

Frakcionácia kvasničnej biomasy

II. Uvoľňovanie cytoplazmatického obsahu buniek pekárskeho droždía

Doc. Ing. ERNEST ŠTURDÍK, CSc., Ing. ROMAN KOLLÁR, Ing. IVAN BERNÁT, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Katedra biochemickej technológie, 812 37 Bratislava
RNDr. MÁRIA MIKULÁŠOVÁ, Ing. JÚLIUS FORSTHOFFER, CSc., Ing. STANISLAV KRČMÁŘ, CSc., Výskumný ústav liehovarov a konzervární, 824 62 Bratislava

Kľúčové slová: *pekárske droždie, frakcionácia biomasy, autolýza kvasiniek, dezintegrácia buniek mikroorganizmov, iniciačné faktory autolýzy, uvoľňovanie cytoplazmatického obsahu, získavanie mikrobiálnych proteínov*

ÚVOD

Využitie kvasničnej biomasy pre získavanie jej intracelulárnych komponentov [1] naráža na problém degradácie veľmi rigidnej bunkovej steny chrániacej žiadaný cytoplazmatický obsah. Z doteraz popísaných techník dezintegrácie kvasiniek sa väčšina využíva na analytické účely, niektoré však možno uplatniť aj v priemyselných podmienkach [2–4].

Metódy mechanickej dezintegrácie sa vyznačujú vysokou efektívnosťou, avšak sú technicky a energeticky veľmi náročné [5–8]. Využitie chemikálií je problematické predovšetkým z hľadiska zdravotného [9]. Pôsobenie exogénnych enzýmov na bunkovú stenu je síce účinné, no cena príslušných preparátov znevýhodňuje ekonomiku procesu [10]. Autolýza, ako metóda uvoľňovania cytoplazmatického obsahu kvasiniek, je efektívna, lacná a technologicky nenáročná [11]. Jej nevýhodou však je dlhá

procesu a s tým spojené riziko bakteriálnej kontaminácie. Pre priemyselné využitie autolýzy je potrebné, aby proces prebehol efektívne do 24 hodín, čo je neľahká úloha. Naša pozornosť v rámci riešenia problematiky frakcionácie droždía sa preto najprv sústredila na nájdenie takých iniciačných faktorov a podmienok autolýzy, aby bola splnená vyššie uvedená požiadavka. Získané poznatky sú zhrnuté v tejto práci.

MATERIÁL A METÓDY

Základnou surovinou pre experimenty bolo lisované pekárske droždie (Potravínársky kombinát, droždiareň, n.p. Trebišov). Používali sme 10%-nú suspenziu kvasiniek, pripravenú z čerstvého expedičného droždía.

Autolytický proces bol u kvasiniek iniciovaný prídavkom etanolu, NaCl a teplotou 50 °C. Ako ďalší doteraz nepopísaný iniciačný faktor bol vy-

skúšaný prídavok kvasničného autolyzátu získaného z predchádzajúceho experimentu.

Experiment bol realizovaný v 250 ml bankách so 100 ml 10%-nej suspenzie droždia. Kombinácia iniciačných faktorov bola zvolená na základe metódy latinského štvorca [12], teda varírovaním troch faktorov (etanol, NaCl, čerstvý autolyzát), na troch koncentračných hladinách, pričom boli realizované všetky kombinácie koncentrácií dvoch faktorov a koncentrácia tretieho faktoru bola priemerne rozložená v schéme experimentu. Realizácia experimentu touto metódou umožnila v závere vyhodnotiť vplyv iniciačných faktorov na priebeh autolýzy analýzou rozptylu. Metóda vychádza z výpočtu priemernej hodnoty merania odchýliek nameraných hodnôt od aritmetického priemeru. Pre každý faktor (etanol, NaCl a kvasničný autolyzát) sa ďalej vypočíta súčet štvorcov odchýliek, po predelení počtom koncentračných hladín (stredný štvorec) a stupňami voľnosti dostávame rozptyl. Podiel rozptylu a reziduálneho rozptylu udáva hodnotu, ktorá slúži v závere na určenie štatistickej významnosti z tabuliek F-testu, pre daný stupeň voľnosti [13]. Etanol sme pridávali k základnej suspenzii v intervale 1–10 % hmot., NaCl 0,1–5 % hmot. a čerstvý (24 h) kvasničný autolyzát v objemovom pomere 10–25 % obj. Banky sme umiestnili na reciprokú trepačku a inkubovali v termostate pri 50 °C, za stáleho miešania. Vzorky sme odoberali po 1, 5, 10, resp. 24 hodinách. Morfológické zmeny buniek v priebehu autolýzy sme sledovali mikroskopicky a stupeň degradácie buniek sme určovali analytickými metódami. Ihneď po odbere sme vzorky spracovali centrifugáciou. Frakcie viazané na stenové štruktúry zostali v sedimente a uvoľnený cytoplazmatický obsah bol distribuovaný do supernatantu, ktorý sme analyzovali čo do obsahu proteínov a nukleových kyselín a podielu uvoľnených proteínov a nukleových kyselín z pôvodného obsahu vo vstupnej surovine. Experimenty s väčším objemom 10%-nej suspenzie droždia (cca 10 l) boli realizované v štvrtprevádzkovom meradle v 100 l fermentore Biolafitte (Francúzsko) za stáleho miešania pri 50 °C. Supernatant bol vysušený v rozprašovacej sušiarňi Niro Atomiser (Dánsko).

Proteíny sme určovali metódou podľa Lowryho et al. [14]. Nukleové kyseliny sme stanovili sumárne (DNA i RNA) spektrofotometricky po opakovanej extrakcii vhodného podielu vzorky kyselinou chloristou, metódou podľa Spirina [15].

Štatistickú významnosť vzájomného vplyvu jednotlivých faktorov na účinnosť autolýzy sme získali metódou faktorového experimentu, teda kombináciou všetkých testovaných iniciačných faktorov, na vybraných koncentračných hladinách. Počet hladín, na ktorých sme menili koncentráciu, resp. objem iniciačných faktorov, sme museli oproti predchádzajúcemu experimentu zredukovať o jednu. Experiment sme teda uskutočnili v rozsahu 2³ faktorového pokusu a bol realizovaný za analogických podmienok ako predchádzajúci.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Účinok vytypovaných iniciačných faktorov na

rýchlosť degradácie bunkových stien sme preverili sledovaním množstva uvoľnených proteínov do supernatantu v priebehu autolýzy, po centrifugácii autolyzátu. K základnej 10%-nej suspenzii droždia sme pridali samostatne 5 % hmot. NaCl, ďalej 5 % hmot. etanolu a nakoniec čerstvý kvasničný autolyzát tvoriaci 15 obj. %. Pre porovnanie sme súčasne so vzorkami inkubovali aj banku so suspenziou droždia bez prídavku iniciačných faktorov (slepý pokus) a do ďalšej sme zase pridali všetky tri iniciátory, t.j. NaCl, etanol i čerstvý aktívny autolyzát. Výsledky sú sumarizované v tabuľke 1.

Tabuľka 1. Podiel proteínov (v %) uvoľnených do supernatantu z pôvodného obsahu vo vstupnej surovine (10% suspenzia droždia), pri rôznych spôsoboch iniciácie autolýzy (5 hmot. % NaCl, 5 hmot. % etanolu, 15 obj. % autolyzátu)

Čas (h)	50 °C	50 °C NaCl	50 °C Etanol	50 °C Autolyzát	50 °C, NaCl Etanol, Autolyzát
1	0,7	0,9	1,9	17,5	18,2
5	4,6	5,6	7,1	26,6	37,2
10	9,0	12,1	16,0	45,3	68,5
24	36,3	46,3	50,9	64,7	78,8

Z hľadiska dezintegrácie najmenšiu účinnosť vykazuje zvýšená teplota (pokus bez prídavku iniciačných faktorov). Aplikáciou NaCl, etanolu i čerstvého aktívneho autolyzátu jednotlivo sa efektivita zvýši, pričom práve čerstvý aktívny autolyzát, vďaka širokej palete obsiahnutých lytických enzýmov, spôsobuje výrazné urýchlenie degradácie bunkovej steny kvasiniek. Kombinácia čerstvého aktívneho autolyzátu s etanolom a NaCl pri danej teplote ešte zrýchli proces autolýzy, takže tento spôsob sa ukázal ako najvýhodnejší.

Po ukončení autolýzy a separácii nerozpustných frakcií centrifugáciou možno supernatant použiť na precipitáciu enzýmu invertázy, resp. celý supernatant finalizovať v rozprašovacej sušiarňi ako kvasničný extrakt. Sediment se dá po nariadení vodou vysušiť v rozprašovacej sušiarňi a použiť ako biosorbent inhibítorov pri kvasení hroznových muštov, alebo sa z neho vyextrahuje lipidická frakcia, ktorá môže byť ďalej rozdelená na nepolárne lipidy (steroly) a polárne lipidy (fosfolipidy). Delipidované bunkové steny sa potom využijú na izoláciu čistých glukánov pre farmaceutické a veterinárne účely. Finalizáciou supernatantu získaného po autolýze iniciovanej kombináciou prídavku NaCl, etanolu a autolyzátu pri 50 °C v rozprašovacej sušiarňi sme však získali produkt, ktorý obsahoval len 35 % proteínov, ale až 50 % popola. Takúto bilanciú samozrejme spôsobilo veľké množstvo NaCl, pridávaného na iniciáciu autolýzy. Rozpustený NaCl sa pri odstreďovaní kvantitatívne premiestni do supernatantu a je „vysprayovaný“ spoločne s proteínmi. Popísaný laboratórny experiment bol v ďalšom realizovaný s väčším objemom vstupnej, 10%-nej suspenzie pekárského droždia (cca 10 l). Takto získané skúsenosti potvrdili predošlé pozorovania a ovplyvnili naše ďalšie pokusy s optimalizáciou autolýzy v laboratórnych podmienkach.

V ďalšom sme sa rozhodli preskúmať, či sa uvoľnenie proteínov signifikantne zníži pri redukcii množstva pridávaného NaCl ako iniciačného faktoru. Sledovanými výstupnými parametrami bola koncentrácia proteínov v supernatante a podiel uvoľnených proteínov z pôvodného obsahu vo vstupnej surovine. Prvý parameter charakterizoval budúci možný produkt, druhý efektívnosť autolýzy. Súčasne so sledovaním proteínov sme v supernatante analyzovali nukleové kyseliny a podiel uvoľnených nukleových kyselín z pôvodného obsahu vo vstupnej surovine. Bielkovinový produkt musí totiž obsahovať len obmedzené množstvo nukleových kyselín, pretože pri ich nadmernom používaní môže dôjsť k zvýšeniu koncentrácie kyseliny močovej v organizme. Kyselina močová sa potom vylučuje v kĺboch, tkanivách, v močovom trakte a vyvoláva rad onemocnení [16].

Tabuľka 2. Kombinácie testovaných iniciačných faktorov autolýzy droždia zostavené na základe metódy „latinského štvorca“

Pokus č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Autolýzát (% obj.)	25	25	25	15	15	15	10	10	10
NaCl (% hmot.)	0,1	2	5	2	5	0,1	5	0,1	2
Etanol (% hmot.)	1	5	10	1	5	10	1	5	10

Iniciačné faktory sme v prvom experimente voľili podľa tabuľky 2, ktorá bola zostavená na základe metódy „latinského štvorca“. Výsledky tohto experimentu sú zhrnuté v tabuľke 3. Usporiadanie experimentu metódou „latinského štvorca“ umožňuje vyhodnotiť vplyv koncentrácie, resp. prídavku iniciačných faktorov na priebeh a účinnosť autolýzy analýzou rozptylu. Touto metódou sme vyhodnotili všetky výsledky charakterizujúce supernatanty v prípadoch, ak bola autolýza ukončená po 5 hodinách. Vyhodnotením vplyvu testovaných iniciačných faktorov na účinnosť uvoľňovania proteínov po 5-tich hodinách autolýzy sa ukázalo, že v rozmedzí daných koncentrácií má význam jedine

zmena koncentrácie etanolu. Tento vplyv však môžeme charakterizovať ako málo významný (štatistická významnosť 10 % [tabuľka 6]). Na stupeň uvoľňovania nukleových kyselín má vplyv zmena prídavku čerstvého kvasničného autolýzátu. Tento vplyv je štatisticky významnejší a môžeme ho hodnotiť ako vplyv celkom reálny a značný (štatistická významnosť 2,5—5 %). Vyhodnotením štatistickej významnosti vplyvu iniciačných faktorov na obsah proteínov a nukleových kyselín v supernatantoch po 5-tich hodinách autolýzy sa potvrdil predpokladaný fakt, že na tento parameter má vplyv predovšetkým zmena koncentrácie NaCl. Zo štatistického hľadiska môžeme vyhlásiť, že ide o prenikavý vplyv skúmaného faktoru (štatistická významnosť 0,1—1 %).

Získané výsledky nám umožňujú uzavrieť, že zníženie koncentrácie NaCl nevyplýva negatívne na proces uvoľňovania proteínov, naopak znížením koncentrácie NaCl získame jednoznačne produkt s vyšším percentuálnym zastúpením proteínov. Zmena prídavku autolýzátu vplyva štatisticky významne na uvoľňovanie nukleových kyselín. Z nameraných výsledkov je zrejmé, že čím je vyšší prídavok autolýzátu, tým dochádza k väčšiemu uvoľňovaniu nukleových kyselín. Zmena objemového prídavku autolýzátu je z hľadiska koncentrácie, resp. uvoľňovania proteínov štatisticky nevýznamná. Spojením týchto záverov, s prihliadnutím na ekonomické a technologické aspekty (výhodnejšie sú samozrejme nižšie prídavky), môžeme konštatovať, že autolýza bude prebiehať s dostatočnou účinnosťou i s redukovaným prídavkom iniciačných faktorov (v porovnaní s prvým orientačným experimentom). Dezintegrácia bude rovnako efektívna i pri objemovom prídavku čerstvého aktívneho autolýzátu v množstve 10—15 % (oproti pôvodným 15 %), prídavku 0,1—3 % hmot. NaCl (oproti pôvodným 5 % hmot.), a 1—5 % hmot. etanolu (oproti pôvodným 5 % hmot.), pričom koncentrácia proteínov v sušenom preparáte sa minimálne zdvojnásobí.

Hoci výsledky optimalizácie získané metódou „latinského štvorca“ poskytli informácie o štatistickej významnosti vplyvu iniciačných faktorov, realizovaný experiment nemohol podať informácie o štatistickej významnosti vplyvu vzájomných kom-

Tabuľka 3. Charakterizácia procesu uvoľňovania proteínov a nukleových kyselín do supernatantu v priebehu autolýzy pekárskeho droždia (v % z pôvodného obsahu uvedených zložiek vo vstupnej surovine) a ich obsah v supernatante (v mg na g sušiny). Kombinácia iniciačných faktorov je v tabuľke 2

Pokus č.	Po 1 hodine		Po 5 hodine		Po 10 hodine		Po 24 hodine	
	Proteíny (%) (mg g _s ⁻¹)	Nukleové kyseliny (%) (mg g _s ⁻¹)	Proteíny (%) (mg g _s ⁻¹)	Nukleové kyseliny (%) (mg g _s ⁻¹)	Proteíny (%) (mg g _s ⁻¹)	Nukleové kyseliny (%) (mg g _s ⁻¹)	Proteíny (%) (mg g _s ⁻¹)	Nukleové kyseliny (%) (mg g _s ⁻¹)
1	15,3 319	28,6 130	29,7 275	66,8 135	37,3 335	88,6 173	74,8 581	95 162
2	16,3 190	29,0 74	34,3 226	73,4 105	51,3 331	72,8 103	84,3 532	— —
3	16,6 158	32,0 67	30,2 172	66,9 84	45,9 259	70,3 86	76,6 400	82 94
4	13,7 226	19,1 75	27,2 213	44,7 97	43,0 327	68,0 123	83,8 536	76 116
5	— —	19,7 40	35,4 183	61,1 75	44,7 228	54,8 67	72,7 348	70 76
6	14,2 271	18,7 85	33,6 317	54,5 122	41,3 380	58,5 128	79,1 601	65 117
7	11,1 89	12,5 23	31,8 166	58,5 76	46,4 239	63,7 81	92,4 432	76 89
8	9,8 343	12,2 105	31,2 334	45,7 121	33,9 346	48,7 123	72,3 583	65 129
9	16,9 344	14,6 74	32,6 288	55,7 122	53,6 405	54,1 116	80,9 578	53 94

binácií, teda o spoločnom pôsobení skúmaných iniciačných faktorov na podiel uvoľnených proteínov a nukleových kyselín v procese autolýzy. Túto informáciu sme získali faktorovým experimentom [13] uskutočneným podľa rozpisu v tabuľke 4.

Tabuľka 4. Schéma plánovaného 2^3 faktorového experimentu testovania iniciačných faktorov autolýzy droždia

Pokus č.	1	2	3	4	5	6	7	8
Autolyzát (% obj.)	10	10	10	10	15	15	15	15
NaCl (% hmot.)	0,1	0,1	2	2	0,1	0,1	2	2
Etanol (% hmot.)	1	5	1	5	1	5	1	5

Počet hladín, na ktorých sme menili koncentráciu, resp. objem iniciačných faktorov sme museli oproti predchádzajúcemu experimentu zredukovať o jednu, pretože v pôvodnom usporiadaní by nám počet testovaných prípadov stúpol na 27, čo sme v našich podmienkach nemohli zvládnuť. Pokus bol realizovaný analogicky ako predchádzajúci, výsledky sú zaznamenané v tabuľke 5.

Analýzou rozptylu sa potvrdilo, že na uvoľňovanie proteínov významne vplyva zmena koncentrácie etanolu. Zo štatistického hľadiska môžeme tento vplyv charakterizovať ako značný (štatistická významnosť 2,5 %). Podobne ako u proteínov i v prípade nukleových kyselín sa výsledky analýzou rozptylu merania zhodujú s predchádzajúcim experimentom. Na uvoľnenie nukleových kyselín štatisticky významne vplyva zmena pridávaného objemu autolyzáta, v tomto prípade však môžeme vplyv sledovaného faktoru charakterizovať ako malý (štatistická významnosť 10 %). Obsah proteínov aj nukleových kyselín v supernatante je štatisticky významne determinovaný koncentráciou pridávaného NaCl, pričom môžeme vyhlásiť, že tento vplyv je značný (štatistická významnosť 2,5 %). Pomocou priemernej hodnoty merania (v rovnici č. 1 je to 34,3, v rovnici č. 2 — 55,5) a súčtu odchýliek faktorov (v rovnici č. 1 je to V_{NaCl} a V_{etanol} , resp. v rovnici č. 2 — $V_{\text{autolyzát}}$), ktoré významne vplyvajú na

Tabuľka 6. Vyhodnotenie štatistickej významnosti vplyvu iniciačných faktorov (etanol, NaCl, autolyzát) na uvoľňovanie proteínov do supernatantu po 5 h autolýze pekárskeho droždia analýzou rozptylu [16]

Faktor	Súčet štvorcov	Stredný štvorec	Stupne volnosti	Rozptyl	Štatistická významnosť
Koncentrácia NaCl	4,94	1,64	2	0,82	nie je
Koncentrácia etanolu	72,96	24,32	2	12,16	10 %
Objemový pomer autolyzáta	2,78	0,92	2	0,46	nie je
Súčet		26,88	6	—	—
Súčet štvorcov a odchýliek		49,94	—	—	—
Rozdiel (reziduálny rozptyl)		23,06	2	11,53	—

sledovaný parameter, sme zostavili rovnice (1, 2), ktoré umožňujú porovnať experimentálne zistené výťažky s vypočítanými. Získaná vypočítaná hodnota je zo štatistického hľadiska reprezentatívnejšia v porovnaní s experimentálne nameranými [17]. Porovnanie vypočítaných a experimentálne zistených hodnôt je uskutočnené v tabuľke 7.

Podiel uvoľnených proteínov v % ($\pm 0,7$ %) = $34,3 + V_{\text{NaCl}} + V_{\text{etanol}}$ (1). Podiel uvoľnených nukleových kyselín v % ($\pm 2,8$ %) = $55,5 + V_{\text{autolyzát}}$ (2).

Vplyv vzájomného pôsobenia (interakcií) aplikovaných iniciačných faktorov (etanol, NaCl, autolyzát) na uvoľňovanie proteínov a nukleových kyselín, ako aj na výslednú koncentráciu proteínov a nukleových kyselín v sušine supernatantu (vyhodnotené opäť analýzou rozptylu) sa ukázal vo všetkých prípadoch ako štatisticky nevýznamný.

Výsledky faktorového experimentu ukázali, že v optimálnom intervale prídavku iniciačných faktorov (autolyzát v objemovom množstve 10—15 %, NaCl 0,1—2 % hmot., etanol 1—5 % hmot.) dochádza k uvoľneniu 70—80 % proteínov, pričom koncentrácia proteínov v supernatante sa pohybuje od 400 do 500 mg na g sušiny.

Tabuľka 5. Charakterizácia procesu uvoľňovania proteínov a nukleových kyselín do supernatantu v priebehu autolýzy pekárskeho droždia (v % z pôvodného obsahu uvedených zložiek vo vstupnej surovine) a ich obsah v supernatante (v mg na g sušiny). Kombinácia iniciačných faktorov autolýzy v tab. 4.

Pokus č.	Po 1 hodine		Po 5 hodine		Po 10 hodine		Po 24 hodine	
	Proteíny (%) (mg g ⁻¹)	Nukleové kyseliny (%) (mg g ⁻¹)	Proteíny (%) (mg g ⁻¹)	Nukleové kyseliny (%) (mg g ⁻¹)	Proteíny (%) (mg g ⁻¹)	Nukleové kyseliny (%) (mg g ⁻¹)	Proteíny (%) (mg g ⁻¹)	Nukleové kyseliny (%) (mg g ⁻¹)
1	17,9 398	19,5 103	32,8 310	56,8 128	49,4 403	67,3 132	59,0 386	83,1 130
2	16,8 396	19,6 105	34,1 303	56,5 119	62,0 451	68,3 111	68,0 426	— —
3	17,6 264	18,7 66	33,4 236	58,0 98	40,0 327	79,6 113	75,0 419	91,3 122
4	17,0 247	19,4 67	36,8 251	64,0 104	55,5 328	79,9 113	70,0 362	80,8 100
5	18,2 442	19,9 123	30,6 303	47,5 116	39,9 287	82,4 148	68,0 418	86,6 134
6	15,2 483	14,4 114	35,8 343	53,6 127	49,5 399	71,5 143	71,0 456	64,5 103
7	15,3 257	12,3 51	33,6 255	54,9 102	56,9 367	57,6 92	79,0 400	86,3 109
8	14,2 250	14,6 64	37,2 245	52,9 86	68,5 399	58,6 84	79,0 411	79,9 104

Tabuľka 7. Porovnanie podielu skutočne uvoľnených proteínov a nukleových kyselín z droždia (%) s vypočítaným podielom podľa rovníc 1, 2, pri danej kombinácii iníciačných faktorov podľa rozpisu v tabuľke 4 po 5 h autolýze droždia

Vzorka	Uvoľnené proteíny (%)		Uvoľnené nukleové kyseliny (%)	
	Zistené	Vypočítané	Zistené	Vypočítané
1	30,7	31,7	47,5	52,3
2	35,8	35,1	53,6	52,3
3	33,6	33,6	54,9	52,3
4	37,2	36,9	52,9	52,3
5	32,8	31,8	56,7	58,7
6	34,1	35,0	56,7	58,7
7	33,4	33,6	58,0	58,7
8	36,8	36,9	63,9	58,7

Tento spôsob uvoľňovania cytoplazmatického obsahu kvasiniek bol prihlásený v ČSSR k patentoprávnej ochrane [18] a uvažuje sa s ním ako s možnou metódou dezintegrácie v rámci Programu komplexnej frakcionácie droždia.

Literatúra

- [1] ŠTURDÍK, E., KOLLÁR, R.: Kvas. prům., **34**, 1988, s. 10
- [2] KULLA, M. R., SCHÜTTE, H.: Biotech. Progress, **3**, 1987, s. 31
- [3] NAGANUMA, T., UZUKA, Y., TANAKA, K.: Anal. Biochem., **141**, 1984, s. 74
- [4] CHRENOVA, N. M., BESRUCHOV, M. G., KOGAN, A. S., SERGEJEV, W. A.: Nahrung, **25**, 1981, s. 837
- [5] ENGLER, C. R., ROBINSON, C. W.: Biotechnol. Bioeng., **16**, 1981, s. 765
- [6] JAMES, C. I., COAKLET, W. T., HUGHES, D. E.: Biotechnol. Bioeng., **14**, 1972, s. 33
- [7] CHISTI, Y., MOO-YOUNG, M.: Enzyme Microb. Technol., **8**, 1986, s. 194
- [8] SCHÜTTE, H. R., KRAUME-GLÜGEL, H., KULA, M. R.: German Chem. Engineering, **9**, 1986, s. 149
- [9] SHETTY, I. K., KINSELLA, I. E.: Biotechnol. Bioeng., **20**, 1978, s. 755
- [10] ANDREWS, B. A., ASENJO, J. A.: Trends Biotech., **5**, 1987, s. 273
- [11] BĚHALOVÁ, B., BERAN K.: Acta Biotechnol., **6**, 1986, s. 147
- [12] MARKOVA, E. V., LISENKOV, A. N.: Kombinatornye plany v zadachach mnogofaktornogo eksperimenta, Nauka, Moskva 1979
- [13] PAZMAN, A., MIKULECKÁ, J., RAFFAJ, V., TOKOŠOVÁ, M.: Riešené situácie z navrhovania experimentov, Alfa, Bratislava, 1986, s. 200
- [14] LOWRY, O. H., ROSENBROUGH, A. L., FAW, A. L., RANDALL, R. I.: J. Biol. Chem., **193**, 1951, s. 265
- [15] SPIRIN, A. S.: Biochimija, **23**, 1958, s. 658
- [16] DARMODARAN, S., KINSELLA, I. E.: Biotechnol. Bioeng., **25**, 1983, s. 761
- [17] MEDONOS, V.: Statistické zpracování experimentálních výsledků analýzou rozptylu, SNTL, Praha, 1961, s. 9

[18] Pat. ČSSR PV 10163-86

Lektoroval Ing. František Machek, CSc.

ŠTURDÍK E. - KOLLÁR, R. - MIKULÁŠOVÁ, M. - BERNÁT, I. - Forstthoffer, J. - Krčmář, S.: Frakcionácia kvasničnej biomasy II. Uvoľňovanie cytoplazmatického obsahu buniek pekárskeho droždia. Kvas. prům., **34**, 1988, č. 8—9, s. 241—245.

Pre potreby frakcionácie droždia bola optimalizovaná degradácia bunkových stien kvasiniek za účelom uvoľnenia cytoplazmatického obsahu, a to využitím vlastného lytického systému buniek. Autolýza 10% suspenzie pekárskeho droždia, iniciovaná prídavkom autolýzátu z predchádzajúceho pokusu, prebehne efektívne pri stálom miešaní a teplote 50 °C do 24 hodín. Proces dezintegrácie sa prídavkom etanolu a NaCl ešte zefektívni, takže do 24 h sa uvoľní z kvasničných buniek minimálne 70 % proteínov.

Штурдик, Э. — Коллар, Р. — Микулашова, М. — Бернат, И. — Форстхоффер, Ю. — Крчмарж, С.: Фракционирование дрожжевой биомассы. II. Выделение цитоплазматического содержания клеточек пекарных дрожжей. Квас. прум., **34**, 1988, № 8—9, стр. 241—245.

Для фракционирования дрожжей была оптимизована деградация клеточных стенок дрожжей с целью освобождения цитоплазматического содержания, а то использованием собственной литической системы клеток. Автолиз 10 % взвеси пекарных дрожжей с добавкой автолизата из предшествующего эксперимента протекает эффективно при постоянном перемешивании и температуре 50 °C до конца суток. Процесс дезинтегрирования при добавлении этанола и хлористого натрия еще эффективнее, так что до 24 часов из дрожжевых клеток выделяется минимально 70 % протеннов.

ŠTURDÍK, E. - KOLLÁR, R. - MIKULÁŠOVÁ, M. - BERNÁT, I. - Forstthoffer, J. - Krčmář, S.: Fractionation of Yeast Biomass. II. Release of Cytoplasmatic Content of Baker's Yeast Cells. Kvas. prům., **34**, 1988, No. 8—9, pp. 241—245.

An optimization of the degradation of yeast cell walls using self lytic system of the yeasts with the aim to the yeast fractionation was developed. Autolysis in 10 % suspension of the baker's yeast, initiated with the addition of previous autolysate, is finished in 24 h under conditions of mixing and the temperature of 50 °C. The process can be intensified by the addition of ethanol and NaCl. Under these conditions the minimum of 70 % of proteins is released from the yeast cells in 24 h.

ŠTURDÍK, E. - KOLLÁR, R. - MIKULÁŠOVÁ, M. - BERNÁT, I. - Forstthoffer, J. - Krčmář, S.: Fraktionierung der Hefebiomasse. II. Freisetzung des cytoplasmatischen Inhalts der Backhefezellen. Kvas. prům., **34**, 1988, Nr. 8—9, S. 241—245.

Für die Zwecke der Hefefraktionierung wurde die Degradation der Hefezellenwand zur Freisetzung des cytoplasmatischen Inhalts optimisiert, und zwar durch Ausnützung des eigenen lytischen Systems der Zellen. Die Autolyse von 10 % der Backhefesuspension, die durch Zugabe des Autolysats aus dem vorherigen Versuch initiiert wurde, verläuft effektiv bei stetiger Mischung und bei 50 °C binnen 24 Stunden.

Der Desintegrationsprozeß wird bei Zugabe von Äthanol und NaCl noch effektiver gestaltet, sodaß binnen 24 Stunden aus den Hefezellen min. 70 % der Proteine freigesetzt werden.

Východočeské pivovary, k. p., exportní závod Náchod

přijme mistra výroby

Požadavky: absolvent SPŠPT Praha nebo VŠ + praxe. Byt k dispozici. Odměňování podle II. etapy ZEÚMS.