

Vliv některých tukových nebo steroidních látek na syntézu ergosterolu u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*

663.2 579

Ing. JIŘINA PÁSKOVÁ, CSc., Ing. BOHUMIL ŠPAČEK, CSc., Výzkumný ústav koncernu Konzervárny a lihovary, Praha, Ing. JAROSLAV LIST, CSc., Výzkumný ústav tukového průmyslu, Ústí nad Labem

Klíčová slova: kvasinka, *Saccharomyces cerevisiae*, ergosterol, syntéza, lipidy, steroidy, melasa, kyselina palmitová, kyselina linolenová, kyselina stearová

1. ÚVOD

Ergosterol a 24(28)dehydroergosterol jsou nejvíce zastoupenými steroly v buněčných stěnách a funkčních membránách pekařské kvasinky *S. cerevisiae* jako jejich přirozené strukturální složky. Pro relativně vysoký obsah steroidních látek v sušině buněk se kvasničná biomasa průmyslově využívá jako surovina k výrobě vitamínu D₂-kalciferolu fotoizomerací ergosterolu. Z hlediska ekonomiky izolačního postupu je žádoucí, aby měla kvasničná biomasa co nejvyšší obsah ergosterolu.

Podle údajů v literatuře mají podstatný vliv na růst a dobrý vývoj kvasinek nenasycené mastné kyseliny. P. R. Starr a L. W. Parks (1972) a M. Boll et al. (1976) zaznamenali zvýšenou syntézu ergosterolu po přidání malého množství kyseliny olejové nebo linolenové k anaerobně rostoucí kultuře *S. cerevisiae*. R. D. Gálková (1981) vyvolala přidavkem kyseliny olejové v množství 1 mg na 1 ml živného média u aerobní kultury *S. cerevisiae* zvýšení obsahu volných sterolů a snížení obsahu esterifikovaných sterolů. G. T. Taylor (1979), T. M. Buttke et al. (1980) použili jako zdroj nenasycených mastných kyselin Tween 80 ke zvýšení syntézy ergosterolu. I když podle názoru některých autorů (T. M. Buttke et al. 1980, J. Calderbank et al., 1984) není prozatím přesná úloha sterolů v metabolismu kvasinek dostatečně známa, byla vyslovena domněnka, že existuje souvislost mezi sterolovou strukturou membrán, složením mastných kyselin fosfolipidů a aktivitou transportního mechanismu buněčných membrán.

Je známo, že ergosterol u *S. cerevisiae* nemůže být syntetizován v nepřítomnosti kyslíku a alespoň stopového množství sterolů a kyseliny olejové (P. R. Starr a L. W. Parks, 1972). Indukci syntézy ergosterolu u aerobní kultury *S. cerevisiae* v přítomnosti ergosterolu, lanosterolu nebo cholesterolu popsali M. Boll et al. (1976). T. M. Buttke et al. (1980) studovali v aerobní kultuře *S. cerevisiae* schopnost inkorporace nenasycených mastných kyselin do fosfolipidů v přítomnosti cholesterolu, dehydrocholesterolu, ergosterolu, stigmasterolu nebo β -sitosterolu jako zdroje sterolů.

Na podkladě těchto poznatků z literatury jsme usoudili, že by bylo možno některé látky, vznikající jako vedlejší produkty nebo meziprodukty při průmyslovém zpracování a rafinaci jedlých tuků, použít jako prekurzory pro syntézu ergosterolu buňkami *S. cerevisiae*.

2. MATERIÁL A METODY

Mikroorganismus: *S. cerevisiae*, kmeny KBD nebo A₂₂, uchovávané na šikmém agaru pod vrstvou sterilního parafinového oleje při +5 °C.

Indukční melasová půda: 100 g řepné melasy (55 % veškerých cukrů) + 5 g corn-steepu (50 % sušiny) + 0,6 g (NH₄)₂HPO₄ + 0,5 g K₂HPO₄ + 0,05 % MgSO₄ doplněno vodovodní vodou na objem 1000 ml, pH upraveno na 7,0 (NaOH), zahříváno po dobu 5 minut na teplotu 100 °C a zfiltrováno přes vrstvu křemeliny.

Submerzní kultivace na třepačce: 500 ml baňky, plněné 100 ml sterilní melasové půdy, byly naočkovány 10 ml inokula s obsahem asi 100 mg sušiny buněk a kultivovány ve dvou stupních na rotačním třepacím stroji s frekvencí otáček 4 s⁻¹ a s průměrem výstředníku 55 mm. Kultivace I. stupně probíhala 24 h a II. stupně 44 h při teplotě 30 °C. Od každé sledované varianty byly kultivovány 3 paralelní baňky.

Kultivace ve čtvrtprovozním měřítku: ve fermentoru CHEMAP, plněném 50 l indukční melasové půdy a naočkované čerstvě zkulturnovanou biomasou v množství 1 g sušiny buněk na 1 litr kultivačního média, při aeraci 30 l sterilního vzduchu za minutu, frekvenci míchadla 8,3 otáčky.s⁻¹ a kultivační teplotě 30 °C.

Analytické sledování: sušina biomasy byla stanovována vázkově u promytých buněk na přístroji Ultra X, obsah celkových sterolů Liebermann-Burchardovou kolorimetrickou metodou při vlnové délce 660 nm, obsah všech 5,7-nenasycených sterolů spektrofotometricky v UV-oblasti při vlnové délce $\lambda = 282$ nm na přístroji Speecord UV-VIS, obsah ergosta — 5,7,22,24(28)-tetraen-3- β -olu(dehydroergosterolu) při vlnové délce = 230 nm a z jejich rozdílu vypočteno procento ergosterolu v sušině biomasy.

3. VÝSLEDKY

3.1. Biosyntéza ergosterolu a nárůst kvasničné biomasy v melasovém živném médiu obohaceném potravinářskými tuky

Za předpokladu, že jsou buňky *S. cerevisiae* vybaveny enzymy, schopnými štěpit tuky na volné mastné kyseliny a glycerol, přidávali jsme pokusně do živného média některé jedlé tuky v množství 5 g na 1 litr melasové půdy před její sterilizací. Po kultivaci na třepačce jsme sledovali množství narostlé biomasy a kvantitativní zastoupení syntetizovaných sterolů.

Výsledky v tabulce 1 ukazují, že obohacením živného melasového média přidavkem 0,5 % živočišného nebo rostlinného tuku se zvyšoval nárůst sušiny biomasy a syntéza Δ 5,7sterolů a ergosterolu, takže jeho podíl ve směsi sterolů se zvýšil. Celkové zvýšení teoretického výtěžku ergosterolu z jednotky fermentačního objemu bylo asi 20 až 40 % v závislosti na použitém druhu tuku.

Vliv přidavku slunečnicového oleje byl ještě ověřen

Tabulka 1. Vliv přidavku 0,5 % jedlého tuku na růst biomasy a složení sterolů

Použitý tuk	Suš. biomasy g . l ⁻¹	Obsah sterolů v sušině kvasničné biomasy					mg E z 1000 ml
		% Δ 5,7	% D	% E	E/ Δ 5,7		
0 (kontrola)	11,0	3,07	0,97	2,10	68		231
vepřové sádlo	12,8	3,35	0,83	2,52	75		324
slunečnicový olej	11,2	3,47	0,93	2,54	73		284
sójový olej	11,9	3,31	0,85	2,46	74		292
řepkový olej rafinovaný	11,6	3,26	0,86	2,40	74		278

Δ 5,7 — steroly Δ 5,7 dienového kruhu

D — dehydroergosterol

E — ergosterol

E/ Δ 5,7 — procentní poměr ergosterolu ve směsi sterolů Δ 5,7 dienového kruhu

Tabulka 2. Kultivace *S. cerevisiae* s přidavkem 0,2 % slunečnicového oleje v 50 l fermentoru

Obsah slunečnicového oleje	Sušina biomasy [g . l ⁻¹]	Celkové steroly [%]	% Δ 5,7	% D	% E	E/ Δ 5,7	mg E z 1000 ml
0	13,4	5,27	3,44	0,98	2,46	72	330
0,2	14,6	5,34	4,0	0,94	3,06	77	447

kultivací v 50 l fermentoru CHEMAP s použitím kultury *S. cerevisiae* A₂₂. Jak je zřejmé z výsledků uvedených v tabulce 2, vyvolal přidavek 0,2 % slunečnicového oleje do živného média zvýšení syntézy ergosterolu na hodnotu převyšující 3 % sušiny biomasy, zvýšil jeho podíl ve směsi syntézovaných $\Delta 5,7$ sterolů a teoretický výtěžek z jednotky fermentačního objemu o 35 %.

3.2. Biosyntéza ergosterolu v přítomnosti 0,1 % volných mastných kyselin

Ve snaze ověřit si, do jaké míry ovlivňují jednotlivé komponenty běžných potravinářských tuků syntézu ergosterolu u *S. cerevisiae*, byl v podmínkách laboratorní kultivace v třepačce sledován vliv přidavku 0,1 % jednotlivých mastných kyselin do melasové půdy. Výsledky pokusu, shrnuté do tabulky 3, dokumentují, že přidavkem mastných kyselin do živného média v množství 0,1 % se

Tabulka 3. Vliv přidavku 0,1 % mastných kyselin do živného média *S. cerevisiae* na růst biomasy a syntézu sterolů

Mastná kyselina	Sušina biomasy [g.l ⁻¹]	Celkové steroly	% $\Delta 5,7$	% D	% E	E/ $\Delta 5,7$	mg E z 1000 ml
0 (kontrola)	10,3	4,25	3,00	0,85	2,15	72	222
linolová	10,5	4,5	3,38	0,79	2,49	76	261
linolenová	10,5	4,9	3,89	1,15	2,74	70	288
olejová	11,5	4,6	2,76	0,55	2,21	80	254
palmitová	11,2	4,1	3,00	0,98	2,02	67	227
stearová	9,75	4,5	3,52	1,33	2,19	62	214
laurová	9,75	2,7	2,06	0,31	1,75	85	171
0,1% glycerolu	10,5	4,3	3,10	0,85	2,25	73	219

ve většině případů mírně zvýšil nárůst biomasy a syntézu sterolů, zejména ergosterolu. Zvýšení celkového teoretického výtěžku z litru fermentačního média se pohybovalo v rozmezí 15 až 30 %. Přidavkem kyseliny laurové se silně snížila syntéza celkových sterolů, avšak zároveň byla potlačena i syntéza balastního dehydroergosterolu (D), takže celkový výtěžek ergosterolu byl sice nižší ve srovnání s kontrolou, ale podstatně se zvýšil jeho podíl ve směsi syntézovaných sterolů (E/ $\Delta 5,7$). Přidavek kyseliny palmíkové nebo stearové zvýšil syntézu $\Delta 5,7$ sterolů, avšak zároveň zvýšil i syntézu dehydroergosterolu, takže se hodnota syntézovaného ergosterolu z jednotky fermentačního objemu sice nezměnila, ale velmi se zhoršil podíl ergosterolu ve směsi všech $\Delta 5,7$ sterolů. Pokusně přidány glycerol jakožto konstantní složka všech tuků neměl téměř žádný vliv ani na nárůst sušiny biomasy, ani na syntézu ergosterolu.

3.3. Působení povrchově aktivních látek na tvorbu biomasy a biosyntézu steroidních látek

Z dalších látek, které by mohly příznivě ovlivnit výtěžky ergosterolu z kvasničné biomasy svým obsahem mastných kyselin, byl sledován vliv některých látek, zahrnovaných do kategorie povrchově aktivních látek, které se používají v biotechnologii buď jako smáčedla, nebo jako protipěnidla. Všechny testované látky příznivě ovlivnily biosyntézu ergosterolu (tabulka 4).

Tabulka 4. Vliv přidavku povrchově aktivních látek do kultivačního média na biosyntézu ergosterolu

Aktivní složka	Sušina biomasy [g.l ⁻¹]	% $\Delta 5,7$	% D	% E	E/ $\Delta 5,7$	mg E z 1000 ml
0 (kontrola)	11,0	2,77	1,25	1,52	55	167
0,01% Tween 80	10,7	2,91	1,28	1,63	56	174
0,2% Struktol	11,2	2,81	0,75	2,08	73	231
0,2% Contramin	11,2	2,72	0,62	2,10	77	231
0,2% zmýdlené vepřové sádlo	11,5	2,80	0,88	1,92	69	221

3.4. Biosyntéza ergosterolu v melasovém médiu, obohačeném deriváty řepkového oleje

Při průmyslové výrobě a rafinaci bezerukového řepkového oleje vzniká řada meziproduktů a vedlejších látek, jejichž značný podíl tvoří volné mastné kyseliny. V některých těchto produktech jsou zkoncentrovány i fyto-steroly z řepky olejné.

Rafinační mastné kyseliny neštěpené vznikají jako vedlejší produkt při rafinaci řepkového oleje a obsahují asi 50 % volných mastných kyselin, z toho 53 % kyseliny olejové, 25 % linolové, 5 % linolenové a menší podíly dalších mastných kyselin (palmitová, stearová). Zbytek tvoří neutrální triglyceridy. Rafinační mastné kyseliny štěpené mají obdobné složení, jen podíl volných mastných kyselin je vyšší (triglyceridy jsou většinou rozštěpeny). Olein II (řepkový) — vzniká destilací rafinačních mastných kyselin a je to technická kyselina olejová s příměsí 15–20 % kyseliny linolové a 5–10 % kyseliny linolenové.

Jednotlivé sledované deriváty řepkového oleje byly přidávány do fermentačních baněk před jejich sterilací v množství 0,5 ml na 100 ml melasového média a baňky kultivovány obvyklým způsobem v třepačce. Všechny sledované meziprodukty zpracování řepkového oleje výrazně zvyšovaly biosyntézu ergosterolu a příznivě působily na tvorbu sušiny kvasničné biomasy (tabulka 5).

Tabulka 5. Vliv přidavku 0,5 % frakce řepkového oleje na biosyntézu ergosterolu

Frakce řepkového oleje	Sušina biomasy [g.l ⁻¹]	Celkové steroly [%]	Obsah sterolů v sušině biomasy				mg E z 1000 ml
			% $\Delta 5,7$	% D	% E	E/ $\Delta 5,7$	
0 (kontrola)	11,1	4,4	3,01	0,96	2,05	68	228
řepkový olej rafinovaný	11,6	6,3	3,26	0,86	2,40	70	278
řepkový olej lisovaný 00	11,5	3,7	2,89	0,62	2,29	74	261
rafinační mastné kyseliny neštěpené	12,8	5,6	4,70	1,46	3,24	69	415
rafinační mastné kyseliny štěpené	11,5	5,2	4,28	1,37	2,91	68	335
olein II	11,5	4,8	3,98	1,18	2,78	70	320

Tabulka 6. Vliv koncentrace rafinačních mastných kyselin neštěpených v živném médiu na nárůst sušiny biomasy a na obsah sterolů

Přidavek rafinačních mastných kyselin	Sušina biomasy [g.l ⁻¹]	Celkové steroly [%]	Obsah sterolů v sušině biomasy				mg E z 1000 ml
			% $\Delta 5,7$	% D	% E	E/ $\Delta 5,7$	
0 (kontrola)	8,75	2,61	2,70	0,57	2,13	79	186
0,1 %	8,75	2,83	2,95	0,52	2,43	82	213
0,3 %	9,75	3,63	3,84	0,85	2,99	78	292
0,5 %	9,75	3,85	3,97	0,86	3,11	76	303
0,7 %	10,0	3,71	3,67	0,88	2,79	78	279
0,9 %	9,75	3,97	3,68	0,86	2,82	77	275

Poněkud netypicky se projevil pouze přidavek surového lisovaného řepkového oleje svým inhibičním účinkem na tvorbu sterolů a zejména balastního dehydroergosterolu, čímž se však podstatně zvýšil podíl ergosterolu ve směsi syntézovaných sterolů. Nejvyšší biosyntéza ergosterolu byla pozorována při kultivaci s přidavkem 0,5 % rafinačních mastných kyselin neštěpených, kdy teoretický výtěžek ergosterolu z jednotky fermentačního objemu stoupl téměř na dvojnásobek.

Výsledky dalšího kultivačního pokusu v třepačce (tabulka 6) dokumentují závislost množství syntézovaného ergosterolu na množství rafinačních mastných kyselin, dodaných do živného melasového média. Pokus znovu potvrdil, že přidavek rafinačních mastných kyselin řepky olejné průkazně zvýšil nejen tvorbu sušiny biomasy, nýbrž především obsah syntézovaných sterolů a ergosterolu v buňkách v závislosti na koncentraci aplikovaných mastných kyselin. Snadná dostupnost této suroviny i poměrně nízká velkoobchodní cena dávají

naději na její použití při provozních fermentacích kvasničné biomasy se zvýšeným obsahem ergosterolu pro jeho průmyslovou výrobu z droždí.

Dalšími produkty, vznikajícími při výrobě řepkového oleje, jsou preparát 183 D₁ a fytosterolový koncentrát CHK₄. Přípravek 183 D₁ je směsí mastných kyselin řepkového oleje, obsahující vedle 75,1 % volných mastných kyselin ještě 4,8 % tokoferolu a 3,1 % fytosterolů. Fytosterolový koncentrát CHK₄ obsahuje 81,4 % celkových sterolů, z toho 47,9 % sitosterolu, 15,8 % kampesterolu, 13,8 % stigmasterolu, 2,1 % brassicasterolu, 0,8 % cholesterolu a 1 % dalších steroidních látek. Obě složky byly přidány do melasového živného média před jeho sterilací — preparát CHK₄ napřed rozpuštěný v horkém ethanolu. Naočkované baňky se kultivovaly obvyklým způsobem v třepačce.

Tabulka 7. Vliv preparátů obsahujících fytosteroly řepky olejné na syntézu sterolů u *S. cerevisiae*

Fytosterolová složka	Sušina biomasy [g.l ⁻¹]	Obsah sterolů v sušině biomasy				mg E z 1000 ml
		% Δ 5,7	% D	% E	E/Δ 5,7	
0 (kontrola)	9,7	4,37	1,71	2,66	66	253
0,2 % 183 D ₁	10,9	4,42	1,10	3,32	75	362
0,1 % CHK ₄	9,9	4,26	1,29	2,97	70	294

Jak je patrné z výsledků uvedených v tabulce 7, měly oba preparáty obsahující fytosteroly pozitivní účinek na syntézu sterolových sloučenin a na složení syntézovaných sterolů. Obsah balastního dehydroergosterolu byl v obou případech silně potlačen, takže se koncentrace ergosterolu v buňkách a především jeho podíl ve směsi Δ 5,7sterolů výrazně zvýšily.

Lektoroval Ing. Jiří Uher, CSc.

Literatura

- [1] BĚHALOVÁ, B.: Využití *Saccharomyces cerevisiae* pro výrobu kvasničného autolyzátu a ergosterolu. 1983, MBÚČSAV, Kandidátská disertační práce
- [2] BOLL, M., LÖWEL, M., BERNDT, J. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **357**, 1976, s. 252
- [3] BUTTKE, T. M., JONES, S. D., BLOCH, K.: J. of Bacteriology, **144**, 1980, s. 124
- [4] CALDERBANK, J., KEENAN, M. H. L., ROSE, A. H., HOLMAN, G. D.: J. Gen. Microbiol. **130**, 1984, s. 2817
- [5] GALCOVA, R. D. VAKINA, I. T.: Mikrobiologija, **59**, 1981, s. 84
- [6] STARR, P. R., PARKS, L. W.: J. of Bacteriology, **109**, 1972, s. 233
- [7] TAYLOR, G. T.: FEMS Microbiology Letters, **6**, 1979, s. 103

Pásková, J. - Špaček, B. - List, J.: Vliv některých tukových nebo steroidních látek na syntézu ergosterolu u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Kvas. prům. **32**, 1986, č. 10, s. 236—239.

Obohacením živného média o 0,5 % vepřového sádla se zvýšil teoretický výtěžek ergosterolu o 40 %. Výrazný vzestup biosyntézy ergosterolu se dosáhl přidáváním slunečnicového, sójového nebo řepkového oleje. Z jednotlivých mastných kyselin příznivě působil přidávek 0,1 % kyseliny linolenové, linolové nebo olejové. Kyseliny palmitová nebo stearová zhoršovaly poměr ergosterolu ve směsi syntézovaných Δ 5,7sterolů. Kyselina laurová potlačovala syntézu Δ 5,7sterolů, avšak i silně snižovala tvorbu balastního 24(28)dehydroergosterolu, takže podíl ergosterolu ve směsi Δ 5,7sterolů se zvýšil. Přidávek protipěnidel Contraminu a Struktolu ovlivnil pozitivně biosyntézu ergosterolu.

S příznivými výsledky byla ověřena účinnost řady meziproduktů a vedlejších produktů průmyslového zpracování a rafinace řepkového oleje s vysokým podílem volných nenasycených kyselin, popř. i rostlinných sterolů. Přidávek 0,5 % preparátu, označeného jako „rafinční mastné kyseliny neštěpené“ s obsahem asi 20 % nenasycených volných mastných kyselin zvyšoval teoretický výtěžek ergosterolu z jednotky fermentačního objemu o 60—80 %. Přidávek preparátů 183 D₁ nebo CHK₄, obsahujících fytosteroly řepky olejné, zvyšoval biosyntézu

sterolových sloučenin a podíl ergosterolu ve směsi syntézovaných Δ 5,7sterolů.

Паскова, И. — Шпачек, Б. — Лист, Я.: Влияние некоторых жировых или стероидных веществ на синтез эргостерола в случае дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Квас. prům. **32**, 1986, № 10, стр. 236—239.

Путем обогачения питательной среды на 0,5 % свиного сала повысился теоретический выход эргостерола на 40 %. Выразительное увеличение биосинтеза эргостерола было достигнуто при помощи добавки подсолнечного, соевого или рапсового масел. Из отдельных жирных кислот благоприятное влияние оказала добавка 0,1 % линоленовой, линоловой, олеиновой кислот. Пальмитиновая, стеариновая кислоты ухудшали отношение эргостерола в смеси синтезированных 5,7sterolов. Лауриновая кислота подавляла синтез 5,7sterolов, однако также сильно понижала образование балластного 24/28/дегидроэргостерола, так что доля эргостерола в смеси 5,7sterolов повысилась. Добавка препятствующих пенообразованию средств Контрамина и Структола оказала на биосинтез эргостерола положительное влияние.

Успешные результаты предоставило исследование деятельности ряда промежуточных продуктов и побочных продуктов промышленной переработки и очистки рапсового масла с высокой долей свободных ненасыщенных жирных кислот, или же и растительных sterolов. Добавка 0,5 % препарата, обозначенного как «рафинационные жирные кислоты нерасщепленные» с содержанием около 20 % ненасыщенных свободных жирных кислот, повышала теоретический выход эргостерола из единицы ферментационного объема на 60—80 %. Добавка препаратов 183 D₁ или CHK₄, содержащих фитостеролы сурепицы, повышала объем биосинтеза sterольных соединений и долю эргостерола в смеси синтезированных 5,7sterolов.

Pásková, J. - Špaček, B. - List, J.: Effect of Some Lipid or Steroid Compounds on Synthesis of Ergosterol with the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Kvas. prům. **32**, 1986, No. 10, pp. 236—239.

The theoretical yield of ergosterol was increased by 40 % when the growth medium was enriched by 0,5 % of lard. A significant increase of the ergosterol biosynthesis was achieved by the addition of sunflower-seed, soybean or rape-seed oils. From the individual fatty acids the positive effect had an addition of 0,1 % of linolenic, linoleic or oleic acids. The addition of palmitic and stearic acids resulted in the worse ratio of ergosterol in the mixture of Δ 5,7 sterols. Lauric acid inhibited the synthesis of Δ 5,7 sterols but also strongly decreased the formation of 24/28 dehydroergosterol, so the fraction of ergosterol in the mixture of Δ 5,7 sterols increased. The addition of antifoams Contramin and Struktol had a positive effect on the ergosterol biosynthesis. In addition, this positive effect was also found with several intermediates and byproducts of the rape-seed oil processing. Using these intermediates in the quantity of 0,5 % the theoretical yield of ergosterol increased. The addition of antifoams Contramin and fermenter. The addition of preparates 183 D₁ or CHK₄ with phytosterols of rape resulted in the higher biosynthesis of sterol compounds as well as in the higher ergosterol fraction in the mixture of Δ 5,7 sterols.

Pásková, J. - Špaček, B. - List, J.: Einfluß einiger Fett- oder Steroidstoffe auf die Ergosterolsynthese bei der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*. Kvas. prům. **32**, 1986, Nr. 10, S. 236—239.

In dem durch 0,5 % Schweinefett bereichertem Nährmedium erhöhte sich die theoretische Ergosterolausbeute um 40 %. Ein markanter Anstieg der Ergosterol-Biosynthese wurde durch die Zugabe von Sonnenblumen-, Soja- oder Rapsöl erzielt. Unter den einzelnen Fettsäuren wirkte sich positiv die Zugabe von 0,1 % Linolen-, Linol- oder Ölsäure aus. Die Palmit- oder Stearsäuren verschlechterten das Ergosterolverhältnis in dem Gemisch der synthetisierten Δ 5,7 Sterole. Die Laurinsäure inhibierte die Synthese der Δ 5,7 Sterole, aber vermin-

derte auch stark die Bildung des ballasten 24/28/Dehydroergosterols, sodaß sich der Ergosterolanteil in dem $\Delta 5,7$ Sterolgemisch erhöhte. Die Zugabe der Entschäumungsmittel Contramin und Struktol hatte einen positiven Einfluß auf die Ergosterol-Biosynthese.

Mit positiven Ergebnissen wurde die Wirkung mehrerer Zwischen- und Nebenprodukte der industriellen Verarbeitung und Raffination des Rapsöls mit einem hohen Anteil freier ungesättigter Säuren, bzw. auch

pflanzlicher Sterole erprobt. Die Zugabe eines Präparats, das als „ungespaltete Raffinations-Fettsäuren“, bezeichnet war und ca 20 % nichtgesättigter freier Fettsäuren enthielt, erhöhte die theoretische Ergosterolerausbeute aus der Fermentationsvolumeneinheit um 60—80 %. Die Zugabe der Präparate 183 D₁ oder CHK 4, welche Raps-Fytosterole enthalten, erhöhte die Biosynthese der Sterolverbindungen und den Ergosterol-Anteil im Gemisch der synthetisierten $\Delta 5,7$ Sterole.