

FRAKCIONÁCIA KVASNIČNEJ BIOMASY

IX. Aplikácia skúseností s pekárskymi kvasinkami na iné druhy kvasiniek

Ing.R.KOLLÁR, Doc.Ing.E.ŠTURDÍK, Ing.D.VANDÁK, Ing.P.KRISTIŇÁK, Ing.R.VAVREK
Katedra biochemickej technológie, CHTF STU, 812 37 Bratislava

Kľúčové slová: pekárske droždie, krmné droždie, biomasa kvasiniek, *Kluyveromyces marxianus*, pivovarské kvasinky, frakcionácia biomasy

579 663

Ú V O D

Biomasa kvasiniek predstavuje významný surovinový zdroj pre izoláciu rozmanitých látok so širokým spektrom využitia [1]. Funkciu kvasničnej suroviny zohráva najčastejšie biomasa priemyselne produkovaných kvasiniek, predovšetkým pekárske droždie, ďalej krmné kvasinky vyrastené na rôznych typoch substrátov (syntetický etanol, melasa, sulfitové výluhy, n-alkány, atď.), ale tiež odpadná biomasa z klasických fermentačných výrob - pivovarské, vínne a liehovarské kaly. Keďže problematike zhodnotenia pekárskeho droždia boli venované predchádzajúce články v tomto časopise [2,3], sústreďme sa v úvode na spôsoby využitia biomasy krmných kvasiniek odpadných, pivovarských kvasiniek a kvasiniek vyrastených na srvátke.

V súčasnosti sa čoraz viac dostáva do pozornosti kvasničná biomasa vyrastená na médiu, obsahujúcom laktózu ako jediný zdroj uhlíka (srvátka, permeáty z ultrafiltrácie mlieka, atď.) a to jednak uspokojovaním dopytu po SCP, ako aj znižovaním kontaminácie životného prostredia uvedenými "odpadmi" [4]. V praxi sa spolu s kvasničnou biomasou (najčastejšie rod *Kluyveromyces*) ako vedľajší produkt získava etanol [5], ktorý sa ďalej využíva pri výrobe octu [6]. SCP získané kultiváciou *Kluyveromyces marxianus* sa vyznačuje zaujímavým spektrom aminokyselín, s vysokým obsahom leucínu, resp. valínu [7], ktoré predurčuje využívanie tejto biomasy na výrobu kvasničných extraktov. Najznámejším, komerčne vyrábaným extraktom tohto typu je "Prymex" (Universal Food Co., USA), ktorý sa aplikuje ako aditívum do širokej škály potravinárskych výrobkov [8]. *K. marxianus* patrí tiež k najvýznamnejším producentom enzýmu β -galaktozidázy, ktorá nachádza uplatnenie najmä v mliekárenskom priemysle (výroba delaktózových mliečnych výrobkov), ďalej ako aditívum do výrobkov s vyššou koncentráciou laktózy, kde zabraňuje jej kryštalizácii, ako aj pri hydrolyze laktózy v srvátke, ktorá sa môže potom použiť ako

sladidlo pri výrobe sirupov, cukríkov a malinoviek [9]. Okrem β -galaktozidázy sa z kvasiniek *K. marxianus* získava aj inulináza, používaná na riadenú hydrolýzu inulínu pri výrobe fruktózových sirupov [10] a protopektináza, využívaná pri príprave pektínu z rastlinných tkaní [11].

Ďalším možným zdrojom biomasy pre frakcionačné účely sú odpadné pivovarské kvasinky, ktoré sú často neefektívne využívané na krmné účely. Taktiež pivovarské kvasinky je možné (po odhorčení napr. s 95% etanolom) použiť na prípravu kvasničného extraktu, ktorý sa vyznačuje vysokým obsahom aminokyselín, nukleotidov a vitamínov [12]. Odhorčené pivovarské kvasinky môžu slúžiť, po úprave, ako čiastočná náhražka kakaa pri výrobe čokolády [13]. Sediment pivovarských kvasiniek so zvýšenou invertázovou aktivitou je možné využiť na inverziu sacharózových sirupov [14]. Pivovarské kvasinky sa používajú tiež ako vhodná surovina na prípravu enzýmov pre analytické účely (napr. pyruvátdehydrogenáza [15]). V ČR a SR sa z pivovarských kvasiniek vyrába kvasničný extrakt a nikotinamidadenín nukleotid v Imune Šarišské Michalany, preparát Pangamín v Pivovare Braník a.s. Pražské pivovary.

Krmné kvasinky (SCP), využívané ako bohatý zdroj proteínov v živočíšnej výrobe, je možné upravovať s cieľom zvýšenia nutričnej hodnoty produktu kyslou hydrolýzou (s H_2SO_4), resp. pôsobením hydrolytických enzýmov (pepsín, pankreatín) [16]. Krmné kvasinky vyrastené na syntetickom etanole slúžia na výrobu kvasničného extraktu ("Zyest") pridávaného do jedál s redukovaným obsahom NaCl [17]. Podobne v bývalém Československu bola patentovaná výroba extraktu z etanolových kvasiniek [18]. Kvasinky *Candida utilis* sú najvýznamnejším zdrojom na izoláciu RNA [19]. Vďaka výhodnejším technologickým vlastnostiam invertázy z *C. utilis* v porovnaní so *S. cerevisiae* (najmä väčšia stabilita) sa tento enzým čoraz častejšie získava z krmných kvasiniek [20]. Z biomasy vyrastenej na n-alkánoch (*Candida tropicalis*) je možné pripraviť bioemulgátor

vhodný pre potravinárske použitie [21]. Z kŕmnych kvasiniek sa taktiež získavajú enzýmy pre analytické použitie (napr. alkoholdehydrogenáza [22]).

Nadväzujúc na náš program frakcionácie pekárskeho droždia [23], ktorý umožňuje z autolyzátnych kvasiniek pekárskeho droždia pripraviť kvasničný extrakt, invertázu, ergosterol, fosfolipidy, preparát bunkových stien, β -glukan a manoproteíny, sme preverili aplikovateľnosť navrhnutého postupu na iných, ekonomicky vhodnejších typoch kvasničnej biomasy.

MATERIÁL A METÓDY

V experimentoch boli použité nasledovné druhy kvasničnej biomasy - komerčné lisované pekárske droždie *Sacharomyces cerevisiae* (Potravinársky kombinát, Droždiareň, Trebišov), používali sme 10% vodnú suspenziu, ďalej kŕmne kvasinky *Candida ethanolitolerans* (k.p.Seliko Olomouc, závod Kojetín) vo forme 14% kvasničného mlieka, ktoré sme pred experimentmi jedenkrát premyli a nariedili vodou na 10% suspenziu, pivovarské kvasinky *Sacharomyces carlsbergensis* (Pivovar Stein, Bratislava), ktoré boli pred experimentmi trikrát premyté vodou a nariedené na 10% suspenziu a nakoniec kvasinky *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* CCY-51-1-1 (priemyselný producent β -galaktozidázy), ktoré sme nakultivovali v laboratorných (fermentor LF II, Laboratorní přístroje, Praha) i poloprevádzkových podmienkach v Enzymovej poloprevádzke v Dolnej Krupej (1500 L fermentor Electrolux, Gettinge, Švédsko) v médiu obsahujúcom deproteinizovanú sladkú srvátku (deproteinizácia ultrafiltráciou na zariadení Amicon, USA, s membránami deliacimi molekulovú hmotnosť 10000, resp. autoklávaním pri tlaku 120 kPa po dobu 10 minút) a ako zdroj dusíka a rastových faktorov bol do srvátky pridávaný $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (10 g.l⁻¹) a kvasničný extrakt (2 g.l⁻¹), pričom kultivácia prebiehala 12 hodín pri teplote 28-30 °C a po skončení bola biomasa odseparovaná centrifugáciou (Janetzki K 80, Nemecko v laboratóriu, Alfa Laval BRPX, SGB 200, Švédsko v poloprevádzke). Cytoplazmatický obsah kvasničných buniek bol uvoľňovaný iniciovanou autolýzou, ktorá prebiehala pri teplote 50-55 °C, za stáleho miešania s prídavkom rôznych induktorov (NaCl, etanol, papaín, kvasničný autolyzátny). Médium po autolýze bolo vždy centrifugované a základné frakcie (supernatant i sediment) boli charakterizované z hľadiska obsahu hlavných komponentov bunky resp. ich degradačných produktov-proteíny metódou podľa Lowryho [24], nukleové kyseliny podľa Spirina [25], polysacharidy spektrofotometricky podľa Dubois a kol. [26] a lipidy gravimetricky po extrakcii Folchovým činidlom [27]. V supernatante bolo ďalej analyzované zloženie aminokyselín automatickým analyzátorom aminokyselín AAA 339 (Mikrotechna Praha) a obsah niektorých enzýmov s využitím spektrofotometrie. Invertázu sme stanovovali na základe koncentrácie uvoľnených redukujúcich látok (detekcia kyselinou 3,5-dinitrosalicilovou [28]) po inkubácii vzorky supernatantu (*S.cerevisiae*, *S.carlsbergensis*) nariedenej v 0,1 mol.l⁻¹ acetátovom pufrí (pH 4,7) s 0,8 mol.l⁻¹ sacharózou po dobu 5 minút, pri teplote 40 °C. β -galaktozidáza (*K.marxianus*) bola určo-

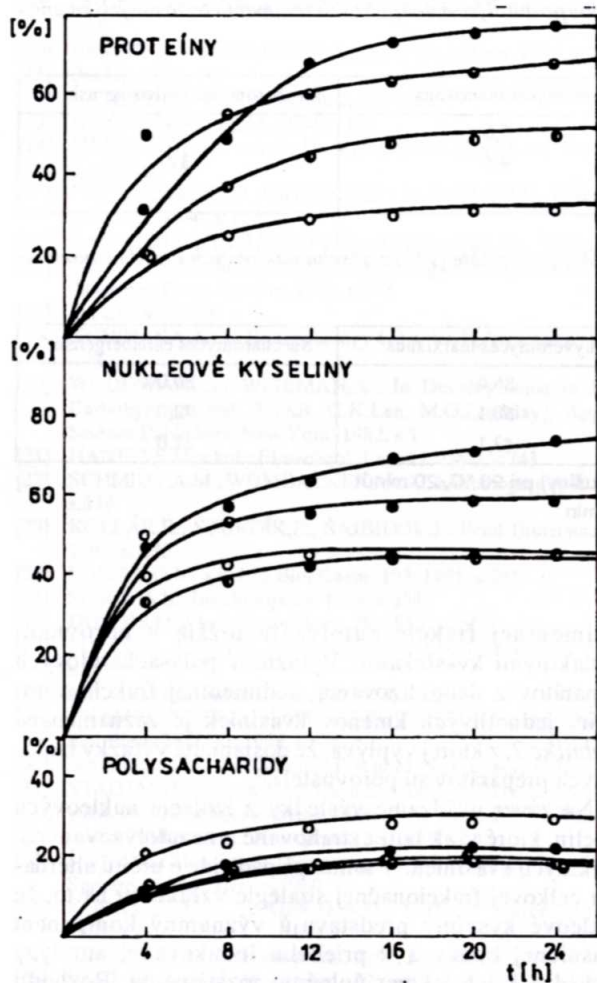
vaná inkubáciou (4 min. pri 24 °C) vzorky so substrátom o-nitrofenol- β -D-glukopyranozidom (ONPG) riedeným vo fosfátovom pufrí pH 6,5 [29]. Alkoholdehydrogenáza (*C.ethanolitolerans*) bola stanovená v pyrofosfátovom pufrí s prídavkom semikarbazidu a glycínu (pH 8,8). Ako substrát sme používali 2 mol.l⁻¹ etanol a NAD (24 mmol.l⁻¹) [30]. V sedimentnej frakcii autolyzátnych sme sledovali obsah celkových sterolov v izolovanej lipidickej frakcii Liebermann-Burchardovou metódou [31]. Zastúpenie hlavných štruktúr vo fosfolipidoch izolovaných postupom popísaným v predchádzajúcej práci [32], sme určili tenkovrstvovou chromatografiou (Silufol, Kavalier Sázava) vo vyvíjacej sústave $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ (65:25:4), pričom vizualizácia oddelených zón bola uskutočnená pomocou Dragendorffovho a ninhydrínového činidla [33]. Zloženie mastných kyselín bolo zisťované plynovou chromatografiou (CHROM 5, Laboratorní přístroje, Praha) [34]. Čistota izolovaných β -glukanov a manoproteínov (pripravených postupom podľa [35]) bola stanovovaná papierovou chromatografiou v dvoch vyvíjajúcich sústavách (etylacetát-kyselina octová-pyridín-voda 5:1:5:3 a n-butanol-pyridín-benzén-voda 7:3:2:1) po predchádzajúcej hydrolýze vzoriek v 0,5 mol.l⁻¹ H_2SO_4 pri 120 kPa (v autokláve) počas 3 hodín. Ribonukleové kyseliny boli izolované z neautolyzovanej biomasy kvasiniek - extrakciou roztokom NaCl (1g na g sušiny kvasiniek) a NaOH (0,025 g na g sušiny) pri teplote 100 °C počas 4 hodín (*S.cerevisiae*), ďalej úpravou pH suspenzie na hodnotu 11 (s NaOH 1 mol.l⁻¹) pri teplote 80 °C počas 3 minút (*K.marxianus*) a extrakciou NH_4OH 0,4 mol.l⁻¹ 1 hodinu pri teplote 40 °C (*S.carlsbergensis*). Ribonukleové kyseliny boli z extraktu precipitované úpravou pH na hodnotu 2 s HCl 1 mol.l⁻¹.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Cieľom tejto práce bolo overenie navrhnutého postupu frakcionácie pekárskeho droždia, ktorý bol vypracovaný na Katedre biochemickej technológie CHTF STU v Bratislave, na iných, potenciálnych surovinových zdrojoch kvasničnej biomasy. Vzhľadom na to, že pekárske droždie predstavuje hotový produkt, zamerali sme sa v tomto prípade na odpadné (pivovarské kvasinky, kvasinky vyrastené na srvátke, určené na produkciu β -galaktozidázy), resp. lacnejšie (kŕmne droždie) typy kvasničnej biomasy a porovnali sme ich vhodnosť pre izoláciu preparátov získaných v predchádzajúcom období z pekárskeho droždia.

V tab. 1 sú porovnané základné charakteristiky zloženia použitých typov kvasničnej suroviny. Z výsledkov vyplýva, že takmer vo všetkých parametroch sú uvedené kmene veľmi podobné, jedine v prípade kvasiniek *Sacharomyces carlsbergensis* (pivovarské kvasinky) je veľmi nízka hladina lipidov, ktorých izolácia a následné frakcionovanie na ergosterol a fosfolipidy by bolo zrejme ekonomicky málo zaujímavé.

Na rozrušenie bunkového obalu kvasiniek a uvoľnenie cytoplazmatického obsahu sme využili indukovanú autolýzu, ktorej priebeh a efektívnosť bola u všetkých použitých typov biomasy optimalizovaná. Na obr.1 je zaznamenaná kinetika uvoľňovania degradačných produktov proteínov,



Obr. 1. Uvoľňovanie intracelulárnych látok v % z pôvodného obsahu vo vstupnej surovine počas autolýzy

- *Saccharomyces cerevisiae*, teplota 50 °C, prídavok 1 % (hm.) NaCl, 5 % (hm.) etanolu a 15 % (obj.) autolýzátu
- *Kluyveromyces marxianus*, teplota 50 °C, prídavok 5 % (hm.) NaCl, 5 % (hm.) etanolu
- *Saccharomyces carlsbergensis*, teplota 55 °C, prídavok 1 mg/g sušiny papaínu a v 10 h autolýzy 1 mg/g sušiny celulózy
- ◆- *Candida ethanolitolerans*, teplota 55 °C, prídavok 1 mg/g sušiny papaínu

nukleových kyselín a polysacharidov v podmienkach, pri ktorých autolýza u použitých kmeňov prebiehala najefektívnejšie. Z porovnania jednotlivých závislostí vyplýva, že najväčšie množstvo cytoplazmatického obsahu sa v priebehu autolýzy uvoľnilo z kvasiniek *S.cerevisiae* (pekárské droždie), naopak pomerne nízky podiel degradačných produktov bunkových biopolymérov sme získali z kmeňa *Kluyveromyces marxianus*.

V pripravených extraktoch kvasiniek sme stanovili jednak zastúpenie základných zložiek (tab. 2) ako aj aminokyselinové zloženie, ktoré významne ovplyvňuje chuťové vlastnosti kvasničných extraktov (tab. 3). Najvýraznejšie odlišnosti sme zaznamenali v prípade extraktu pripraveného z kvasiniek *K.marxianus* a to nízku hladinu proteínov a ich degradačných produktov, avšak naopak vysokú koncentráciu nukleových kyselín, ktoré taktiež významne vplyvajú na kvalitu finálneho produktu. V prípade extraktu získaného z pekárského droždia je takmer 10násobne nižšia hladina celkových sacharidov, čo je dôsledkom ultrafiltrácie extraktu za účelom izolácie invertázy [36]. Z hľadiska aminokyselinového zloženia, v porovnaní s ostatnými kmeňmi, extrakt pripravený z kvasiniek *K.marxianus* obsahuje pomerne nízku koncentráciu kyseliny glutámovej, ktorá vo forme glutamátu má rozhodujúci vplyv na kvalitu extraktu, naopak najvyšší podiel tejto aminokyseliny sa nachádza v extrakte získanom z pivovarských kvasiniek.

Ako sme už naznačili, supernatant autolýzátu môže byť využitý, popri príprave kvasničného extraktu, aj ako zdroj enzýmov [37], ktoré sa počas autolýzy v určitej miere uvoľňujú do mimobunkového priestoru. Zamerali sme sa na tie enzýmy, ktorých hladina by mala byť v bunkách jednotlivých kmeňov elevovaná v závislosti od typu použitého produkčného média. V priebehu autolýzy sme sledovali množstvo uvoľnenej invertázy (*S.cerevisiae*, *S.carlsbergensis*), β -galaktozidázy (*K.marxianus*) a alkoholdehydrogenázy (*C.ethanolitolerans*) (tab. 4). I keď si uvedomujeme, že autolýza v mnohých prípadoch nie je najvhodnejšou metódou získavania enzýmov z buniek, pri použití jednoduchšej separačnej techniky (napr. zakonzentrovanie enzýmu ultrafiltráciou s vhodnou voľbou membrán) a väčšom množstve spracovávanej suroviny by mohla byť ich izolácia pravdepodobne zaujímavá.

Zo sedimentnej frakcie jednotlivých autolýzátov sme extrahovali lipidy, ktoré sú v pôvodnom postupe využívané na prípravu ergosterolu a fosfolipidov. Z týchto dôvodov sme v izolovaných lipidoch stanovovali hladinu

Tab. 6 Zastúpenie mastných kyselín vo fosfolipidoch (v %) izolovaných z použitých typov kvasničnej biomasy

Mastné kyseliny	<i>S.cerevisiae</i>	<i>K.marxianus</i>	<i>S.carlsbergensis</i>	<i>C.ethanolitolerans</i>
myristová	7,1	2,1	0,4	1,2
palmitová	14,2	46,3	19,2	20,7
palmitoolejová	29,2	26,7	9,7	22,9
steárová	-	10,6	0,9	2,3
olejová	15,3	13,5	30,6	14,3
linolová	8,7	-	31,9	24,7
linolénová	9,7	0,9	4,3	10,9
laurová	2,8	-	-	1,5
myristoolejová	6,6	-	-	-

Tab. 1 Charakterizácia zloženia základných bunkových komponentov vo vybraných typoch kvasničnej biomasy (v %)

Zložka	<i>S.cerevisiae</i>	<i>K.marxianus</i>	<i>S.carlsbergensis</i>	<i>C.ethanolitolerans</i>
Proteíny	42-48	45-50	37-42	40-45
Nukleové kyseliny	9-11	10-11	10-12	9-12
Celkové sacharidy	38-42	30-35	36-40	38-42
Lipidy	4-5	7-8	1-2	4-5

Tab. 2 Zloženie sušených kvasničných extraktov získaných z biomasy frakcionovaných kvasiniek (v %)

Zložka	<i>S.cerevisiae</i>	<i>K.marxianus</i>	<i>S.carlsbergensis</i>	<i>C.ethanolitolerans</i>
Sušina	95,0	95,4	-	92,0
Popol	36,3	40,4	25,0	37,0
Celkový dusík	10,8	5,4	8,0	6,6
Nukleové kyseliny	8,6	16,3	11,0	9,7
Celkové sacharidy	2,2	21,8	20,5	17,1

Tab. 3 Zastúpenie aminokyselín (v g na 100 g bielkovín) v pripravených kvasničných extraktoch

Aminokyseliny	<i>S.cerevisiae</i>	<i>K.marxianus</i>	<i>S.carlsbergensis</i>	<i>C.ethanolitolerans</i>	Proteín FAO/WHO
Treonín	4,4	4,5	5,2	4,6	4,6
Valín	4,9	4,5	6,1	4,3	5,0
Metionín	1,6	0,5	1,3	2,3	-
Cysteín	0,5	2,5	0,1	2,1	3,5
Izoleucín	4,1	1,2	5,3	2,8	4,0
Leucín	6,2	6,0	4,3	4,8	7,0
Fenylalanín	3,3	4,3	4,6	4,2	-
Tyrozín	3,6	2,0	4,1	2,2	6,0
Lyzín	6,8	6,6	7,9	6,8	-
Kys.asparágová	8,5	11,8	11,1	12,7	5,5
Kys.glutámová	12,0	8,5	14,1	11,4	-
Serín	4,0	4,9	5,2	5,3	-
Glycín	3,3	5,3	4,4	5,8	-
Hystidín	2,4	2,2	2,2	3,1	-
Arginín	3,2	4,4	5,8	3,9	-
Alanín	5,5	6,0	7,1	6,6	-
Prolín	5,1	5,1	6,3	5,9	-

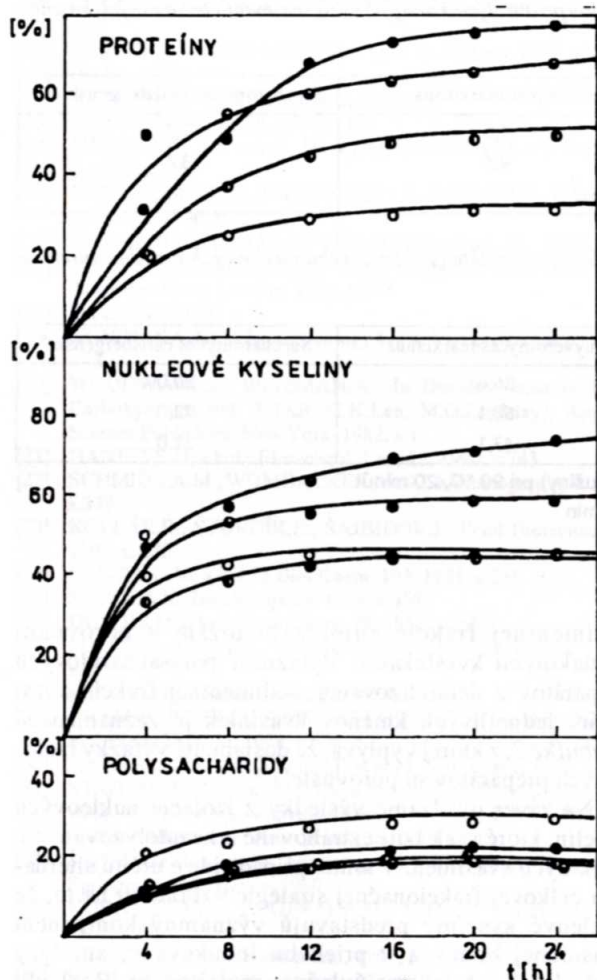
Tab. 4 Aktivita enzýmov (v μ kat na g sušiny) v biomase frakcionovaných kmeňov kvasiniek a podiel uvoľnených enzýmov (v %) po ukončení indukovanej autolýzy

Biomasa	Invertáza		β -galaktozidáza		alkoholdehydrogenáza	
	μ kat/g _s	% uvoľ.	μ kat/g _s	% uvoľ.	μ kat/g _s	% uvoľ.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	320	10	-	-	nestanovené	-
<i>Kluyveromyces marxianus</i> ^a	nízka	-	16,6	7	-	-
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	22	45	-	-	-	-
<i>Candida ethanolitolerans</i>	-	-	-	-	800	10

a-autolýza prebiehala pri 30 °C v prítomnosti 0,1 mol.l⁻¹ citranu sodného a 10% etanolu

Tab. 5 Obsah sterolov (v %) v lipidoch intaktných a v sedimente autolyzovaných buniek testovaných kmeňov kvasiniek (v mg sterolov na g lipidu)

Steroly	<i>S.cerevisiae</i>	<i>K.marxianus</i>	<i>S.carlsbergensis</i>	<i>C.ethanolitolerans</i>
Intaktné bunky	32,0	37,0	30,2	31,2
Sediment autolýzátu	66,0	56,0	38,1	49,8



Obr. 1. Uvoľňovanie intracelulárnych látok v % z pôvodného obsahu vo vstupnej surovine počas autolýzy
●- *Saccharomyces cerevisiae*, teplota 50 °C, prídavok 1% (hm.) NaCl, 5% (hm.) etanolu a 15% (obj.) autolýzátnu
○- *Kluyveromyces marxianus*, teplota 50 °C, prídavok 5% (hm.) NaCl, 5% (hm.) etanolu
■- *Saccharomyces carlsbergensis*, teplota 55 °C, prídavok 1 mg/g sušiny papaínu a v 10 h autolýzy 1 mg/g sušiny celulózy
□- *Candida ethanolitolerans*, teplota 55 °C, prídavok 1 mg/g sušiny papaínu

nukleových kyselín a polysacharidov v podmienkach, pri ktorých autolýza u použitých kmeňov prebiehala najefektívnejšie. Z porovnania jednotlivých závislostí vyplýva, že najväčšie množstvo cytoplazmatického obsahu sa v priebehu autolýzy uvoľnilo z kvasiniek *S.cerevisiae* (pekárské droždie), naopak pomerne nízky podiel degradačných produktov bunkových biopolymérov sme získali z kmeňa *Kluyveromyces marxianus*.

V pripravených extraktoch kvasiniek sme stanovili jednak zastúpenie základných zložiek (tab. 2) ako aj aminokyselinové zloženie, ktoré významne ovplyvňuje chuťové vlastnosti kvasničných extraktov (tab. 3). Najvýraznejšie odlišnosti sme zaznamenali v prípade extraktu pripraveného z kvasiniek *K.marxianus* a to nízku hladinu proteínov a ich degradačných produktov, avšak naopak vysokú koncentráciu nukleových kyselín, ktoré taktiež významne vplývajú na kvalitu finálneho produktu. V prípade extraktu získaného z pekárského droždia je takmer 10násobne nižšia hladina celkových sacharidov, čo je dôsledkom ultrafiltrácie extraktu za účelom izolácie invertázy [36]. Z hľadiska aminokyselinového zloženia, v porovnaní s ostatnými kmeňmi, extrakt pripravený z kvasiniek *K.marxianus* obsahuje pomerne nízku koncentráciu kyseliny glutámovej, ktorá vo forme glutamátu má rozhodujúci vplyv na kvalitu extraktu, naopak najvyšší podiel tejto aminokyseliny sa nachádza v extrakte získanom z pivovarských kvasiniek.

Ako sme už naznačili, supernatant autolýzátnu môže byť využitý, popri príprave kvasničného extraktu, aj ako zdroj enzýmov [37], ktoré sa počas autolýzy v určitej miere uvoľňujú do mimobunkového priestoru. Zamerali sme sa na tie enzýmy, ktorých hladina by mala byť v bunkách jednotlivých kmeňov elevovaná v závislosti od typu použitého produkčného média. V priebehu autolýzy sme sledovali množstvo uvoľnenej invertázy (*S.cerevisiae*, *S.carlsbergensis*), β -galaktozidázy (*K.marxianus*) a alkoholdehydrogenázy (*C.ethanolitolerans*) (tab. 4). I keď si uvedomujeme, že autolýza v mnohých prípadoch nie je najvhodnejšou metódou získavania enzýmov z buniek, pri použití jednoduchšej separačnej techniky (napr. zakonzentrovanie enzýmu ultrafiltráciou s vhodnou voľbou membrán) a väčšom množstve spracovávanej suroviny by mohla byť ich izolácia pravdepodobne zaujímavá.

Zo sedimentnej frakcie jednotlivých autolýzátnov sme extrahovali lipidy, ktoré sú v pôvodnom postupe využívané na prípravu ergosterolu a fosfolipidov. Z týchto dôvodov sme v izolovaných lipidoch stanovovali hladinu

Tab. 6 Zastúpenie mastných kyselín vo fosfolipidoch (v %) izolovaných z použitých typov kvasničnej biomasy

Mastné kyseliny	<i>S.cerevisiae</i>	<i>K.marxianus</i>	<i>S.carlsbergensis</i>	<i>C.ethanolitolerans</i>
myristová	7,1	2,1	0,4	1,2
palmitová	14,2	46,3	19,2	20,7
palmitoolejová	29,2	26,7	9,7	22,9
steárová	-	10,6	0,9	2,3
olejová	15,3	13,5	30,6	14,3
linolová	8,7	-	31,9	24,7
linolénová	9,7	0,9	4,3	10,9
laurová	2,8	-	-	1,5
myristoolejová	6,6	-	-	-

- [9] OGUNRINOLA, I.A., JEON, I.J., PONTE, J.G.: *J. Food Sci.* 1, 1988, s.16
- [10] PAREKH, S., MARGARITIS, A.: *Agric. Biol. Chem.* 1986, s.1085
- [11] Pat. Jap. 5 971 799
- [12] Xu, J.L., Su, H.: *Zh. Tiaoweipin* 2, 1990, s.5
- [13] Anonym: *Food Eng.* 56, 1984, s.105
- [14] FILIPOVSKI, A.V. a kol.: *Izv. Vysch. Ucheb. Zov., Pisch. Technol.* 2, 1985, s.113
- [15] CHERIKEVICK, I.P., GRITSENKO, I.P., BAUM, V.V.: *Odkrytija Izobret.* 5, 1990, s.128
- [16] GAMAL, N.F., GAMAL, R.F.: *Egypt. J. Microbiol.* 25, 1989, s.59
- [17] PEPPLER, M.J.: In *Economic Microbiology* vol. 7 (ed. A.H. Rose) Academic Press, London, 1982, s.293
- [18] Pat. ČSFR 917 98
- [19] KUNINAKA, A.: In *Biotechnology* vol. 4, VCH, Weinheim, 1986, s.73
- [20] WOODWARD, I., WISEMAN, A.: In *Developments in Food Carbohydrates* vol. 3 (eds. C.K. Lee, M.G. Lindsay), Applied Science Publishers, New York, 1982, s.1
- [21] HANJET, S.U. a kol.: *Biotechnol. Lett.* 12, 1990, s.743
- [22] SCHMIDT, A.M., WOMBACHER, M.: *J. Chromatography* 9, 1990 s.379
- [23] KOLLÁR, R., ŠTURDÍK, E., ŠAJBIDOR, J.: *Food Biotechnol.* 6, 1992, s. 225
- [24] LOWRY, O.M. a kol.: *J. Biol. Chem.* 193, 1951, s.265
- [25] SPIRIN, A.S.: *Biochimija* 23, 1958, s.658
- [26] DUBOIS, M. a kol.: *Anal. Chem.* 28, 1956, s.250
- [27] FOLCH, J., LESS, M., Stanley, G.H.S.: *J. Biol. Chem.* 226, 1957, s.497
- [28] MILLER, G.L.: *Anal. Chem.* 31, 1959, s.426
- [29] CHAMPLUVIER, B., KAMP, B., ROUXHET, P.G.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1988, s.606
- [30] Worthington Enzyme Manual, Freehold, New Jersey, 1972, s.1
- [31] STADTMAN, C.T.: In *Methods in Enzymology* III (eds. P.S. Colowick, N.O. Kaplan), Academic Press, New York, 1957, s.392
- [32] ŠAJBIDOR, J. a kol.: *Kvas. prům.*, 35, 1989, s.242
- [33] STAHL, E.: *Thin-Layer Chromatography, A laboratory Handbook*, Springer Verlag, Berlin, 1969
- [34] KOBAYASHI, K., SUGINAKA, H., YANO, I.: *Microbios* 51, 1987, s.37
- [35] KOLLÁR, R. a kol.: *Kvas. prům.*, 1991, 38, 1992, s. 225
- [36] KOLLÁR, R. a kol.: *Kvas. prům.*, 37, 1991, s.12
- [37] KOLLÁR, R. a kol.: *Kvas. prům.*, 36, 1990, s.304

Lektoroval Ing. F. Machek, CSc.
Do redakce došlo 2. července 1991

Kollár, R., Šturdík, E., Vandák, D., Kristiňák, P., Vavrek, R.: Frakcionácia kvasničnej biomasy. IX. Aplikácia skúseností s pekárskymi kvasinkami na iné druhy kvasiniek. *Kvas. prům.*, 39, 1993, č.12, s. 366 - 371.

Vypracovaný postup komplexnej frakcionácie pekárskeho drożdžia (Pat. ČS 259 288), umožňujúci prípravu kvasničného extraktu, invertázy, ergosterolu, fosfolipidov, bunkových stien, manoproteínov a β -glukanu bol odskúšaný na iných, lacnejších zdrojoch priemyselne produkovaných typov kvasničnej biomasy. V experimentoch bola využitá biomasa krmných kvasiniek *Candida ethanolitolerans* vyrastená na syntetickom etanole,

odpadné pivovarské kvasinky *Saccharomyces carlsbergensis* a kvasinky *Kluyveromyces marxianus* vypestované na srvátke. Spomenutý frakčionálny postup je možné s určitými obmenami aplikovať aj na ďalšie typy kvasničnej biomasy.

Коллар, П. - Штурдик, Е. - Вандак, Д. - Кристиньяк, П. - Ваврек, П.: Фракционирование дрожжевой биомассы. IX. Применение опыта с хлебопекарными дрожжами на другие виды дрожжей. *Квас. прум.*, 39, 1993, № 12, стр. 366 - 371

Разработанный метод комплексного фракционирования хлебопекарных дрожжей (Пат ЧСФР 259 288), позволяющий получение дрожжевого экстракта, инвертазы, эргостерола, фосфолипидов, клеточных стенок, маннотеинов и β -глюкана был исследован на других, более дешевых источниках промышленным путем получаемых типов дрожжевой биомассы. В экспериментах была использована биомасса кормовых дрожжей, выращенная на синтетическом этаноле, отходные пивоваренные дрожжи и дрожжи, выращенные на сыворотке. Отмеченный способ фракционирования с определенными изменениями можно применять и для других видов дрожжевой биомассы.

Kollár, R., Šturdík, E., Vandák, D., Kristiňák, P., Vavrek, R.: Fractionation of Yeast Biomass. IX. Application of Skills with Baker's Yeasts to other Yeast Species. *Kvas. prům.*, 39, 1993, No.12, pp 366 - 371

The procedure of the complex fractionation of baker's yeast (Pat. CS 259 288) for a preparation of yeast extract, invertase, ergosterol, phospholipids, cell walls, mannoproteins and β -glucans was applied to other cheaper industrially produced types of yeast biomass. The experiments were performed with *Candida ethanolitolerans* cultured on synthetic ethanol, brewing waste yeast of *Saccharomyces carlsbergensis* and *Kluyveromyces marxianus* grown on whey. The slightly adapted fractionation procedure can be applied to other types of yeast biomass, as well.

Kollár, R., Šturdík, E., Vandák, D., Kristiňák, P., Vavrek, R.: Fraktionierung der Hefebiomasse. IX. Applikation der Erfahrungen mit Backhefen auf andere Hefearten. *Kvas. prům.*, 39, 1993, č.12, s. 366 - 371

Das ausgearbeitete Verfahren der komplexen Fraktionierung der Backhefe (Patent ČS 259 288), der die Zubereitung von Hefeextrakt, Invertase, Ergosterol, Phospholipiden, Zellwände, Manoproteine und β -Glukan ermöglicht, wurde auf anderen, billigeren Quellen industriell produzierten Biomassetypen ausprobt. In den Experimenten wurde die Biomasse der Futterhefen *Candida ethanolitolerans*, auf synthetischen Äthanol ausgewachsen, benutzt, sowie auch der Brauerei-Abfallhefe *Saccharomyces carlsbergensis* und auf Molke gezüchtete Hefen *Kluyveromyces marxianus*. Das erwähnte Fraktionierungsverfahren kann mit bestimmter Modifikation auch auf weitere Typen der Hefebiomasse appliziert werden.