíka sa stanovuje oxidačnou kopuláciou so substituovaným fenolom a 4-aminofenazónom, katalyzovanou enzýmom peroxidázou [19].

Definícia – jednotka aktivity glukoamylázy (U) je množstvo enzýmu, ktoré uvoľní z rozpustného škrobu 1 μmol glukózy za 1 minútu pri 30 °C a pH 4,7.

Enzýmová hydrolýza prebieha 10 minút pri 30 °C v inkubačnej zmesi, ktorá obsahuje 2,5 ml škrobového roztoku (10 g/l), pH 4,7 a 1,25 ml vhodne nariadeného enzýmového preparátu v H_2O . Obidve zložky boli vopred vytemperované na 30 °C. Reakcia sa zastaví 5-minútovým varom vo vodnom kúpeli. Súbežne sa robí slepý pokus s rovnako nariadenou vzorkou enzýmu, ktorá sa najskôr inaktivovala 10-minútovým varom vo vodnom kúpeli.

V prípade glukoamyláz s dobrou renaturačnou schopnosťou (napr. zo *Saccharomycopsis fibuligera*) treba použiť iný spôsob inaktívácie enzýmu, aby nedošlo ku skresleniu výsledkov.

Stanovenie odštiepenej glukózy Bio-La-testom Oxochróm-glukóza [19]. Postup bol upravený pre aplikáciu u enzýmových preparátov. K 2,5 ml glukózaoxidázového činidla sa v skúmavke pridá 0,5 ml vzorky po hydrolýze. Tak isto sa spracuje aj slepý pokus. Zmesi sa inkubujú 30 min pri laboratórnej teplote, chránené pred priamym svetlom. Po ukončení inkubácie sa zmerajú absorbancie na Spekle pri 500 nm. Vypočíta sa rozdiel absorbancie vzorky a slepého pokusu. Vyhodnotenie obsahu glukózy sa uskutoční pomocou kalibračnej čiary pre glukózu: rovnakým postupom sa k 2,5 ml glukózaoxidázového činidla pridávajú 0,5 ml alikvótnych roztokov glukózy obsahujúce 0,05 až 0,5 μmol glukózy, po ukončení inkubácie sa merajú absorbancie pri 500 nm.

$$\text{Výpočet: } U/g = \frac{3,75a}{180 \cdot n \cdot 10}$$

kde a je prírastok glukózy v 0,5 ml hydrolyzátu (μg), n – množstvo enzýmu v 3,75 ml hydrolyzátu (g).

2. Metóda podľa Somogyiho–Nelsona [6, 7]

Podstatou postupu je stanovenie redukujúcich sacharidov, uvoľnených hydrolýzou škrobu glukoamylázou. Metóda je založená na redukcii Somogyiho činidla poloacetátovou skupinou cukrov s nasledujúcou kolorimetrickou analýzou farebného komplexu vzniknutej mednej zlúčeniny s arzénomolybdenovým činidlom podľa Nelsona.

Somogyiho činidlo. Roztok A – rozpustí sa 24 g bezvodého Na_2CO_3 , 16 g NaHCO_3 , 12 g vínanu sodno-draselného a 144 g Na_2SO_4 v destilovanej vode na výsledný objem 800 ml. Roztok B – rozpustí sa 4 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a 36 g Na_2SO_4 v destilovanej vode na výsledný objem 200 ml. Oba roztoky sa uchovávajú oddelene, pred použitím sa zmiešajú v pomere A:B = 4:1.

Nelsonovo činidlo. Rozpustí sa 25 g molybdénanu amónneho v 450 ml des-

tilovanej vody, pridá sa 21 ml koncentrovanej H_2SO_4 a roztok 3 g $Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$ v 25 ml vody. Roztok sa nechá stáť 48 hodín pri 37 °C. Činidlo sa uchováva v tmavej fľaši.

Definícia – jedna jednotka glukoamylázovej aktivity (U) je množstvo enzýmu, ktoré katalyzuje uvoľnenie 1 μ mol glukózy za 1 minútu pri 45 °C a pH 5,6.

Enzýmová hydrolýza a stanovenie glukózy – pri stanovení aktivity sa k 0,45 ml substrátu obsahujúcemu rozpustný škrob (10 g/l) v tlmivom acetátovom roztoku 0,05 mol/l, pH 5,6 pridá 0,05 ml vhodne nariadeného preparátu glukoamylázy a inkubuje sa 15 minút pri 45 °C. Reakcia sa zastaví pridaním 0,5 ml Somogyiho činidla. Pre blank sa k 0,45 ml substrátu pridá po 15-minútovej inkubácii pri 45 °C 0,5 ml Somogyiho činidla a napokon 0,05 ml nariadenej vzorky enzýmu. Skúmavky so vzorkou aj blankom sa vložia na 10 minút do vriaceho vodného kúpeľa, ochladia na laboratórnu teplotu a do každej skúmavky sa pridajú 4 ml Nelsonovho činidla, zriedeného 4-krát v H_2O . Obsah sa premieša a po 3–5 minútach sa meria absorbancia pri 540 nm.

Obsah glukózy sa vyhodnotí pomocou kalibračnej čiary. K 0,5 ml alikvótnych roztokov glukózy, ktoré obsahujú 10 až 50 μ g glukózy, sa pridá 0,5 ml Somogyiho činidla a ďalej sa postupuje ako pri stanovení glukoamylázovej aktivity.

$$\text{Výpočet } U/g = \frac{20AR}{180.15N}$$

kde A je uvoľnená glukóza z kalibračnej čiary (μ g), R – riedenie, N – množstvo enzýmu v 1 ml základného roztoku (g).

Výsledky a diskusia

Na stanovenie aktivity glukoamylázy v enzýmových preparátoch sa pre experimentálne overovanie vybrali dve metódy, a to metóda podľa sovietskej normy GOST [13, 14] a metóda podľa Somogyiho–Nelsona [6, 7].

Pri overovaní stanovenia aktivity glukoamylázy podľa sovietskej normy sme sa najskôr zamerali na náhradu karcinogénneho o-dianizidínu komerčne vyrábaným testom firmy Lachema, Bio-La-test Oxochróm-glukóza. Pôvodný postup, určený výrobcom na analýzu glukózy v sére, moči a podobne, bolo potrebné prispôsobiť použitiu pre enzýmové preparáty. Úprava sa týkala pomerov objemov glukózaoxidázového činidla a hydrolyzátu. Preto sa robili analýzy so štandardnými roztokmi glukózy o známych koncentráciách, pričom sa použil nižší objem glukózaoxidázového činidla, ako aj niekoľkonásob-

ný objem hydrolyzátu pre reakciu testu. Na základe výsledkov sa vybral vhodný pomer reakčných zložiek: 2,5 ml glukózaoxidázového činidla a 0,5 ml hydrolyzátu.

Metódami podľa sovietskej normy a podľa Somogyiho–Nelsona sa robili analýzy 8 vzoriek glukoamylázy pochádzajúce od rôznych výrobcov (tab. 1, obr. 1) a porovnali sa ich namerané aktivity. Základom pre porovnanie nameraných údajov je to, že obe metódy definujú jednotku aktivity rovnako čo sa týka množstva uvoľnenej glukózy za jednotku času, t. j. $\mu\text{mol/min}$. Podmienky hydrolýzy pri oboch metódach sa však výrazne odlišujú predovšetkým v reakčnej teplote 30, resp. 45 °C. Vplyv reakčnej teploty na hodnotu aktivity enzýmov sa stanovil metódou podľa sovietskej normy, pri preparátoch Serva Amyloglucosidase (11 U/mg), Brew-N-zyme L-100 a Brew-N-zyme L-300 a znázorňuje ho obr. 2. Vidieť, že aktivita glukoamylázy nie je lineárnou funkciou teploty. Zvýšenie reakčnej teploty na dvojnásobok malo za následok takmer štvornásobné zvýšenie aktivity enzýmu.

Tabuľka 1. Porovnanie hodnôt aktivity glukoamylázy nameraných metódou podľa sovietskej normy s Oxochróm-testom a metódou podľa Somogyiho-Nelsona

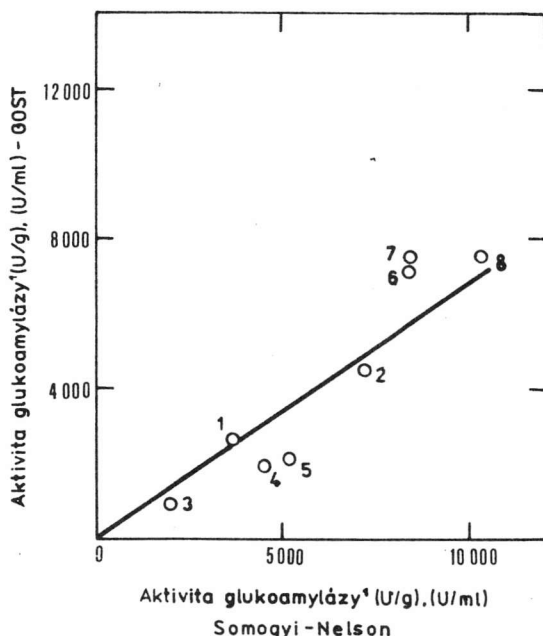
Table 1. Comparison of the values of glucoamylase activity measured by the method according to the Soviet standard with Oxochrom-test and the Somogyi-Nelson method

Č ¹	Enzýmový preparát ²	Sovietska norma + test Oxochrom ³ (30 °C, pH 4,8)		Somogyi-Nelson (45 °C, pH 5,6)	
		Aktivita ⁴			
		U/g	U/ml	U/g	U/ml
1	Amyloglucosidase 11 U/mg Serva	2 650	–	3 620	–
2	Amyloglucosidase 18 U/mg Serva	4 450	–	7 240	–
3	Glukobatin	900	–	2 000	–
4	Brew-N-zyme L-100	–	1 930	–	4 450
5	Brew-N-zyme L-300	–	2 140	–	5 160
6	Optidex L-200	–	7 050	–	8 400
7	Amyloglucosidase KÉKI	–	7 500	–	8 400
8	AMG 300 L NOVO	–	7 500	–	10 300

¹No.; ²Enzyme preparation; ³Soviet standard + Oxochrom test; ⁴Activity.

Ako vyplýva z obr. 1, medzi hodnotami aktivity nameranými oboma postupmi nie je jednoznačný lineárny vzťah. Rozdiely sú zrejme ovplyvnené ne-lineárnou závislosťou aktivity jednotlivých preparátov od teploty hydrolýzy (obr. 2), ako aj hodnotou pH počas hydrolýzy, ktorá je pre niektoré preparáty (Brew-N-zyme, Optidex L-200, AMG 300 L) pri analýze metódou podľa So-

mohyiho–Nelsona mimo oblasť optimálneho pH, t. j. pH 4–4,5. Vzhľadom na to nemožno určiť ani prepočítavací faktor medzi oboma metódami.



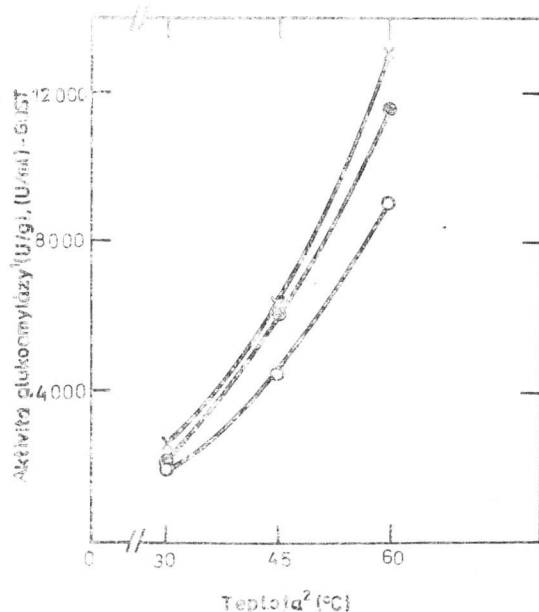
Obr. 1. Vzťah medzi aktivitou glukoamylázy enzýmových preparátov, stanovenou podľa sovietskej normy GOST a podľa Somogyiho–Nelsona.

1, 2 – Amyloglucosidase Serva 11 U/mg a 18 U/mg, 3 – glukobatin, 4, 5 – Brew-N-zyme L-100 a L-300, 6 – Optidex L-200, 7 – Amyloglucosidase KÉKI, 8 – AMG 300 L NOVO.

Fig. 1. The relation between the glucoamylase activity of enzyme preparations determined by the Soviet GOST standard and by the Somogyi–Nelson method. (¹Glucoamylase activity).

Na potvrdenie správnosti experimentálnych údajov získaných overovanými metódami sa porovnali nimi namerané hodnoty aktivity s údajmi výrobcov u čistého preparátu Serva Amyloglucosidase s aktivitou asi 18 U/mg a potravinárskeho preparátu Brew-N-zyme L-100 s deklarovanou aktivitou 100 GAU/ml. Reakčné podmienky sa však pri oboch metódach upravili v zmysle údajov výrobcov, t. j. hydrolýza prebiehala pri 60 °C a pri pH optimálnom pre aktivitu oboch vzoriek enzýmu.

Z tab. 2 vyplýva, že za týchto experimentálnych podmienok sa dosiahla pri vzorke Serva Amyloglucosidase relatívne dobrá zhoda hodnôt aktivity nameraných pomocou oboch metód s údajom výrobcu (rozdiel je 20 a 10 %), aj keď konkrétna metóda, ktorú výrobca použil, nebola uvedená [20]. Pri vzorke Brew-N-zyme L-100 sa namerali hodnoty aktivity, ktoré po prepočte na



Obr. 2. Teplotná závislosť glukozamylázy troch enzýmov: ○ – Brew N-zyne L-100, ● – Brew N-zyne L-300, x – Amyloglucosidase Serva II U/mg.

Fig. 2. Temperature dependence of glucoamylase activity in three enzymes. (¹Glucoamylase activity; ²Temperature.)

jednotky GAU boli takmer zhodné s údajmi výrobcu. Z definícií jednotiek vyplynul prepočítavací faktor $1 \text{ U} = 0,0108 \text{ GAU}$ pri dodržaní rovnakých podmienok hydrolýzy.

Na základe výsledkov overovania a porovnávania metód stanovenia aktivity glukozamylázy je z hľadiska návrhu na štandardizáciu vhodná modifikácia metódy podľa sovietskej normy GOST s použitím Bio-la-testu Oxochróm-glukóza na stanovenie uvoľnenej glukózy. Postup je prakticky výhodný a použitím testu Oxochróm-glukóza a nahradí karcinogénny *o*-dianizidín pri enzýmovom stanovení glukózy. Metóda umožňuje selektívne stanovenie aktivity glukozamylázy v prítomnosti α -amylázy na rozdiel od metódy podľa Somogyiho–Nelsona, pri ktorej sa stanovujú všetky redukujúce zložky po enzýmovej hydrolýze. Vzhľadom na možné rozdiely pri stanovení aktivity v závislosti od pH je žiadúce, aby sa oproti pôvodnej metóde, pri ktorej prebieha hydrolýza pri jednotnom pH, rešpektovalo optimálne pH pre jednotlivé enzýmové preparáty.

Literatúra

1. BERGMEYER, H. U.: Methods of Enzymatic Analysis. Vol. II. Weinheim, Verlag Chemie 1983.
2. SHENOY, B. C. – KATWA, L. C. – APPU RAO, A. G. – RAGHAVENDRA RAO, M. R., J. Biosci., 7, 1985, s. 399.
3. RUTTLOFF, H. – HUBER, J. – ZICKLER, F. – MANGOLD, H. K.: Industrielle Enzyme. Leipzig, VEB Fachbuchverlag 1978.
4. WASSERMAN, B. P., Food Technol., 38, 1984, s. 78.
5. SABIN, R. D. – WASSERMAN, B. P., J. Agric. Food Chem., 35, 1987, No. 5.
6. SOMOGYI, M., J. Biol. Chem., 195, 1952, s. 19.
7. Stanovenie glukooamylázovej aktivity modifikovanou metódou podľa Somogyiho a Nelsona. Výpis metódy. Bratislava, ÚMB SAV 1986.
8. Diazyme Assay Procedure Including Schoorl Reducing Sugar Determination. Firemná literatúra. Jan Dekker, Holland.
9. Guide to Specifications. FAO Food and Nutrition Paper No. 5. Rev. 1, Rome 1983.
10. Fachbereichsstandard TGL 29 167/02: Enzyme, Glucoamylase-Konzentrat. Prüfvorschriften. DDR, 1973.
11. RUTTLOFF, H. – FRIESE, R. – TÄUFEL, A. – TÄUFEL, K., Nahrung, 12, 1968, s. 53.
12. Návodý analytických metód v enzymológii, Praha, VÚPP 1978.
13. Gosudarstvennyje standardy SSSR No. 20264, 4–74. Preparaty fermentnyje. Metody opredelenija amylolytičeskoj aktivnosti.
14. Techničeskaja dokumentacija na sposob proizvodstva i primenenija glukobatatina. Firemná literatúra. MPP ZSSR, 1982.
15. NOVO Method for Determination of Amyloglucosidase Activity. Firemná literatúra. NOVO Industry No. AF 22/6-GB, 1980.
16. A Simple and Easy-to-Use Method for the Determination of Amyloglucosidase Activity. Firemná literatúra. NOVO Enzyme Information 082a-GB, 1973.
17. ZEMEK, J. – KUČÁR, Š. – KUNIAK, L. – KOLINA, J.: Spôsob stanovenia aktivity amylolytických enzýmov. Autorské osvedčenie 204179. Praha, ÚVO 1983.
18. RUTTLOFF, H. – FRIESE, R. – RICHTER, M., Zur Bestimmung von α -Amylase in mikrobiellen Glukoamylase-Präparaten. Z. Allg. Mikrobiol., 10, 1970, s. 341.
19. Bio-La-test Oxochrom-glukóza. Firemná literatúra, Brno, Lachema 1988.
20. Serva, Fine Biochemicals for the Scientist. Heidelberg, Delivery Programm 1987/88.
21. S-test glukooamyláza. Firemná literatúra. JZD Slušovice, 1989.

Do redakcie došlo 30. 11. 1989

Определение активности глюкоамилазы в ферментах для пищевой промышленности

Резюме

Работа занимается исследованием и подбором методов для определения активности глюкоамилазы с уделением внимания стандартизации методов анализа промышленных ферментов. Экспериментально проверились методы основаны как на определении содержания редуцирующих сахаридов так и на ферментативном анализе освобожденной глюкозы после гидролиза крахмальных субстратов действием глюкоамилазы. С результатов вытекает, что для стандартизации подходит метод по советскому стандарту ГОСТ с использованием Био-Ла теста Оксохром-глюкоза из-за его простоты и селективности определения в присутствии α -амилазы.

Determination of the activity of glucoamylase in enzymes for food industry

Summary

The paper deals with the investigation and choice of methods for the determination of glucoamylase activity with respect to the standardization of the analytical methods for industrial enzymes. The methods based on the determination of the contents of reducing sugars as well as those based on the enzyme analysis of the liberated glucose following the hydrolysis of starch substrates under the effect of glucoamylase were experimentally evaluated. The results showed that the method according to the Soviet GOST standard under the use of the Bio-La test Oxochrom-glucose is suitable for standardization because of the simplicity and selectivity of the determination in the presence of α -amylase.