

Frakcionácia kvasničnej biomasy

III. Príprava hrubých preparátov pre potravinárstvo a farmáciu

663.13

Doc. Ing. ERNEST ŠTURDÍK, CSc., Ing. ROMAN KOLLÁR, Ing. JÁN ŠAJBIDOR, CSc., Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Katedra biochemickej technológie, 812 37 Bratislava

Ing. STANISLAV KRČMÁR, CSc., Ing. JÚLIUS FORSTHOFFER, CSc., Ing. DANA KOLLÁTOVÁ, Výskumný ústav liehovarov a konzervárni, 824 62 Bratislava

Kľúčové slová: komplexné využitie kvasiniek, kvasničná biomasa, frakcionácia droždí, separácia kvasničných polysacharidov, proteínov, lipidov, získavanie preparátov invertázy, ergosterolu, imunoaktívnych glukanov, jedlých proteínov, fosfolipidov, kvasničný autolýzát, kvasničný extrakt

ÚVOD

Svetové trendy v zhodnocovaní biomasy kvasiniek sú orientované tromi základnými smermi: na izoláciu vysokopurifikovaných preparátov [1], na prípravu viaczložkových produktov [2] a na súčasné získavanie viacerých komponentov bunky rôznej čistoty v rámci komplexnejšieho (menej odpadového) využitia suroviny [3].

V prípade vysokočistých prípravkov vysoká cena dovoľuje použiť i náročnejšie operácie a to tak pri dezintegrácii buniek [4, 5], ako aj následnom izolovaní a čistení produktov [6]. Z kvasiniek sa týmto spôsobom získava široká paleta enzýmov, koenzýmov, nukleotidov, peptidov, imunoaktívnych glukanov, mananov a ďalších zlúčenín, ktoré sú využívané ako biochemikálie pre vedecké i aplikačné účely. Najznámejšími výrobcami takýchto biochemikálií sú firmy Boehringer v NSR, Sigma Chemical Company v USA a Oriental Yeast Company v Japonsku.

Naopak, veľmi jednoduché postupy vyžaduje príprava lacnejších, viaczložkových preparátov so širokým spektrom využitia. Príkladom sú predovšetkým kvasničné autolýzáty a extrakty [7], ktoré sa používajú ako aditívum do mäsových a pekárskeho výrobkov [8], ako ochutňovadlá pre prípravu omáčok, polievok a iných pokrmov [9], ako potravinárske antioxidanty [10], resp. ako zložky diagnostických a kultivačných pód [11]. Významné aktivity v spomínaných smeroch vykazujú firmy Provesta Corporation v USA, The English Grains Company, Fould-Springer vo Francúzsku, Gist-Brocades v Holandsku, Pure Culture Products v USA, Gibco Europe v Škótsku, Oxoid Limited v Anglicku, atď.

V posledných rokoch sa prejavuje tendencia pristupovať k spracovaniu kvasničnej biomasy komplexne [12, 13]. Voľba dezintegračných i izolačných postupov je podriadená cieľu získať z kvasiniek súčasne viacero produktov. Takým je napríklad postup firmy Hoechst v NSR, zameriavajúci sa na prípravu proteínového koncentráту spolu so získavaním nukleových kyselín a frakcie lipidov [14].

Podrobnejšie informácie o všetkých vyššie zmienených smeroch využitia biomasy kvasiniek sme publikovali v prehľadnom článku uverejnenom v našom časopise [15].

U nás sa z pivovarských kvasiniek vyrába prípravok Pangamin (Pražské pivovary, s.p.) používaný pri liečení chorôb pečene, kvasničný extrakt a autolýzát (Imuna, Šarišské Michaľany) pre mikrobiologické aplikácie a koenzým nikotinamidadenín dinukleotid (Imuna Š. Michaľany) pre enzymovú analýzu. Z droždí sa vyrába kulinárny prípravok Tebi (Labena, Ústí nad Labem), ergosterol ako prekursor vitamínu D₂ a ribonukleové kyseliny pre veterinárne a vedecké účely (Synthesia Pardubice). Všetky uvedené preparáty sa izolujú z kvasiniek zatiaľ jednotlivo.

Obsahom tohto článku je charakterizácia novonavrhnutého postupu, ktorý umožňuje z kvasiniek získať súčasne viacero aplikácie využiteľných preparátov, a to bezodpadovým spôsobom [16].

MATERIÁL A METÓDY

Experimenty sme realizovali s komerčným, lisovaným pekárskeym droždím (Droždiaren, Trebišov). Používali

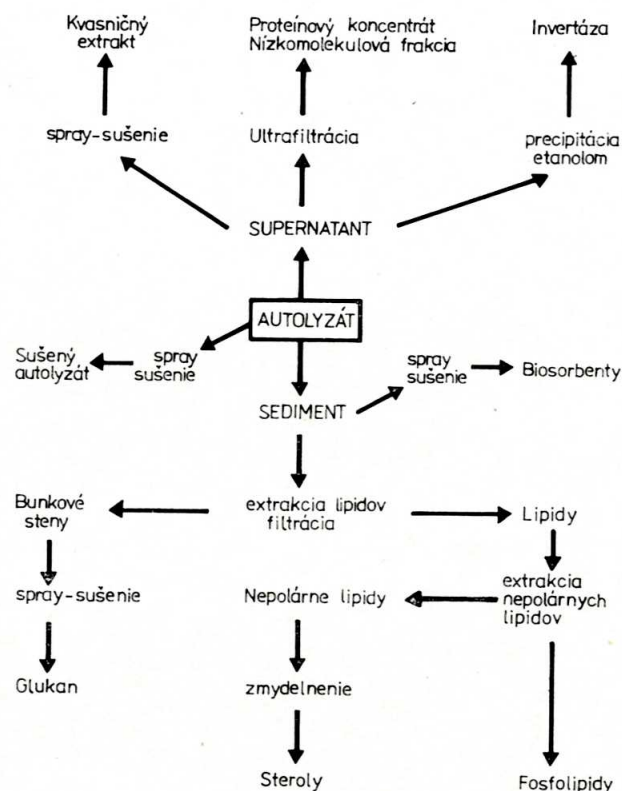
sme 10%-nú suspenziu pripravenú z expedičného droždia rozpustenú vo vode. Biomasu kvasiniek sme dezintegrovali procesom iniciovanej autolýzy. Autolytický proces sme indukovali prídavkom NaCl (0,1–3 % hmot.) a etanolu (1–5 %). Ako ďalší iniciačný faktor sme použili kvasničný autolýzát z predchádzajúceho experimentu (10–15 % obj.) Autolýza prebiehala v 100 l fermentore Liofilite (Francúzsko) za stáleho miešania, pri teplote 50 °C a bola ukončená po 5, resp. 24 hodinách. Autolýzát bol okamžite separovaný centrifugáciou (Janetzki K-70, frekvencia otáčok 2500 min⁻¹, 20 minút) na supernatant a sediment. Supernatant sme urýchlene spracovali buď ako proteínový (nutričný) koncentrát (kvasničný extrakt) vysušením v rozprašovacej sušiarňi, resp. sme ho využili na precipitáciu enzýmu invertázy. Sušenie sme realizovali v rozprašovacej sušiarňi Niro Atomiser (Dánsko) pri teplote vstupného vzduchu 150–165 °C, výstupného 80–90 °C (tlak vzduchu na turbínku atomizéra 0,35–0,40 MPa). Precipitácia enzýmu invertázy zo supernatantu prebiehala pri 4 °C (5 minút) prídavaním 0,9 až 2-násobného objemu etanolu. Precipitát bol vysušený pri 37 °C.

Na izoláciu lipidov sme využili sediment autolýzátu (300 g), a to prídanim 20-násobného prebytku extrakčnej zmesi etanol-hexán v objemovom pomere 1:2. Extrakcia prebiehala za stáleho miešania 1 h. Lipidický extrakt sme po odparení rozpúšťadla (cca 2,5 g) ďalej frakcionovali niekoľkonásobným premývaním acetónom (4-násobný nadbytok), čím došlo k oddeleniu polárnych lipidov (frakcia fosfolipidov) a do acetónu sa preextrahovala frakcia nepochárnych lipidov, obsahujúca najmä steroly. Acetónový extrakt (zahustený odparením) sme zmydelnili 15%-ným metanolicným KOH počas 1 hodiny pri 80 °C a nezmydeliteľný podiel sme extrahovali hexánom. Hexánový extrakt sme zahustili a po prídavku acetónu ochladili na -5 °C. Z roztoku vykryštalizoval vo forme bielej krystálkov ergosterol (0,3 g) o čistote 62 %.

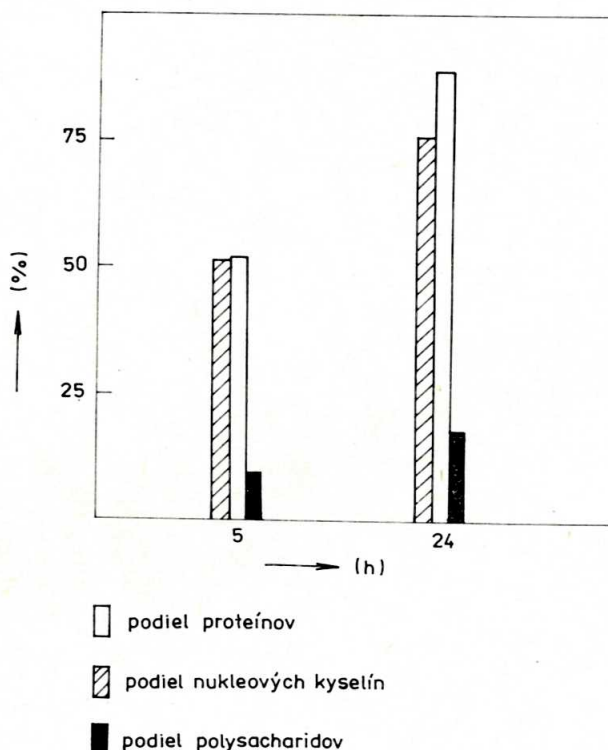
Obsah sušiny a popola vo vzorkách bol zisťovaný gravimetricky štandardnými metódami [17]. Polysacharidy sme stanovili fenolovou modifikáciou Molishovho testu, podľa Dubois a kol. [18], aminokyseliny automatickým analyzátorom aminokyselín AAA 339 [19]. Invertázovú aktivitu sme určili stanovením obsahu voľnej glukózy po 20 minútach inkubácie 1 ml vhodne riedenej vzorky, pri 27 °C s 1 ml roztoku 5 %-nej sacharózy BIO-LA-TEST-om (Lachema Brno) [20]. Invertázovú aktivitu sme udávali po prepočítaní vytvoreného látkového množstva glukózy v μ kat na gram sušiny. Množstvo bielkovín a ich rozkladných produktov sme vypočítali z obsahu dusíka, vynásobením koeficientom 6,25. Celkový dusík bol určený podľa Kjeldahla [21] za štandardných podmienok. Mineralizáciu sme uskutočňovali s komerčným zariadením švédskej firmy Tecator, destiláciu s aparaturou firmy Büchi (Švajčiarsko). Nukleové kyseliny sme stanovili sumárne (DNA i RNA) po opakovanej extrakcii vhodného podielu vzorky kyselinou chloristou (0,5 mol. dm⁻³) spektrofotometricky podľa Spirina [22]. Fosfolipidy sme charakterizovali v lipidickej frakcii a vo finálnych preparátoch s využitím BIO-LA-TEST-u (Lachema Brno) [23]. Stanovený obsah anorganického fosforu sme prepočítali najskôr na lipidný fosfor vynásobením faktorom 1,39 a potom na fosfolipidy pomocou faktora 25. Celkové steroly boli stanovované Liebermann-Buchardovou reakciou. Po odparení organickej fázy dosucha bolo k vzorke pridaných 5 ml chloroformu a 5 ml čerstvého činidla (15 ml anhydridu kyseliny octovej, 1 ml konc. H₂SO₄, 24 ml chloroformu) a po 10 minútach sme zmerali absorbanciu pri 660 nm. Množstvo sterolov bolo odčítané z kalibračnej krivky na ergosterol. Obsah ergosterolu vo vzorkách bol určený spektrofotometricky. Odparené vzorky boli rozpustené v 5 ml etanolu (p.a.) a potom bola zmeraná ich absorbancia pri 282 a 230 nm. Pomocou príslušných molárnych absorpčných koeficientov bol vypočítaný obsah $\Delta^{5,7}$ sterolov a dehydroergosterolu a z ich rozdielu množstvo ergosterolu vo vzorke.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Frakcionačným experimentom s väčším objemom vstupnej suroviny predchádzalo overenie využitia inicio-



Obr. 1. Frakcionácia kvasničnej biomasy podľa postupu Šturčík a kol. [24].



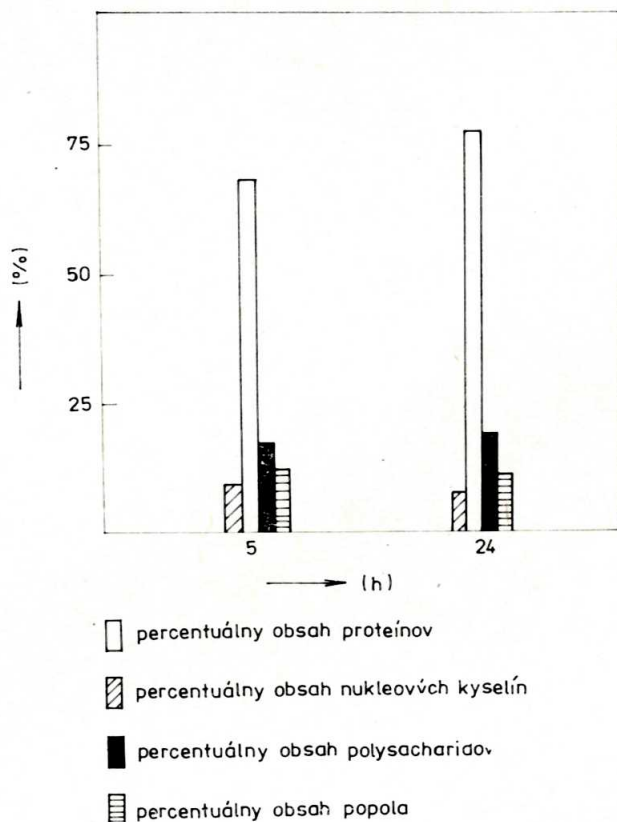
Obr. 2. Podiel proteínov, nukleových kyselín a polysacharidov uvoľnených do supernatantu po 5, resp. 24 h autolýze v % z pôvodného obsahu vo vstupnej surovine počas autolýzy pekárskeho droždia. Autolýza bola iniciovaná prídavkom 15 % (obj.) aktívneho kvasničného autolýzátu, 1 % (hmot.) NaCl, 5 % (hmot.) etanolu pri 50 °C.

Tab. 1. Prehľad distribúcie proteínov a produktov ich degradácie, nukleových kyselín a polysacharidov v procese autolýzy pekárskeho droždia po 5, resp. 24 h. Autolýza bola iniciovaná prídavkom 15 % (obj.) aktívneho kvasničného autolyzáta, 1 % (hmot.) NaCl, 5 % (hmot.) etanolu pri 50 °C (g_s = gramy sušiny)

Doba autolýzy	Frakcia	Množstvo	Sušina (%)	Proteíny			Nukleové kyseliny			Polysacharidy		
				Koncentrácia ($mg \cdot g_s^{-1}$)	Obsah (g)	Podiel (%)	Koncentrácia ($mg \cdot g_s^{-1}$)	Obsah (g)	Podiel (%)	Koncentrácia ($mg \cdot g_s^{-1}$)	Obsah (g)	Podiel (%)
5 h	Autolyzát	3000 (ml)	8,8	420,0	110,8	—	75,0	19,8	—	423,0	111,6	—
	Supernatant	2300 (ml)	4,1	584,0	57,1	51,4	107,4	10,1	51,0	108,0	11,6	10,3
	Sediment	574 (g)	30,0	309,0	53,3	48,1	52,2	9,0	45,5	577,0	99,4	89,0
24 h	Autolyzát	6000 (ml)	8,8	420,0	223,3	—	75,0	39,6	—	423,0	208,1	—
	Supernatant	4800 (ml)	6,0	626,0	180,4	80,8	103,6	29,8	75,1	123,0	35,4	17,0
	Sediment	956 (g)	25,1	173,0	41,7	18,7	40,6	9,8	24,7	606,0	145,6	76,0

vanej autolýzy na dezintegráciu kvasničných buniek v laboratórnych podmienkach, súčasne s chemickou analýzou základných frakcií získaných po ukončení autolýzy. Dosiahnuté informácie nám potvrdili, že autolýza dezintegruje kvasničnú biomasu s dostatočnou efektivitou v pomerne krátkom čase [24] a uskutočnená chemická analýza umožnila vypracovanie základnej izolačnej schémy (obr. 1). Autolýzu sme realizovali v 100 l štvrtprévádzkovom fermentore s 10 %-nou suspenziou pekárskeho droždia, ku ktorej sme pridávali 15 % (obj.) čerstvého kvasničného autolyzáta získaného z predchádzajúceho experimentu (24 h autolýza), 1 % (hmot.) NaCl a 5 % (hmot.) etanolu. Obsah proteínov, nukleových kyselín a polysacharidov v autolyzáte, v supernatante a v sedimente uvádza tabuľka 1. Efektivita autolýzy, posúdená na základe množstva uvoľnených proteínov a ich degradačných produktov (peptidov a aminokyselín; túto frakciu budeme v ďalšom nazývať peptidovou, vzhľadom na to, že voľ-

ných aminokyselín je v nej menej ako 5 %) do supernatantu, bola porovnateľná s efektivitou autolýzy v laboratórnych podmienkach. Z buniek bolo po 5 h autolýzy uvoľnených viac ako 50 % proteínov, pričom táto hodnota stúpala po 24 h na 88 % (obr. 2). Supernatanty z oboch autolyzátov (po 5 i po 24 h) boli rozdelené na 2 časti. Prvá časť o objeme 1 l bola potom vysušená v rozprašovacej sušiarňi, pričom sme získali 20–22 g sušeného kvasničného extraktu. Získaný prášok bol bielej farby, s dobrou konzistenciou a vôňou, vyznačujúci sa vysokým obsahom peptidov. Preparát získaný zo supernatantu po 5 h autolýzy obsahoval 67 % peptidov, v preparáte po 24 h autolýzy sa zvýšil ich obsah na 76 % (obr. 3). Analýza aminokyselín v týchto preparátoch ukázala, že získaný koncentrát je svojím zložením podobný aminokyselinovému zloženiu v referenčnej bielkovine (FAO/WHO) [25], pričom sa potvrdil fakt, že bielkoviny kvasiniek sa vyznačujú vysokým obsahom lyzínu a deficitom sírnych aminokyselín (tab. 2). Zostávajúca (druhá) časť supernatantu bola využitá na precipitáciu enzýmového preparátu invertázy. Hoci je kvasničná invertáza pomerne stabilný enzým (stabilizovaný mananom), predsa po jej uvoľnení z periplazmatického priestoru v priebehu autolýzy dochádza k strate jej aktivity, pravdepodobne pôsobením proteáz. Invertázová aktivita, v intaktnom droždi kolíše od „šarže k šarži“ v rozmedzí 30–60 μ kat na g sušiny. Do supernatantu sa v priebehu autolýzy uvoľní 10–20 % invertázy, pričom v sedimente jej zostáva asi 60 %, zvyšok sa inaktivuje. Invertázový preparát sme izolovali zo supernatantu etanolovou precipitáciou, t.j. prídavkom 2-násobného množstva etanolu k objemu supernatantu. Týmto spôsobom z 1 kg droždia



Obr. 3. Percentuálny obsah proteínov, nukleových kyselín, polysacharidov a popola v sušenom proteínovom koncentráte získanom zo supernatantu po 5, resp. 24 h autolýze pekárskeho droždia. Autolýza bola iniciovaná prídavkom 15 % (obj.) aktívneho kvasničného autolyzáta, 1 % (hmot.) NaCl, 5 % (hmot.) etanolu pri 50 °C.

Tab. 2. Obsah aminokyselín (v $mg/100$ g proteínov) v sušenom kvasničnom extrakte získanom zo supernatantu po autolýze (5, resp. 24 h) pekárskeho droždia sprayovým sušením. Autolýza bola iniciovaná prídavkom 15 % (obj.) aktívneho autolyzáta, 5 % (hmot.) etanolu, 1 % (hmot.) NaCl a prebiehala pri teplote 50 °C. Na porovnanie uvedený priemerný obsah aminokyselín v proteínoch u *S. cerevisiae* [25] a zloženie aminokyselín v ideálnej (referenčnej) bielkovine (FAO/WHO [25])

Aminokyseliny	Preparát po 5 h	Preparát po 24 h	Bielkoviny Saccharomyces cerevisiae	Referenčná bielkovina
Lyzín	6,3	6,8	6,7	5,5
Histidín	2,2	2,4	1,6	—
Arginín	2,8	3,2	3,7	—
Kyselina asparagová	7,7	8,5	8,0	—
Treonín	4,0	4,4	4,1	4,0
Serín	3,8	4,0	4,2	—
Kyselina glutamová	12,1	12,0	10,8	—
Prolín	4,2	5,1	3,1	—
Glycín	3,1	3,3	3,7	—
Alanín	5,8	5,5	4,7	—
Cystín	0,1	0,5	—	—
Metionín	1,2	1,6	1,4	3,5
Valín	4,4	4,9	4,6	5,0
Izoleucín	3,2	4,1	4,1	4,0
Leucín	5,3	6,2	6,0	7,0
Tyrozín	3,2	3,6	4,1	—
Fenylalanín	2,8	3,3	3,7	6,0

sme získali 8–10 g preparátu o aktivite 9,3 μ kat na g sušiny. Vzhľadom na to, že uvedený postup nie je ideálny tak z hľadiska množstva precipitátu ako aj získanej aktivity enzýmu, hľadali sme v ďalšom také obmeny procesu autolýzy a izolácie, aby sme pripravili invertázový preparát vo väčšom množstve a s vyššou špecifickou aktivitou. Získané výsledky budú predmetom samostatnej publikácie. Ďalšou možnosťou využitia supernatantnej frakcie je jej rozdelenie ultrafiltráciou na vysokomolekulovú časť (proteínový koncentrát) a nízkomolekulový podiel (dietetický koncentrát) a ich následné vysušenie. Zo sedimentnej frakcie autolýzátu sme vždy časť použili na extrakciu lipidov. Delipidizované bunkové steny sme oddelili filtráciou a získaný lipidický extrakt sme použili na izoláciu fosfolipidov a ergosterolu. Vlhké bunkové steny sme premyli vodou, zhomogenizovali (po oddelení lipidu sa vytvárajú väčšie aglomeráty), a po nariadení vodou (cca 10%-ná suspenzia) vysušili v rozprašovacej sušiarňi za rovnakých podmienok ako kvasničný extrakt. Získali sme 30–40 g bieleho, veľmi jemného prášku (preparát bunkových stien), ktorý vďaka vysokému obsahu polysacharidov (obr. 4) môže slúžiť na izoláciu čistých glukánov. Izolácia je pochopiteľne možná i priamo z vlhkého materiálu, vysušením však získame preparát s lepším vzhľadom, ktorý je možné výhodnejšie skladovať a taktiež s ním manipulovať. Lipidickú frakciu sme skoncentrovali na 2,1 l extraktu, ktorý obsahoval 5–6 g lipidov. Lipidy kvasiniek sa vyznačujú celým radom aplikácie zaujímavých komponentov (steroly, fosfolipidy, mastné kyseliny), z ktorých v našom frakčionáčnom programe má prioritné postavenie ergosterol. Celkové lipidy kvasiniek by mohli byť preto zmydelnené a priamo použité na izoláciu ergosterolu. Iným riešením, ktoré umožňuje lepšie zhodnotiť lipidy kvasiniek je extrakcia nepolárnych zložiek do acetónu, pričom polárna frakcia fosfolipidov zostane ne-

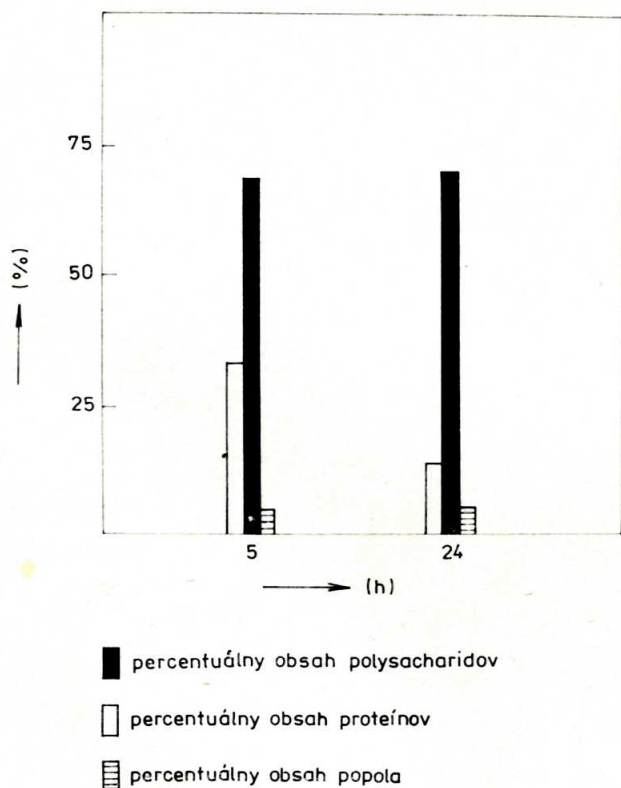
rozpuštná. Touto cestou získaná nerozpuštná frakcia obsahuje 30 % fosfolipidov a môže byť použitá ako emulgátor na prípravu instantného droždia. Z acetónového extraktu po odparení rozpúšťadla a zmydelnení možno získať sterolovú frakciu a to reextrakciou do hexánu. Z nej po prídavku acetónu a ochladení na -5°C možno vykryštalizovať ergosterol o čistote 62 %, vhodný na prípravu vitamínu D_2 pre farmáciu. Zo sedimentu sa teda dajú izolovať polysacharidy, steroly i fosfolipidy. Existuje však ešte ďalšie, aplikácie zaujímavé riešenie, ktoré umožňuje výhodne využiť celú sedimentnú frakciu po autolýze. Sediment po nariadení vodou na 8–10 %-nú suspenziu sa vysuší v rozprašovacej sušiarňi. Získaný jemný prášok krémovej farby možno využiť ako biosorbent inhibítorov vínnych kvasiniek v kvasiacom hroznovom mušte. Nami pripravený preparát bunkových stien so zachovanou lipidickou frakciou významne zvýšil rýchlosť skvasovania hroznového muštu oproti kontrole (kvasiaci mušt bez bunkových stien). Výsledky boli porovnateľné s komerčne vyrábaným prípravkom francúzskej firmy Fould-Springer, ktorý bol tiež paralelne vyskúšaný v príslušných experimentoch. Súčasne sme testovali aj delipidizované bunkové steny, avšak výsledok bol úplne opačný, t.j. došlo k inhibičnému efektu. Princíp účinku stencových preparátov z kvasiniek tkvie v tom, že vďaka veľkému špecifickému povrchu, viažu adsorbčným spôsobom inhibítory kvasenia. Vínne kvasinky sú v priebehu fermentácie postupne inhibované až do tej miery, že metabolizmus sa úplne zastaví. Bunkové steny, ktoré boli zbavené lipidov, zrejme stratili afinitu k týmto inhibítorm (kyselina dekanová, oktanová, atď.).

ZÁVER

Postupy usilujúce sa o izoláciu viacerých preparátov z kvasničných buniek musia zohľadniť viaceré kompromisy. Umožňujú síce získať niekoľko produktov, ale výťažky pochopiteľne nemôžu dosahovať efektívnosť izolačných postupov, ktorých cieľom je izolácia jednej látky („sólo“) z celej biomasy. Popísaný frakčionáčny postup však umožňuje viaceré variácie, pomocou ktorých možno zlepšiť výťažnosť jednej látky na úkor inej, resp. iných. Takéto modifikácie uvedeného postupu môžu byť vyvolané aktuálnymi požiadavkami, uprednostňujúcimi určitý produkt. Príslušné obmeny základného postupu umožňujúce obohatenie produktu frakcionácie o žiadanú zložku v prípade získavania preparátov invertázy, lipidickej a polysacharidovej frakcie, proteínopetidových koncentrátov, nízkomolekulových látok a nukleových kyselín, spojené s popisom ďalšej purifikácie a aplikácie v potravinárstve a vo farmácii, budú uverejnené v nasledujúcich publikáciách.

Literatúra

- [1] Oriental Yeast Co. Ltd. Osaka, Biochemicals by Oriental, 1986
- [2] Bovril Food Ingredients, Standfordshire, Yeast Products, 1987
- [3] ANDREWS B. A., ASENJO J. A.: Trends Biotech., **5**, 1987, s. 273
- [4] CHISTY, Y., MOO-YOUNG M.: Enzyme Microb. Technol., **8**, 1986, s. 194
- [5] KULA M. R., SCHÜTTE H.: Biotechnol. Progress, **3**, 1987, s. 31
- [6] ASENJO J. A., HONG J.: Separation, Recovery and Purification in Biotechnology, American Chemical Society, Washington, 1986
- [7] PEPPLER M.: Econom. Microbiol., **7**, 1982, s. 293
- [8] Pat. USA 4578272
- [9] Pat. Europ. 0191513
- [10] TULCHEVSKIJ M. G., PETROV K. P., BAL L. V.: Pischevaya promyshlennost, Respublikanski Mezhvedomsvenyi Nauchno-technicheski Sbornik, No. 30, 1984, s. 56
- [11] Turnergraphic Ltd., Basingstoke, The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients and other Laboratory Services, 1982/86
- [12] RUTTHOFF M.: Lebensmittell., **29**, 1982, s. 99
- [13] STEWART C. G.: Indian J. Microbiol., **21**, 1981, s. 171
- [14] SCHARF V., SCHLINGMANN M.: Intern. Zeitschrift Lebensmittel. Technol. Verfahrenstech., 1983
- [15] ŠTURDÍK E., KOLLÁR R.: Kvas. průmysl, **34**, 1988, s. 107
- [16] Pat. ČSSR AO 259288-88
- [17] FERENČÍK M., ŠKÁRKA B.: Biochemické laboratorné metódy, Alfa, Bratislava, 1981
- [18] DUBOIS M., et al. Anal. Chem., **28**, 1956, s. 350
- [19] Mikrotechna, Praha, Automatický analyzátor aminokyselín AAA 339, 1983



Obr. 4. Percentuálny obsah polysacharidov, proteínov a popola v sušenom preparáte bunkových stien získanom z delipidizovaného sedimentu autolýzátu po 5, resp. 24 h autolýzy pekárskeho droždia. Autolýza bola iniciovaná prídavkom 15 % (obj.) aktívneho kvasničného autolýzátu, 1 % (hmot.) NaCl, 5 % (hmot.) etanolu pri 50°C .

- [20] Lachema, Brno, BIO-LA-TEST na stanovení glukosy enzymaticky, 1984
- [21] DAVIDEK J. et al.: Laboratorní příručka analýzy potravin, 1. vyd. SNTL, Praha, 1981, s. 182
- [22] SPIRIN A. S.: Biochimija, **23**, 1958, s. 658
- [23] Lachema Brno, BIO-LA-TEST na stanovení fosforu, 1984
- [24] Pat. ČSSR AO 259289-88
- [25] GIERHARDT D. L., POTTER N. N.: J. Food Science, **43**, 1978, s. 1705

Lektoroval Ing. František Machek, CSc.

Šturdík, E. - Kollár, R. - Krčmář, S. - Forsthoffer, J. - Šajbidor, J. - Kollátiová, D.: Frakcionácia kvasničnej biomasy. III. Príprava hrubých preparátov pre potravinárstvo a farmáciu. Kvas. prům., **35**, 1989, č. 3, s. 74—78.

Bol vypracovaný postup komplexnej frakcionácie, ktorý umožňuje po dezintegrácii kvasničnej biomasy procesom iniciovanej autolýzy (vedenej v optimálnych podmienkach tak pre uvoľňovanie cytoplazmatického obsahu ako aj pre účely izolácie) získať nutričný koncentrát (kvasničný extrakt) s vysokým obsahom (70—80 %) proteínov a ich degradačných produktov, pozitívnymi organoleptickými vlastnosťami (chuť, farba, vôňa) a práškovitou konzistenciou, ďalej preparát invertázy (sneho-bielej prášok bez chuti a zápachu) s aktivitou enzýmu 10 μ kat na g sušiny, frakciu fosfolipidov (pastu tmavohnej farby) obsahujúcu 30 % aktívnej zložky, ergosterol (vo forme bielo-žltých kryštálikov) s čistotou viac ako 62 % a bunkové steny (delipidizované, resp. nezba-vené lipidov) obsahujúce viac ako 70 % polysacharidov.

Штурдик, Э. - Коллар, Р. - Крчмарж, С. - Форстхоффер, Ю. - Шайбидор, Я. - Коллатиова, Д.: Фракционирование дрожжевой биомассы. III. Получение крупных препаратов для пищевой и фармацевтической промышленности. Квас. прум. **35**, 1989, № 3, стр. 74—78.

Был разработан метод комплексного фракционирования, который позволяет после дезинтеграции дрожжевой биомассы процессом инициированного автолиза (проводящегося как в целях освобождения цитоплазматического содержания, так и с целью изоляции) получить питательный концентрат (дрожжевой экстракт) с высоким содержанием (70—80 %) протеинов и продуктов их расщепления, с положительными органолептическими свойствами (вкус, окраска, запах) и порошкообразным состоянием, далее препарат инвертазы (снегообразный порошок без вкуса и запаха) с активностью энзима 10 μ кат на г сухого вещества, далее фракцию фосфолипидов (пасту бурого цвета), содержащую 30 % активной компоненты, эргостерол (в форме бело-желтых кристалликов) чистотой более чем 62 % и клеточные

стенки (делипидизированные, или же не освобожденные от липидов), содержащие более чем 70 % полисахаридов.

Šturdík, E. - Kollár, R. - Krčmář, S. - Forsthoffer, J. - Šajbidor, J. - Kollátiová, D.: Fractionation of Yeast Biomass. III. Crude Preparates for Food and Pharmacy. Kvas. prům., **35**, 1989, No. 3, pp. 74—78.

A method of the complete yeast cell fractionation has been developed. After the yeast cell disintegration using the process of the initiated autolysis (performed under the optimum conditions for the release of the cytoplasmic content as well as with the aim of an isolation the following fractions) can be obtained: the yeast extract with 70 to 80 % of proteins and their degradation products having good sensorial properties (taste, colour, fragrance) and powder consistency; the prepare of invertase (tasteless white powder) with the enzyme activity of 10 μ kat per g dry weight; the phospholipid fraction (paste of dark brown colour) containing 30 % of the active compound; ergosterol (in the form of white-yellow crystals) with the purity above 62 %; cell walls (with or without lipids) containing more than 70 % of polysaccharides.

Šturdík, E. - Kollár, R. - Krčmář, S. - Forsthoffer, J. - Šajbidor, J. - Kollátiová, D.: Fraktionierung der Hefebiomasse. III. Bereitung von Grobpräparaten für die Lebensmittelindustrie und Pharmazie. Kvas. prům., **35**, 1989, Nr. 3, S. 74—78.

Es wurde ein Verfahren der komplexen Fraktionierung ausgearbeitet, das nach der Desintegration der Hefebiomasse durch den Prozeß der initiierten Autolysis (geführt unter optimalen Bedingungen sowie für die Freisetzung des cytoplasmatischen Inhalts als auch für Isolationszwecke) die Gewinnung eines nutritiven Konzentrats (Hefeextrakts) mit folgenden vorteilhaften Eigenschaften und Parametern ermöglicht: hoher Gehalt der Proteine (70—80 %) und ihrer Degradationsprodukte, positive organoleptische Eigenschaften (Geschmack, Farbe, Aroma), pulverige Konsistenz. Als weitere Produkte des Fraktionierungsprozesse entstehen: Invertase-Präparat (scheeweisses Pulver, ohne Geschmack und Geruch) mit einer Enzymaktivität von 10 μ kat pro g Trockensubstanz, Fraktion der Phospholipide Paste (tiefbrauner Farbe) mit einem Gehalt der Aktivkomponente von 30 %, Ergosterol (in Form weissegelber Kristalle) mit dem Reinheitsgrad über 62 % und Zellwände (delipidisierte, bzw. mit Lipiden) mit einem Polysacchariden-Gehalt über 70 %.