

Studium der Verluste von aromatischen Bestandteilen ind gefriergetrockneten Produkten

Zusammenfassung

Der Einfluss der Temperatur des Materials bei der Gefriertrocknung von Zwiebeln auf die Erhaltung des Aromas wurde von den Autoren studiert. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass auf den Verlust der aromatischen Stoffe die Temperatur des Aufwärmens einen wesentlichen Einfluss hat.

O stabilite nukleových kyselín (RNA a DNA) v zmrazených a lyofilizovaných mikrobiálnych bunkách*

J. ARPAI, Z. LEŠKOVÁ, D. LONGAUEROVÁ A J. TOMIŠOVÁ

Kľúčová funkcia nukleových kyselín pri životných procesoch bunky dáva predpoklad k tomu, aby sa efekt konzervácie, resp. stabilizácie biologického, a to menovite mikrobiálneho materiálu, nízkymi teplotami, ako aj lyofilizáciou, sledoval na základe stálosti alebo prípadných zmien v zložení nukleových kyselín.

Ako p o k u s n ý m a t e r i á l s m e p o u ž i l i r ô z n e d r u h y m i k r o o r g a n i z m o v, m e z o f i l n ý c h a j p s y c h r o f i l n ý c h, n e r o v n a k e j r e z i s t e n c i e v o č i c h l a d u a v y s u š e n i u. V r á m c i d r u h o v s m e s l e d o v a l i r ô z n e k m e n e, a b y g e n e t i c k y p o d m i e n e n é v l a s t n o s t i o r g a n i z m o v, n a j m ä i c h r e z i s t e n c i a, s a d a l a v y d i f e r e n c o v a ť. P r a c o v a l i s m e s m e z o f i l n ý m i b a k t é r i a m i: *Escherichia coli*, *Micrococcus percitreus*, *Micrococcus cinnabareus*, *Sarcina lutea*, *Streptococcus faecalis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*; s o p s y c h r o f i l n ý m i b a k t é r i a m i: *Pseudomonas fluorescens* a *Achromobacter album*, k ý m š p e c i á l n e p o m e r y u s p o r u l á t o v s m e š t u d o v a l i n a a e r ó b o c h *Bacillus megaterium* a a n a e r o b o c h *Clostridium sporogenes*. S p o m e d z i k v a s i n k o v i t ý c h o r g a n i z m o v s m e s i v y b r a l i k m e n e p a t r i a c e k d r u h o m *Torulopsis* sp. *Pichia* sp., *Debaryomyces* sp. a *Sacharomyces* sp.

N a z m r a z o v a n i e, a k o a j n a l y o f i l i z á c i u s m e o d o b r a l i b u n k o v ý m a t e r i á l z m i k r o b i á l n y c h k u l t ú r r ô z n e h o v e k u, t. j. z r ô z n y c h r a s t o v ý c h f á z. O d s t r e d e n é a p r e m y t é b u n k y s a s u s p e n d o v a l i d o i z o t o n i c k é h o, a k o a j d o h y p e r t o n i c k é h o a h y p o t o n i c k é h o p r o s t r e d i a s o b s a h o m r ô z n y c h s o l í, b i e l k o v i n a c u k r o v. K o n c e n t r á c i a b u n k o v ý c h s u p e n z i í s a n e f e l o m e t r i c k y n a s t a v i l a v o č i š t a n d a r d u n a d v e e x t r é m n e h o d n o t y, t. j. n a r e l a t i v n e n í z k u k o n c e n t r á c i u (o k o l o 10^6 b u n i e k) m l a v y s o k ú (o k o l o 10^8 b u n i e k m l).

T e c h n i k a z m r a z o v a n i a z á l e ž a l a n a t o m, ž e s a b u n k o v ý m a t e r i á l p o n á r a l p o u r č i t ý č a s d o z m r a z o v a c i e h o r o z t o k u o t e p l o t e -7 , -18 , -78 °C, r e s p. d o t e k u t é h o d u s i k a o -192 °C. R o z m r a z o v a l o s a p o m a l y (p r i 5 °C) a r ý c h l o (p r i 40 °C).

* Referát prednesený na „Refrisyme“ v októbri 1965.

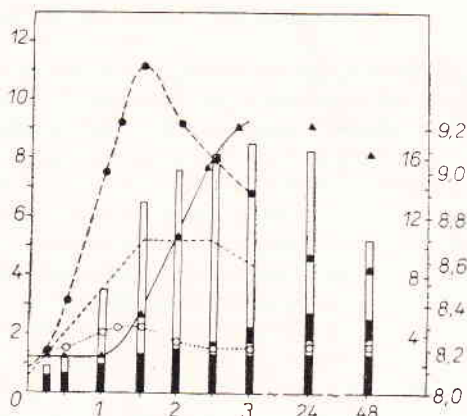
Lyofilizovali sa bunky suspendované do sterilného odstredeného mlieka. Na urýchlenie procesu odparovania sme do ampuliek vkladali prúžok chromatografického papiera. Pri zmrazovaní sa dosahovala teplota okolo -70°C , vysušovanie prebiehalo do zvyškovej vlhkosti okolo 8,5 a 2 % stanovenej podľa metódy Fabiana. Z lyofilizovaných kultúr sme uchovávali časť v chladničke a časť sme termostatovali pri 30°C .

Rehydratované kultúry sme vyočkovali na minimálne a na pôdy obohatené diferencovanými živinami. Táto pracovná technika nám umožňovala študovať na základe výživových nárokov fyziologické zmeny vyvolané následkom zmrazovania, resp. lyofilizácie.

Za všetkých týchto pokusných podmienok, ktoré slúžili tomu, aby sme zistili čo najširšiu škálu faktorov podmieňujúcich kryo- resp. xerorezistenciu, sme súbežne so stanovovaním celkového počtu buniek, ich prežívania a fyziologického poškodenia následkom zmrazovania alebo lyofilizácie, robili aj rozboru obsahu nukleových kyselín v bunke, postupujúc podľa metódy Ogur-Rosenovej, resp. Spirin-Belozerského.

Z výsledkov komplexného výskumu, v ktorom pokračujeme už celý rad rokov, vyberáme na tomto mieste tie, ktoré sa typickým spôsobom prejavovali za všetkých pokusných podmienok, a preto — ako sa zdá — majú širšiu platnosť.

Je to predovšetkým vysoko signifikantná korelácia medzi kryorezistenciou ako aj xerorezistenciou pokusných organizmov a obsahom nukleových kyselín, resp. ich zmien, ktoré nastávajú v priebehu životných procesov. Ako z grafu na obr. 1 vyplýva, obsah RNA a DNA v bakteriálnych bunkách sa typickým spô-



Obr. 1. Zmeny obsahu nukleových kyselín (RNA, DNA a ich vzájomného pomeru) v bunkách *Escherichia coli* počas rastu vo vzťahu ku kvóte odumierania vyvolaného dlhodobým štandardným spôsobom realizovaným sublimačným sušením. Absolútny obsah RNA na bunku (—●—●—), DNA na bunku (...○...○...), ich vzájomný pomer (—○—○—), rastová krivka (—▲—▲—). Na osi poradníc vľavo: stupnica pre absolútny obsah RNA a DNA v bunke v $\text{g} \cdot 10^{-14}$; na osi poradníc vpravo na vnútornej strane: stupnica pre RNA : DNA; na vonkajšej strane stupnica k rastovej krivke vyjadrujúca log počtu buniek na ml. Šrafované stĺpce: kvóta odumierania (v %), príslušná stupnica na vnútornej strane osi poradníc vľavo. Na osi úsečiek: čas rastu v hodinách.

sobom mení v priebehu rastu a súbežne aj ich rezistencia, ktorá je pri zmrazovaní ako aj pri lyofilizácii tým vyššia, čím je kvóta prírastku novosyntetizovaných nukleových kyselín menšia. Naproti tomu vyššia počiatočná hladina nukleových kyselín má za následok relatívne zvýšenie rezistencie. To má všeobecnú platnosť, lebo vo všetkých prípadoch, v ktorých — či už následkom druhových vlastností alebo kultivačných podmienok — bol obsah nukleových kyselín vysoký alebo ich vzájomný pomer priaznivý v uvedenom zmysle, bol podiel buniek prežívajúcich zmrazovanie primerane vyšší. Faktory ovplyvňujúce mikrobicidnosť zmrazovania v kladnom zmysle, ktoré sú najmä nefyziologické pH; hypotonické prostredie alebo také prostredie, ktoré je chudobné na rozpustné alebo koloidné látky; nevyvážená výživa; pomalý teplotný spád a disproporcie medzi rýchlosťou zmrazovania a rozmrazovania, sa ukázali byť vždy menej účinné voči organizmom s vysokým obsahom nukleových kyselín. Obdobne to platí aj pre podmienky, ktoré nepriaznivo ovplyvňujú prežívanie buniek pri lyofilizácii, t. j. najmä účinok extrémneho vysušovania.

Keď sme vo svetle týchto poznatkov skúmali stabilitu nukleových kyselín v bunkách testorganizmov a uviedli ju do vzťahu k prežívaniu buniek po zmrazovaní a lyofilizácii, zistili sme obdobné vzťahy. Pokles hladiny nukleových kyselín ako aj nepriaznivé presuny v ich vzájomnom pomere sú vo vysokosignifikantnej korelácii k zníženému konzervačnému efektu zmrazovania a lyofilizácie.