

## Vývoj a perspektivy imobilizovaných biosystémů

577.152  
576.3 576.31

RNDr. VLADIMÍR JIRKŮ, CSc., Prof. Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., Vysoká škola chemicko-technologická, katedra kvasné chemie a bioinženýrství, Praha

**Klíčová slova:** imobilizovaný biosystém, biokatalyzátor, imobilizovaná buňka, imobilizovaný enzym

Jedním ze základních projevů živého organismu je jeho kontrolovaná orientace v prostoru, která souvisí s vlastní biologickou aktivitou a vlivy prostředí. Tato specifická aktivita je i základním projevem života na jednobuněčné úrovni, a to nejen života mikrobiálních populací, ale i jednobuněčných populací nemikrobiálních. Tento fakt lze ilustrovat skutečností, že mikrobiální populace, které jsou součástí našeho prostředí, jsou s ním téměř vždy v pevném kontaktu. Tato cílená biologická aktivita je výraznou složkou dosud poměrně málo poznatého vztahu mikroorganismů ke svému okolí a lze ji v souvislosti s diskutovanou problematikou označit jako „přirozenou imobilizaci“ jednobuněčných organismů. V tomto případě je mikrobiální buňka zakotvena k určitému pevnému povrchu (vodní a půdní mikroflora, mikroorganismy trávicího traktu atd.) prostřednictvím specifických povrchových struktur, které vytvářejí značně proměnlivou aditivní vrstvu buněčného povrchu, nazývanou *glykokalyx*. Charakteristickým rysem tohoto mechanismu zakotvení je jeho častá substrátová specifita. Při bakteriální kolonizaci rostlinných a živočišných tkání se uplatňuje interakce zmíněné struktury s glykokalyxem rostlinných nebo živočišných buněk. Stadium biologické funkce glykokalyxu prokázalo, že tato struktura není pouze prostředkem přirozené imobilizace buněk, ale i aktivní orgán interakce buňky a prostředí [1].

V těchto souvislostech není třeba zdůrazňovat, že mechanismus přirozené imobilizace intaktních buněk je mnohem dokonalejší a levnější variantou dosud vyvinutých laboratorních imobilizačních metod, které jsou základem současné laboratorní a průmyslové aplikace vázaných biosystémů. Z těchto důvodů je však paradoxem, že problematika přirozené imobilizace donedávna unikala pozornosti mikrobiologů. Jednou z příčin je pravděpodobně i to, že v laboratorní praxi jsme převážně orientováni na studium buněčných populací, jejichž způsob přípravy a uchovávání vede ke vzniku „nahých“ buněčných forem (buněk bez aditivní glykokalyxové vrstvy), tedy experimentálního materiálu, který je nevhodný k studiu zmíněných otázek.

### 1. Imobilizace velkých biosystémů v laboratorní a průmyslové praxi

Problematika imobilizace celých buněk (buněčných organel a struktur) je etapou vývoje problematiky vázaných biokatalyzátorů, jejíž vznik byl motivován zcela specifickými operativními výhodami, které má imobilizace producenta enzymu před zakotvením čisté nebo částečně purifikované bílkoviny. Jinými slovy, imobilizace celé buňky odstraňuje především všechny náklady a komplikace, které jsou spojeny s izolací a purifikací enzymu, popř. i s jeho stabilizací. Zachování enzymu v nativním prostředí buňky zároveň podmiňuje zachování optimálních podmínek dané enzymové reakce. V případě imobilizované buňky lze využít nikoliv jeden enzym, ale určitý enzymový systém, tedy určitý biochemický potenciál buňky (buněčné organely). Imobilizace buněk znamená v aplikaci vázaných biokatalyzátorů i nové možnosti bioinženýrských manipulací.

Zmíněné operativní výhody jsou však kompenzovány i nevýhodami, které tento způsob imobilizace biokatalyzátorů přináší. Především je to skutečnost, že enzym (enzymový systém) a jeho extracelulárně přítomný substrát jsou vzájemně separovány komplexem buněčných povrchových struktur. V této souvislosti eliminace semi-permeabilních vlastností cytoplazmatické membrány (permeabilizace buňky) je často nutným krokem v procesu přípravy preparátu takto vázaného biokatalyzátoru. Intracelulární hladina enzymu(ů) dále podléhá vlivu všech faktorů, které intracelulární hladinu bílkovin obecně ovlivňují (turnover, postsyntetické úpravy). Obecnou nevýhodou je i to, že zakotvení daného biokatalyzátoru(ů) je provázáno zakotvením balastních buněčných komponentů, což znamená, že specifická aktivita hmotnostní jednotky nosiče je vždy výrazně nižší než v případě imobilizace purifikované bílkoviny. Potenciální nevýhodou je i možné zachování autoreprodukční schopnosti buňky po imobilizaci.

Uvedené skutečnosti zároveň ilustrují základní otázky tohoto směru vývoje vázaných biokatalyzátorů, který je zatím paralelní s vývojem v oblasti imobilizace čistých enzymů. Ve srovnání s touto problematikou experimentální řešení dílčích otázek imobilizace celých buněk přineslo v některých oblastech jen určité metodické modifikace, zatímco v jiných bude vývoj v tomto směru podmíněn řešením zcela specifických problémů.

Ilustrací těchto souvislostí je i odvození oficiální definice termínu „imobilizovaná buňka“, jako příklad kompletního biosystému od definice termínu „imobilizovaný enzym, který byl v roce 1971 doporučen náhradou za do této doby používané termíny: „water-insoluble enzyme“, „fixed enzyme“, „trapped enzyme“ nebo „matrix-supported enzyme“. „Imobilizovaný enzym“ je definován jako enzym“, který je fyzicky upoután, prostorově lokalizován (separován), nebo chemicky modifikován za vzniku nerozpustné formy, přičemž jeho biokatalytická aktivita zůstává zachována, a to i při opakovaném použití, které imobilizace umožňuje.

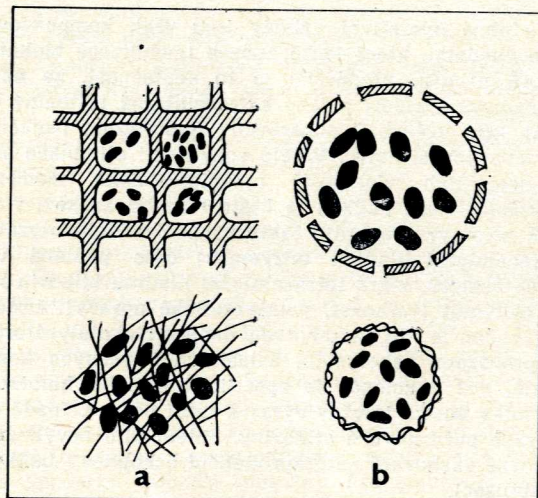
Obdobně je možno definovat termín „imobilizovaný biosystém“. V tomto případě se obecně jedná o imobilizaci provedenou s buňkami se zachovanou schopností autoreprodukce, buněk klidových, buněčných forem se zahájenými autodegradačními procesy i imobilizaci izolovaných buněčných organel a struktur, přičemž žádaná biochemická aktivita je zachována. Uvolňování potomstva v případě použití imobilizovaných populací se zachovanou schopností autoreprodukce může však vést k některým obtížím při definování experimentálních nebo provozních podmínek.

### 2. Principy imobilizačních metod

Z metodického hlediska je možno způsoby imobilizace celých buněk členit do několika základních skupin s různým počtem podskupin, které ilustrují dílčí metodické odstíny. Stručně lze říci, že při imobilizaci celých buněk je využíváno téměř všech principů imobilizace čistých (částečně purifikovaných) bílkovin. Základní rozdíl existuje pouze v tom, že jednotlivé způsoby nejsou stejně



využívány pokud jde o zakotvení enzymu a buňky. Příkladem mohou být metody zakotvení kovalentní vazbou. Zatímco imobilizace enzymu tímto způsobem je jednou z nejpoužívanějších technik, je použití těchto metod skoro ojedinělé v případě imobilizace celých buněk. Současný stav možností imobilizace buněk, organel a buněčných struktur lze stručně ilustrovat následujícím příkladem, který zároveň ukazuje zcela specifické prvky metod imobilizace celých buněk, které jsou při imobilizaci enzymu nepoužitelné.



Obr. 1 Imobilizace buněk technikou entrapmentu (a) a mikroinkapsulací (b)

**Zabudování (zachycení) buněk v prostředí polymeru.** Obecně jde o značně rozšířené metody tzv. entrapmentu (obr. 1a), které z hlediska provedení a typu polymeru lze dále členit na metody, jejichž principem je:

a) Kombinace vlastní imobilizace s polymeračním procesem. Nejčastěji citovaným příkladem této skupiny je zachycení buněk v prostředí polyakrylamidového gelu. Vlastností finálního preparátu lze regulovat změnou poměru monomerů i jejich celkovou koncentrací, včetně koncentrace buněčné populace, která je v monomeru suspendována. Určitý vliv má i použitý katalyzátor polymeračního procesu a teplota, při které tento proces probíhá. Vzniklá polyakrylamidová matrice nenese náboj a chemicky je dosti inertní. Značným problémem je difúzní bariéra, kterou polyakrylamid vytváří i potenciálně negativní interakce tohoto polymeru s buněčným povrchem.

b) Zabudování buněk do prostředí termoreverzibilních gelů, obvykle přírodních polymerů (agar, želatina). Podobně jako v předcházejícím případě příprava finálního preparátu vyžaduje dezintegraci gelu na částice optimální velikosti.

c) Zabudování buněk v prostředí jiných přírodních materiálů polysacharidového typu (alginát, carrageenan) v kombinaci s tvorbou iontové sítě. Obvyklý způsob provedení vede ke vzniku sférických částic, jejichž základní nevýhodou je poměrně malá stabilita v určitém prostředí, což vyžaduje specifické úpravy finálního preparátu.

d) Vznik stabilních precipitátů buněk a polymerů (např. derivátů celulózy).

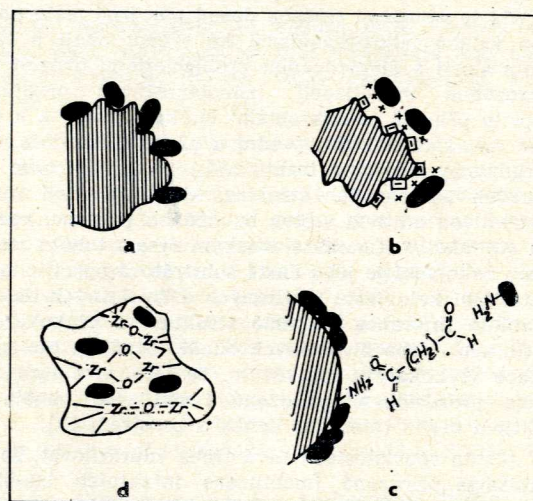
e) Mechanická dispergace buněk v prostředí biopolymerů s optimálními fyzikálně chemickými vlastnostmi (obvykle bílkovin).

Z hlediska členění imobilizačních technik je k metodám entrapmentu obvykle přiřazován i způsob, jehož

principem je uzavření buněčné populace v mikropouzdrů (mikroinkapsulace). Jde o techniku, která navazuje na způsoby „opouzdřování“ roztoků čistých enzymů biologicky inaktivními membránami (obr. 1b), jejichž vývoj byl stimulován terapeutickým použitím enzymů.

**Zakotvení buněk na částice ve vodě nerozpustných nosičů.** Podrobnější klasifikace imobilizačních metod této kategorie zhruba ilustruje základní typy použitelných nosičů, což jsou obvykle syntetické nebo přírodní materiály organického i anorganického charakteru [2, 3]. Z hlediska vlastního mechanismu imobilizace je možno metody této kategorie dělit na:

a) Imobilizace fyzikální sorpcí. Z hlediska provedení jde o velmi jednoduché metody, jejichž principem je prostá adsorpce buněk na povrch nosiče (obr. 2a), jehož relief (porozita), fyzikální vlastnosti i velikost částice tento způsob zakotvení umožňují. Obecnou nevýhodou je snadné uvolnění buněk, a to zejména v situacích, kdy získaný preparát je vystaven účinku střížných sil.



Obr. 2 Imobilizace buněk fyzikální (a) a polární (b) adsorpcí, koordinačně kovalentní (c) a kovalentní vazbou (d)

b) Imobilizace fyzikálně chemickou (polární) vazbou. Tyto metody vznikly na základě poznatků o interakci prokaryotních a eukaryotních buněk s ionexy. Afinita buněk k určitému ionexu je především podmíněna charakterem jejího povrchu, přesně obsahem a dostupností těch komponentů („iontová místa“), mezi nimiž a nabitými skupinami nosiče — ionexu dochází k elektrostatické interakci (obr. 2b).

c) Imobilizace koordinačně kovalentní nebo kovalentní vazbou. Příkladem prvního případu je zakotvení buněk do prostředí matrice polymerních hydroxidů  $Zr^{IV}$ ,  $Ti^{III}$ ,  $Ti^{IV}$  (a dalších), přičemž dochází k substituci hydroxylové skupiny zmíněného polymeru určitým ligandem povrchu buňky, což vede k její koordinačně kovalentní vazbě přes atom kovu (obr. 2c). Vzhledem k charakteru distribuce buněk v prostředí anorganického polymeru je tento způsob imobilizace někdy označován jako specifická forma entrapmentu.

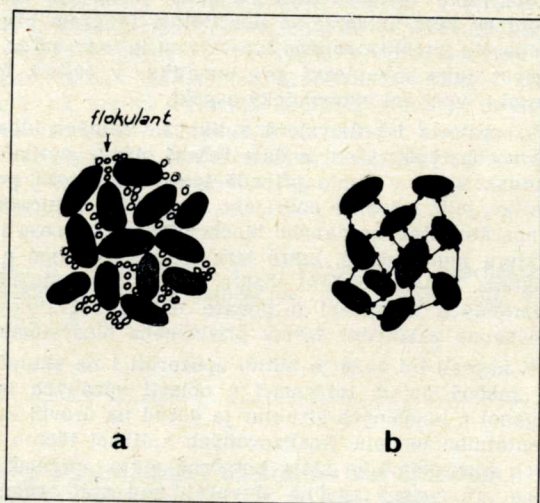
V případě kovalentní imobilizace dochází k zakotvení buňky prostřednictvím obvyklé kovalentní vazby, která vzniká mezi příslušnými reagujícími skupinami, z nichž jedna je součástí nosiče a druhá přirozenou součástí buněčného povrchu (obr. 2d). I v tomto případě jsou však časté určité metodické varianty, které spočívají především v tom, že reagující skupina je situována do opti-



mální vzdálenosti od povrchu nosiče (modifikace nosiče distanční spojkou). Tento krok je obvykle kombinován s použitím další prostorové spojky, což může být např. molekula nebo krátká polymerní forma glutaraldehydu (aktivace nosiče). Je zřejmé, že účinnost těchto imobilizačních technik je vždy závislá na dostupnosti reagující skupiny buněčného povrchu a optimální modifikaci nosiče.

V rámci této kategorie imobilizačních metod je nutno rovněž upozornit na možnost použití odpadních buněčných populací (pivovarské kvasinky, mycelium imperfektních hub) jako potenciálních nosičů jiných buněk (enzymů). Tato tendence je motivována především tím, že povrch jednobuněčného organismu splňuje některé základní požadavky kladené na poměrně drahé nosiče, přičemž použití odpadní biomasy je ekonomicky značně výhodné. Z určitého hlediska lze tyto způsoby uvést do souvislosti s následující kategorií imobilizačních metod.

**Imobilizace bez použití preformovaného nosiče.** Do této kategorie především patří všechny způsoby, které vedou k takovým změnám sedimentačních vlastností biosystémů, které podmiňují jejich snadnější separovatelnost a tím možnost jejich opakovaného použití v široké škále laboratorního i průmyslového uspořádání. Společným principem těchto metod je převedení běžné buněčné populace (popř. jednotlivých organel a buněčných struktur) v buněčné agregáty, což lze dosáhnout následujícími metodami agregace:



Obr. 3 Agregace buněk flokulací (a) a kovalentním zesíťováním (b)

a) **Agregace flokulací.** Buněčný agregát vzniká (obr. 3a) na základě polární interakce povrchových struktur s flokulačním činidlem (iontový polyelektrolyt). Bez dalších úprav se získané agregáty vyznačují poměrně špatnými mechanickými a hydrodynamickými vlastnostmi.

b) **Agregace zesíťováním.** Agregát buněk (buněčných struktur) vzniká reakcí buněčných bílkovin s bifunkčním činidlem (nejčastěji glutaraldehydem), přičemž charakter finálního preparátu lze značně ovlivnit reakčními podmínkami. Vzhledem k inaktivačním účinkům glutaraldehydu je výhodné provést agregaci v prostředí koreagující látky (albumin, polyamin), čímž je pozitivně regulováno zachování žádané biochemické aktivity (obr. 3b).

Uvedený přehled principů imobilizačních metod je v realizaci podstatně rozšířen o řadu možných modifi-

kací, které mohou být na úrovni předúpravy biosystému před imobilizací (fixace intracelulárního obsahu buňky, vzájemná vazba buněk na principu síťování, atd.) nebo v kombinaci jednotlivých imobilizačních technik [4].

### 3. Fyziologické, biochemické a cytologické změny imobilizovaných buněk

Imobilizace celé buňky je přenesení elementární živé soustavy do zcela specifické situace, která vždy ovlivní její biochemickou aktivitu. Účinnost získaného preparátu takto vázaného biokatalyzátoru není však ovlivněna pouze důsledky použití metody imobilizace. Stejně rozhodující jsou i specifické fyziologické a biochemické změny indukované zvoleným způsobem přípravy buněčné populace, která má být imobilizována. Tyto předpoklady postulují, že informace tohoto směru podmiňují vypracování optimálního způsobu přípravy preparátu imobilizovaných buněk. Jinými slovy, informace získané v těchto souvislostech umožňují např. snadnější odhad stability aktivity takto vázaného biokatalyzátoru, nalezení optimální metody permeabilizace nebo modelování takových kultivačních podmínek, které zaručují, že frakce buněk schopných se vázat bude co největší a zakotvené buňky budou nejlépe kompenzovat negativní vlivy metody imobilizace. Je zřejmé, že řešení problematiky imobilizace celých buněk má z těchto hledisek různý význam u různých způsobů imobilizace.

Zmíněné otázky je však možno zatím ilustrovat poměrně malým množstvím výsledků. Publikované informace vycházejí především z transmisní nebo rastrovací elektronové mikroskopie, která dokumentuje morfologické a cytologické změny buněčných populací imobilizovaných jejich zabudováním do prostředí určitého polymeru [5, 6]. V těchto souvislostech je částečně poznán i vliv určitých způsobů permeabilizace.

Výsledky našeho pracoviště ukazují, že vztah mezi účinností připraveného preparátu vázaných buněk a fyziologickým stavem i biochemickou aktivitou buněčné populace v čase její imobilizace lze dobře ilustrovat na experimentálním modelu imobilizace, jejímž principem je kovalentní vazba [8–10]. Studium zmíněných závislostí vychází v tomto případě z předpokladu, že schopnost buňky vázat se kovalentní vazbou bude vždy určena množstvím a dostupností reagujících skupin, které jsou přirozenou součástí komponentů buněčného povrchu a tedy podléhají vlivu všech fyziologických faktorů, které okamžitý stav buněčného povrchu určují. Účinnost této imobilizační metody je např. výrazně změněna deficiencí růstových faktorů, která ovlivňuje cytologii stěny kvasinkových buněk [11, 12]. Vliv způsobu přípravy buněčné populace, která má být kovalentně imobilizována, ilustruje rovněž experiment, ve kterém bylo použito populace kmene *Candida utilis* získané v podmínkách kontinuální kultivace se změnou parciálního tlaku a dodávky kyslíku [13]. Tyto experimentální podmínky teoreticky zaručují, že buněčné populace získané v dosažených ustálených stavech se budou lišit fyziologickým stavem. Zároveň bylo využito, že použité kultivační podmínky indukují tvorbu pseudomycelií. Rastrovací elektronová mikroskopie prokázala, že buňky populací z určitých ustálených stavů jsou zakotveny výhradně v oblasti pólů vzniklých pseudomyceliálních forem [13]. Význam aktuální fyziologie buňky v případě kovalentní imobilizace naznačují rovněž experimenty, kterými byla porovnána účinnost imobilizačních metod v případě populace kvasinkových buněk různých velikostních tříd [14]. Vzhledem k předpokladu, že velikost buňky je ve vztahu k fázi buněčného cyklu, lze předpokládat i významný vliv buněčných chronobiologických změn.

Zmíněné otázky i uvedené experimentální přístupy je-



jich řešení ilustrují zcela specifický aspekt problematiky imobilizace celých buněk, který je zatím možno konfrontovat jen s velmi malým množstvím publikovaných výsledků. Skutečné zvládnutí některých imobilizačních metod a jejich použití však není možné bez poznání vlivu historie buněčné populace, která má být zakotvena, tedy např. vlivu podmínek kultivačních, skladovacích, manipulačních, a to v závislosti na druhu buňky.

V těchto souvislostech je rovněž poměrně málo poznán vliv mikroprostředí vázané buňky na zachování klíčových metabolických procesů a tím i celkové biochemické aktivity buňky. Tato otázka je zejména aktuální v případech značně používaných metod entrapmentu. Uzavření buněk (buněčných struktur) do prostředí polymeru téměř vždy přináší kyslíkovou deficienci, dehydrataci a limitaci v dodávce klíčových komponentů. Vliv těchto faktorů na buněčný metabolismus je zatím poznán jen okrajově [15]. Otevřenou otázkou jsou i možné negativní i pozitivní důsledky vlastního kontaktu nosiče s buněčným povrchem. Z hlediska optimalizace účinnosti připravovaných preparátů je ovšem nutné i poznání mechanismů, kterými vázané biosystémy zmíněné negativní vlivy kompenzují.

#### 4. Imobilizace nemikrobiálních populací a organel

Studium imobilizace mikrobiálních buněk přináší poznatky, které jsou použitelné pro zakotvení nemikrobiálních buněčných populací a organel. V této souvislosti je zatím zakotvení savčí buňky na nosič umělého původu předmětem zájmu především jako způsob její kultivace a studia. Jinými slovy zakotvení savčích buněk s charakteristickou „anchorage-dependent“ umožňuje nejen jejich přípravu, ale i studium jejich buněčných struktur, funkce a diferenciace včetně produkce buněčných komponentů s biologickou aktivitou [16].

Naproti tomu zájem o zakotvení rostlinné buňky bude pravděpodobně v budoucnosti motivován výhradně jejím značným biosyntetickým a biotransformačním potenciálem. Vázaná rostlinná buňka by v tomto případě mohla do jisté míry nahradit dosud používané kultury rostlinných buněk [17, 18] a vyřešit jejich některé technologické problémy [19]. Obecně lze předpokládat, že principy imobilizačních metod zůstanou i v případě rostlinné buňky přibližně stejné. Výrazně odlišná velikost rostlinné buňky, rozdíl ve stavbě a složení buněčných povrchů a skutečnost, že kultury rostlinných buněk obsahují ve většině případů i velké frakce buněčných agregátů, kladou zcela specifické požadavky na velikost a úpravy povrchů použitých nosičů. Možnost průmyslového použití preparátů vázaných rostlinných buněk vyžaduje ovšem i dokonalé poznání příslušné biochemické aktivity rostlinné buňky, a to zejména z hlediska všech faktorů, které je mohou během přípravy a použití její imobilizované formy ovlivnit. Tyto otázky se netýkají pouze biosyntézy významných sekundárních metabolitů, ale i produkce enzymů, inhibitorů rostlinných virů, alergenů a antibiotik rostlinného původu. Podobně jako v případě imobilizovaných mikrobiálních populací budou vlastnosti preparátů imobilizovaných rostlinných buněk do značné míry ovlivněny i historií buněčné populace, která byla imobilizována. V těchto souvislostech je poznání zcela specifických vlivů (fotoperioda, prekursor, rostlinné hormony a regulátory růstu) aktuální nejen pro modelování podmínek přípravy optimální buněčné populace, ale i pro modelování prostředí, ve kterém bude preparát imobilizovaných buněk používán. Je samozřejmé, že součástí vývoje celé této problematiky bude i cílená příprava optimálních klonů rostlinné buňky využívající moderní metody hybridizace a genové manipulace včetně selekce [20, 21]. Úspěšná aplikace preparátů imobilizovaných rostlinných buněk je však podmíněna i nalezením

vhodných metod jejich permeabilizace [22]. Stručně shrnuto, další vývoj této problematiky bude pravděpodobně jen zčásti záviset na vývoji vlastních imobilizačních technik, specificky použitelných pro nemikrobiální populace. Tuto skutečnost naznačuje i přehled zatím několika popsaných případů [10, 23].

Uvedené otázky do jisté míry charakterizují i problematiku imobilizace buněčných organel a struktur, kterou lze zatím ilustrovat popsány případy imobilizace mitochondrií [24], peroxisomů [25] a fotosyntetických membrán chloroplastů [26–28]. I když v těchto souvislostech byla experimentální práce motivována především otázkami bioenergetickými, je perspektiva využití těchto vázaných biosystémů podložena mnohem širší biochemickou aktivitou organel a buněčných struktur.

#### 5. Závěr

Přehled základních aspektů dané problematiky lze doplnit upozorněním na některé skutečnosti, které jsou nedílnou součástí přípravy preparátů vázaného biosystému. Především je to výběr biosystému, jeho izolace a příprava. Řešení těchto otázek je obvykle neoddelitelné od volby imobilizační metody. Veškeré manipulace jsou v tomto směru podřízeny požadavkům, které souvisejí s biochemickou aktivitou připravovaného preparátu. V tomto směru je především nutné vycházet ze zamýšlené aplikace vázaného biosystému. Toto kritérium by mělo zejména ovlivnit volbu imobilizační metody. V této souvislosti je nutné si uvědomit, že obecně neexistuje ideální imobilizační metoda, podobně jako neexistuje metoda, která by byla univerzálně použitelná. Program přípravy preparátů imobilizovaného biosystému je tedy nutno vždy chápat jako komplexní problematiku, v jejímž řešení nesmí chybět ani ekonomický aspekt.

Laboratorní i průmyslová aplikace vázaných biosystémů všech typů vyžaduje dále řešení otázky optimálního bioreaktoru. I v tomto případě jde o komplexní problematiku, jejíž řešení je podřízeno charakteru připraveného preparátu, kinetice daného biochemického procesu i charakteru komponentů, které jsou jeho substrátem a produktem. Úspěšné řešení těchto otázek není možné bez podrobných informací o povaze nosiče i fyziologie a biochemie zakotvené formy příslušného biosystému.

V neposlední řadě je nutno upozornit i na skutečnost, že značný objem informací v oblasti vázaných buněk, organel a buněčných struktur je dosud na úrovni experimentálního modelu. Realizovaných aplikací těchto vázaných biosystémů je stále poměrně málo, přičemž aplikace průmyslové značně převažují nad aplikacemi bioanalytickými a terapeutickými.

#### Literatura

- [1] COSTERTON, J. W., GEESEY, G. G., CHENG, K. J.: *Scientific American* **238**, 1978, s. 85
- [2] KOLOT, F. B.: *Proc. Biochem.* **16**, 1981, s. 2
- [3] KOLOT, F. B.: *Proc. Biochem.* **16**, 1981, s. 30
- [4] VOJTÍŠEK, V., JIRKŮ, V.: *Folia Microbiol.* (v tisku)
- [5] GARDE, V. L., THOMASSET, B., BARBOTIN, J. N.: *Enzyme Microb. Technol.* **3**, 1981, s. 216
- [6] KOSHCHEENKO, K. A., SUKHOLOLSKAYA, G. V., TYURIN, V. S., SKRYABIN, G. K.: *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **12**, 1981, s. 161
- [7] HOBOT, J. A., FELIX, H. R., KELLENBERGER, E.: *FEMS Microbiol. Letters* **13**, 1982, s. 57
- [8] JIRKŮ, V., TURKOVÁ, J., KUCHYNKOVÁ, A., KRUMPHANZL, V.: *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **6**, 1979, s. 217
- [9] GULAYA, V. E., TURKOVÁ, J., JIRKŮ, V., FRYDRYCHOVÁ, A., ČOUPEK, J., ANANCHENKO, S. N.: *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **8**, 1979, s. 43
- [10] JIRKŮ, V., MACEK, T., VANĚK, T., KRUMPHANZL, V., KUBÁNEK, V.: *Biotechnol. Letters* **3**, 1981, s. 447
- [11] JIRKŮ, V., LUDVÍK, J., ČEJKOVÁ, A., KRUMPHANZL, V.: *Z. Allg. Mikrobiol.* **22**, 1982, s. 389
- [12] ČEJKOVÁ, A.: Kandidátská d'zertační práce, VŠCHT-Praha, 1981



- [13] JIRKŮ, V.: V Imobilizované buňky: Metody a použití (ed. A. Prokop, B. Sýkta) Čs. společnost mikrobiologická při CSAV, 1981, s. 57
- [14] HUŇKOVÁ, Z., JIRKŮ, V.: Dosud nepublikováno
- [15] MATTIASSEN, B., HAHN-HÄGERDAL, B.: *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **16**, 1982, s. 52
- [16] HITENSTEIN, M., CLARK, J.: v *Tissue Culture in Medical Research* (ed. R. J. Richards, K. T. Rajan) Vol. **2**, 1980, s. 97
- [17] SHARGOOL, P. D.: *Appl. Biochem. Biotechnol.* **7**, 1982, s. 239
- [18] KURZ, W. G., CONSTABEL, F.: *Adv. Appl. Microbiol.* **25**, 1979, s. 209
- [19] TANAKA, H.: *Biotechnol. Bioeng.* **23**, 1981, s. 1203
- [20] ZENK, M. H., EL-SHAGAI, H., SCHULTE, U.: *Planta Med. Suppl.* **25**, 1975, s. 79
- [21] ZENK, M. H., EL-SHAGAI, H., ARENS, H., STÖCKIGT, J., WEILER, E. W., DEUS, B.: v *Plant Tissue Culture and Its Biotechnological Application* (ed. W. Barz, E. Reinhard, M. H. Zenk) 1977, s. 27
- [22] FELIX, H., BRODELIUS, P., MOSBACH, K.: *Analyt. Biochem.* **116**, 1981, s. 462
- [23] BRODELIUS, P., MOSBACH, K.: *App. Biochem. Biotechnol.* **7**, 1982, s. 31
- [24] TANAKA, A., HAGI, N., GELLF, G., FUKUI, S.: *Agric. Biol. Chem.* **44**, 1980, s. 2399
- [25] TANAKA, A., YOSUHARA, S., GELLF, G., OSUMI, H., FUKUI, S.: *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **5**, 1978, s. 117
- [26] PAPAGEORGIOU, G. C.: v *Photosynthesis in relation to model systems* (ed. J. Barber) 1979, s. 212
- [27] KIERSTAN, M., BUCKE, C.: *Biotechnol. Bioeng.* **19**, 1977, s. 387
- [28] COCQUEMOT, M. F., THOMASSET, B., BARBOTIN, J. N., GELLF, G., THOMAS, D.: *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **11**, 1981, s. 193

Jirků, V., Basařová, G.: **Vývoj a perspektivy imobilizovaných biosystémů.** *Kvas. prům.*, **30**, 1984, č. 3, s. 59—63.

Problematika imobilizace velkých biosystémů prošla rychlým vývojem v minulých deseti letech. V této souvislosti je článek stručným úvodem do experimentálních a teoretických poznatků. Po úvodu do problematiky je zařazena diskuse základních aspektů imobilizace biosystémů, na kterou navazuje kapitola, která je úvodem do imobilizačních technik. Článek rovněž zahrnuje přehled fyziologických, biochemických a cytologických změn vázaných biosystémů a přehled vázaných nemikrobiálních populací.

Иирку, В., Басаржова, Г.: **Развитие и перспективы иммобилизованных биосистем.** *Квас. прум.* **30**, 1984 № 3, стр. 59—63.

Проблематика иммобилизации больших биосистем проделала быстрое развитие в течение прошлых десяти лет. В связи с тем настоящая статья является введением в экспериментальные и теоретические сведения. После введения в проблематику включено обсуждение основных аспектов иммобилизации биосистем, которую продолжает глава, являющаяся введением в технику иммобилизации. Статья также содержит обзор физиологических, биохимических и цитологических изменений связанных биосистем и обзор связанных немикробных популяций.

Jirků, V. - Basařová, G.: **Development and prospects of immobilized biosystems.** *Kvas. prům.*, **30**, 1984, No. 3, pp. 59—63.

Immobilization of large biosystems has been expanding at a rapid rate for nearly a decade. In this connection, the article is a comprehensive introduction into experimental and theoretical developments. Several topics reviewed here proceeds from an introduction to the discussion of basic aspects of biosystems immobilization to the chapter introducing immobilization techniques. The article also includes a survey of physiological, biochemical and cytological alterations of immobilized cells and organelles as well as an overview of the immobilized non-microbial populations.

Jirků, V. - Basařová, G.: **Die Entwicklung und die Perspektiven der immobilisierten Biosysteme.** *Kvas. prům.* **30**, 1984, Nr. 3, S. 59—63.

Die Problematik der Immobilisierung großer Biosysteme unterlag in den letzten 10 Jahren einer schnellen Entwicklung. In diesem Zusammenhang stellt der Artikel eine zusammenfassende Einführung in die experimentellen und theoretischen Erkenntnisse dar. Nach der Einführung in die Problematik werden die Grundaspekte der Immobilisierung der Biosysteme diskutiert und das weitere Kapitel ist den Immobilisierungstechniken gewidmet. Der Artikel enthält auch eine Übersicht der physiologischen, biochemischen und cytolytischen Änderungen der gebundenen Biosysteme und eine Übersicht der gebundenen nichtmikrobiellen Populationen.

## Pokus s kontinuítým ošetrením vín chladom systémom CRYSTAL-FLOW, ALFA-LAVAL

Zariadenie CRYSTAL-FLOW pracuje kontinuítne, automaticky bez mechanických problémov. Inštalácia je domyselná, regulácia, čistenie a dezinfekcia sú ľahké. Ošetrovanie vína proti kryštalickým zákalom zariadením CRYSTAL-FLOW umožňuje citeľne znížiť obsah hydrogenvínanu draselného. Pomocou centrifúgy možno odseparovať vytvorené kryštálky, ktoré recyklačnou injekciou do prietoku vína pred ošetrením umožňujú rýchlejšiu a účinnejšiu kryštalizáciu hydrogenvínanu draselného.

Vína po ošetrení uvedeným zariadením zostávajú prakticky stabilné po dobu 2 mesiacov pri teplote  $-4$  až  $-5^{\circ}\text{C}$  aj po zvýšení obsahu alkoholu o 1 obj. %. Vedľajším efektom ošetrovania je mierne zlepšenie filtrovateľnosti, pri čom sa neprejavujú ani prípadné chuťové zmeny, ktoré by sa mohli pripísať tomuto spôsobu ošetrovania vína.

BLOUIN, J., JESENNE, A.: Essai d'un appareil de traitement des vins par le froid en continu. (Système CRYSTAL-FLOW, ALFA-LAVAL). *Connaissance Vigne vin* **17**, 1983, č. 2, s. 137—150.

Minárik

## Rakúske pivovárníctvo v roku 1982

Pivo je v Rakúsku naďalej vedúcim nápojom. So špecifickou spotrebou 108 l na jedného obyvateľa sa zaraďujú Rakúšania medzi najsilnejších konzumentov piva. 50 pivovárnických podnikov vyrobilo v 57 výrobných v roku 1982 827,8 miliónov litrov piva, čo predstavuje obrát cca 7 miliárd šilingov. Na priamych daniach odvedli rakúske pivovary približne 1 miliardu šilingov a daň z obrátu činila 6,4 miliárd. Pivovary zamestnávali v roku 1982 okolo 7000 pracovníkov. V roku 1982 vykúpili rakúske pivovary od pestovateľov všetok sladovateľný jačmeň v hodnote cca 600 miliónov šilingov a všetok chmeľ domácej proveniencie (Leutschach, Mühlviertel). Domáci pestovatelia chmeľu dostávajú za svoj výrobok cenu, ktorá je o 10 % vyššia než ceny importovaných chmeľov. Tým podporujú pivovary záujem o pestovanie domáceho chmeľu. Významným odberateľom sú pivovary pre sklárne (pivovary majú na skládkach cca 100 miliónov fliaš), a výrobcov oceľových a hliníkových sudov. Tým sa stávajú rakúske pivovary významným hospodárskym činiteľom.

Redakčný článok, Mitteilungen, **37**, 1983, s. 86

Hudec