

## Frakcionácia a využitie komponentov pekárskoho droždia

ROMAN KOLLÁR – ERNEST ŠTURDÍK – JAN ŠAJBIDOR – JOZEF ŠANDULA –  
STANISLAV KRČMÁŘ – JÚLIUS FORSTHOFFER

**Súhrn.** Postup komplexnej frakcionácie pekárskeho droždia umožňuje po dešintegrácii kvasničnej biomasy procesom iniciovanej autolýzy získať kvasničný extrakt využiteľný v potravinárstve ako ochuťovadlo, resp. ako súčasť diagnostických pód v mikrobiológii a kultivačných médií vo fermentačnom priemysle, ďalej preparát invertázy pre cukrovinkárstvo, ergosterol využiteľný ako prekursor vitamínu D<sub>2</sub>, resp. na prípravu toxických látok pre deratizačné účely (pri väčšej dávke UV žiarenia), fosfolipidy s vhodnými emulgačnými vlastnosťami na prípravu instantného droždia, kvasničné bunkové steny na stimuláciu kvasenia „problematických“ hroznových muštov a kvasničné glukány na zvyšovanie nešpecifickej imunitnej odpovede organizmu.

Biomasa kvasiniek je zdrojom mnohých cenných látok, ktoré sa využívajú v rozličných oblastiach najmä potravinárskeho priemyslu. Stredobodom pozornosti sú predovšetkým proteíny (krmivo, resp. aplikácie v humánnej výžive) [1], enzýmy (invertáza pre cukrovinný priemysel) [2], nukleové kyseliny (príprava 5'-nukleotidov ako ochuťovadiel) [3], lipidy (ergosterol na výrobu vitamínu D<sub>2</sub>) [4], polysacharidy bunkových stien (imunoaktívne  $\beta$ -glukány a manány) [5] a vitamíny (najmä skupiny B) [6]. Uvedené komponenty sa doteraz získavali z kvasničnej biomasy väčšinou „sólou“ izoláciami.

Súčasný svetový trend v zhodnocovaní biomasy kvasiniek sa orientujú troch základnými smermi: na izoláciu vysoko purifikovaných preparátov [7], na prípravu viaczložkových produktov [8] a na súčasné získavanie viacerých komponentov bunky rôznej čistoty v rámci komplexnejšieho (menej odpadového) využitia suroviny [9].

V prípade veľmi čistých prípravkov vysoká cena dovoľuje použiť i náročnejšie operácie, a to pri dešintegrácii buniek i následnom izolovaní a čistení produktov. Predovšetkým ide o biochemikálie, ktoré sa využívajú na vedecké

---

Ing. Roman Kollár, doc. Ing. Ernest Šturdík, CSc., Ing. Ján Šajbidor, CSc., Katedra biochemickej technológie ČHTF SVŠT, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

RNDr. Jozef Šandula, CSc., Chemický ústav CCHV SAV, Dúbravská cesta 9, 842 38 Bratislava.

Ing. Stanislav Krčmář, CSc., Ing. Július Forsthofer, CSc., Výskumný ústav LIKO, Miletičova 23, 842 69 Bratislava.

i aplikačné účely. Najznámejšími výrobcami sú firmy Boehringer (NSR), Sigma Chemical Company (USA) a Oriental Yeast Company (Japonsko).

Naopak, veľmi jednoduché postupy vyžaduje príprava lacnejších, viaczložkových preparátov so širokým spektrom využitia. Príkladom sú predovšetkým kvasničné autolyzáty a extrakty používané najmä v potravinárstve (aditíva, ochuťovadlá, antioxidanty), resp. ako zložky diagnostických a kultivačných pôd. V uvedených smeroch vykazujú významnú aktivitu firmy Provesta Corporation (USA), Gist-Brocades (Holandsko), Pure Products (USA) a Gibco Europe (Škótsko).

V posledných rokoch sa prejavuje tendencia pristupovať k spracovaniu kvasničnej biomasy komplexne. Voľba dezintegračných a izolačných postupov sa podriaďuje cieľu získať z kvasiniek súčasne viacero produktov. Zo svetových výrobcov je v tomto smere významná najmä firma Hoechst (NSR), ktorá sa zameriava na prípravu proteínového koncentrátu spolu so získavaním nukleových kyselín a frakcie lipidov. Funkciu suroviny môže vo frakcionačných projektoch plniť rozmanitá škála mikroorganizmov. Z technologického hľadiska sa však pozornosť sústreďuje najmä na pekárské a kŕmne kvasinky, resp. odpady klasických fermentačných technológií, ako vínne kaly a pivovarské kvasinky [10].

V ČSSR bola začiatkom osemdesiatych rokov v rámci úlohy štátneho plánu technického rozvoja P-11-529-505 rozpracovaná problematika „komplexnej frakcionácie kvasničnej biomasy“. Cieľom tejto úlohy bolo vytvoriť bezodpadovú technológiu zameranú na prípravu súčasne niekoľkých preparátov z kvasiniek. Základnú izolačnú stratégiu navrhli pracovníci MBÚ ČSAV v spolupráci s VÚ LIKO, pričom hlavný dôraz sa kládol na získanie kvasničnej bielkoviny využiteľnej v ľudskej výžive. Otázka dezintegrácie kvasničnej bunkovej steny sa v tomto programe riešila fyzikálnymi metódami – expanznou dekompresiou a mletím biomasy s abrazívami.

Súčasťou úlohy P-11-529-505 koordinovanej VÚ LIKO bolo aj rozpracovanie náhradnej – alternatívnej technológie. Touto úlohou bola poverená Katedra biochemickej technológie CHTF SVŠT v Bratislave. Experimentálna práca sa zameriavala na výber a optimalizáciu efektívnej metódy dezintegrácie, odlišnej od spôsobu navrhnutého MBÚ ČSAV-VÚ LIKO. Druhá časť úlohy spočívala v navrhnutí izolačnej stratégie, ktorá by vychádzala z daného spôsobu rozrušenia bunkového obalu.

### **Materiál a metódy**

Experimenty sme realizovali komerčným lisovaným pekárskym droždím (Droždiareň Trebišov). Používali sme 10 % suspenziu pripravenú z expedičného droždia rozpustením vo vode. Biomasu kvasiniek sme dezintegrovali

procesom iniciovanej autolýzy [21]. Po ukončení autolýzy bol autolýzát rozdelený centrifugáciou (Janetzki k-70, 2500 min<sup>-1</sup>, 20 minút) na supernatant a sediment. Tieto frakcie tvorili východiskovú surovinu pre izoláciu kvasničného extraktu, invertázy, ergosterolu a fosfolipidov, kvasničných bunkových stien a glukánu [31].

Obsah sušiny a popola vo vzorkách sa zisťoval gravimetricky štandardnými metódami [22]. Polysacharidy sme stanovili fenolovou modifikáciou Molishovho testu podľa Dubois a kol. [25], aminokyseliny automatickým analyzátorom aminokyselín AAA 390 [24]. Invertázovú aktivitu sme určili stanovením obsahu uvoľnenej glukózy po 20 minútach inkubácie 1 ml vhodne riedenej vzorky: pri 27 °C 1 ml roztoku 5 % sacharózy BIO-LA-TEST-om (Lachema Brno) [27]. Invertázovú aktivitu sme udávali po prepočítaní vytvoreného lárkového množstva glukózy v  $\mu$ kat na g sušiny. Množstvo bielkovín a ich rozkladných produktov sme stanovili spektrofotometricky metódou podľa Lowryho a kol. [23], resp. vypočítali z obsahu dusíka, vynásobením koeficientom 6,25. Celkový dusík sa určoval podľa Kjeldahla za štandardných podmienok [22]. Mineralizáciu sme robili komerčným zariadením firmy Tecator (Švédsko), destiláciu aparátúrou Büchi (Švajčiarsko). Nukleové kyseliny sme stanovili sumárne (DNA, RNA) po opakovanej extrakcii vhodného podielu vzorky kyselinou chloristou (0,5 mol  $\cdot$  l<sup>-1</sup>) spektrofotometricky podľa Spirina [26]. Fosfolipidy sme charakterizovali v lipidickej frakcii a vo finálnych preparátoch s využitím BIO-LA-TEST-u (Lachema Brno) [28]. Stanovený obsah anorganického fosforu sme prepočítali najskôr na lipoidný fosfor vynásobením faktorom 1,39 a potom na fosfolipidy pomocou faktora 25. Celkové stereoły sme stanovili Liebermannovou-Burchardovou reakciou. Po odparení organickej fázy do sucha sme ku vzorke pridali 5 ml chloroformu, 5 ml čerstvého činidla (15 ml anhydridu kyseliny octovej, 1 ml koncentrovanej H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 24 ml chloroformu) a po 10 minútach sme zmerali absorbanciu pri 660 nm. Množstvo sterolov sme odčítali z kalibračnej krivky na ergosterol. Obsah ergosterolu vo vzorkách sme určovali spektrofotometricky. Odparené vzorky sme rozpustili v 5 ml etanolu (p. a.) a potom zmerali ich absorbanciu pri 282 a 230 nm. Pomocou príslušných molárnych absorbných koeficientov sa vypočítal obsah  $\Delta^{5,7}$ -sterolov a dehydroergosterolu a z ich rozdielu množstvo ergosterolu vo vzorke.

Použitelnosť získaného kvasničného extraktu pri komponovaní diagnostických pôd sa sledovala stanovením rastových vlastností vybraných kmeňov baktérií testom ID<sub>50</sub> v tekutých médiách podľa podnikovej normy PNY 31-41-79 Imuna, n. p., Šarišské Michaľany. Pre použitie v biotechnologických fermentačných médiách bol získaný kvasničný extrakt testovaný v polosyntetickom, plnohodnotnom selekčnom médiu SL (obsahujúcom kazeínový hydrolyzát, tween, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>COONa, sacharó-

zu, citran amónny) pri fermentácii kyseliny mliečnej. Ako producenta kyseliny mliečnej sme vybrali kmeň *Lactobacillus bulgaricus*. Po 2 % inokulácie sme urobili statickú fermentáciu pri 50 °C a pH 5,4, pričom ako výsledný parameter sa sledovala celková kyslosť titráciou roztokom NaOH (1 mol . l<sup>-1</sup>).

Preparát invertázy získaný postupom komplexnej frakcionácie sa testoval v n. p. Figaro Bratislava. K 250 g tekutej fondánovej hmoty sa pri teplote 70–80 °C pridali rôzne množstvá invertázového preparátu. Výsledným parameterom na posúdenie účinnosti enzýmu bolo senzorické hodnotenie. Absorpčné vlastnosti preparátu bunkových stien kvasiniek sa sledovali v hroznových muštoch z tokajskej oblasti (konc. redukujúcich cukrov asi 270 g . l<sup>-1</sup>) s prídavkom inhibítora (Euparen, Ronilan, Ridomil, Sandofan C) gravimetricky (sledovaním uvoľneného CO<sub>2</sub>) na KVÚVV v Bratislave. Izolovaný preparát fosfolipidov sme využili pri príprave instantného droždia, ktoré sme získali v laboratórnych podmienkach pridaním fosfolipidu k 10 % suspenzii kvasiniek. Opracované bunky sa scentrifugovali, predsušili prúdom vzduchu, granulovali a vysušili do konštantnej hmotnosti pri 35 °C. Rozpustnosť instantného droždia vo vode sa sledovala spektrofotometricky. Imunomodulačný vplyv získaných β-glukánov sa tesoal na Farmakologickom ústave SAV sledovaním úhynu myší predliečených kvasničnými glukánmi a následne infikovaných baktériami *Klebsiella pneumoniae* (3 . 10<sup>7</sup> buniek) i. p. v nultý deň pokusu. Experimentálne skupiny myší boli každý deň počas štyroch dní pred vyvolaním infekcie preliečené i. p. podaním rôznych frakcií glukánov. Úhyn zvierat, sledovaný počas deviatich dní, bol vyhodnotený Mendelovým-Haenzelovým testom porovnania kriviek prežívania.

## Výsledky a diskusia

*Dezintegrácia biomasy.* Nevýhnutnou podmienkou pre uvoľnenie cytoplazmatického obsahu kvasiniek je rozrušenie rigídnej kvasničnej bunkovej steny. Na to bolo vypracovaných viacero postupov, ktoré podľa princípu delíme na fyzikálne, chemické a biochemické [11]. K fyzikálnym metódam zaraďujeme predovšetkým vysokotlakovú dezintegráciu [12], sonikáciu [13], homogenizáciu explozívnu dekompresiou [14], resp. drvenie buniek s abrazívaním v balotínových mlynoch [12]. Chemické metódy deštrukcie kvasiniek využívajú pôsobenie rôznych zlúčenín, napr. tiolov [15]. Podstatou biochemických metód je enzýmové narušenie bunkovej steny, a to exogénnymi lytickými systémami [16] alebo iniciáciou endogénneho lytického systému kvasničnej bunky (autolýza) [17].

V počiatočných fázach riešenia danej úlohy bola rozhodujúca voľba metód

dezintegrácie biomasy. Z viacerých možností sme napokon zvolili metódu iniciovanej autolýzy, predovšetkým preto, že ide o jednoduchý spôsob rozrušenia bunkového obalu, ktorý v porovnaní s expanznou dekompresiou alebo balotíňovaním nevyžaduje zložité technologické zariadenia, pričom, ak je autolýza vedená v optimálnych podmienkach, rozrušenie bunkového obalu je efektívne v technologicky reálnom čase, bez veľkých energetických nárokov. Pozitívnu úlohu pri voľbe práve tejto metódy mal aj fakt, že s ovplyvňovaním priebehu autolýzy boli na Katedre biochemickej technológie určité skúsenosti už v predchádzajúcom období. Experimentálne sa preveril vplyv rôznych plazmolytických činidiel, iónový efekt solí a teploty. Ako nový, doteraz nepísaný faktor, ovplyvňujúci priebeh autolýzy, vyskúšal sa prídavok čerstvého kvasničného autolyzátu, ktorý, vďaka vysokej hladine akumulovaných lytických enzýmov, spôsobuje urýchlenie autolýzy narušením bunkového obalu kvasiniek zvonku. Experimenty zamerané na optimalizáciu iniciačných faktorov autolýzy sa realizovali metódou latinského štvorca [18], pričom štatistická významnosť vplyvu uvedených iniciačných faktorov na priebeh autolýzy sa vyhodnotila analýzou rozptylu [19]. Z hľadiska vyhodnotenia efektivity priebehu autolytického procesu sme ako určujúcu veličinu sledovali množstvo uvoľnených proteínov a ich degradačných produktov uvoľnených z kvasničných buniek. Výsledkom týchto experimentov bol návrh postupu, ktorým možno dosiahnuť efektívne rozrušenie bunkového obalu kvasiniek do 24 hodín, pričom sa z buniek uvoľní minimálne 70 % proteínov. Autolýza 10 % suspenzie pekárskeho droždia prebieha za optimálnych podmienok pri 50 °C, za stáleho miešenia s prídavkom 1 % hmot. NaCl, 5 % hmot. etanolu a 15 % obj. kvasničného autolyzátu (10 % suspenzia z predchádzajúceho experimentu) [20, 21].

*Frakcionácia autolyzátu pekárskeho droždia.* Autolyzát získaný po 24 hodinách autolýzy, vedenej v optimálnych podmienkach pre maximálne uvoľnenie cytoplazmatického obsahu, bol pre nás základnou surovinou na ďalšie frakcionovanie obsahu kvasničných buniek. Suspenzia po autolýze sa ihneď rozdelí centrifugáciou, pričom v supernatante i v sedimente sa urobila analýza základných zložiek – dusíka, aminokyselín, polysacharidov, nukleových kyselín, ďalej sa sledovala aktivita invertázy, hladina ergosterolu a fosfolipidov, obsah sušiny a popola. Výsledky chemickej analýzy tvorili základné poznatky na vytvorenie frakcionačnej schémy, ktorej realizácia vyústila do finalizácie viacerých produktov (A0-259 288 [29]). Supernatant autolyzátu, ktorý sa vyznačuje vysokým obsahom proteínov a ich degradačných produktov a určitou aktivitou enzýmu invertázy, možno finalizovať – alebo ako kvasničný extrakt vysušením v rozprašovacej sušiarňi, buď ako preparát invertázy po precipitácii etanolom. Ako najvýhodnejší sa však javí postup, ktorý umožňuje získať kvasničný extrakt i preparát invertázy. Supernatant sa najskôr

podrobí ultrafiltrácii (membrána zadržujúca látky s relatívnou molekulovou hmotnosťou väčšou ako 20 000). Ultrafiltrát predstavuje koncentrát invertázy a permeát možno po vysušení v rozprašovacej sušiarňi považovať za kvasničný extrakt. Sediment obsahujúci takmer nezmenenú hladinu lipidov a polysacharidov, sa môže vysušiť priamo, po nariadení vodou, v rozprašovacej sušiarňi ako preparát s výhodnými sorbčnými vlastnosťami, ktorý sa dá použiť vo vinárstve, resp. sa sediment autolyzáta využije na extrakciu lipidického podielu, a to tak, že k vlhkému sedimentu sa pridá 1,5-násobný prebytok 95 % etanolu. Suspenzia sa rozdelí centrifugáciou, etanolický extrakt i tuhý podiel sa extrahuje viacnásobne čistým *n*-hexánom. Hexánové extrakty sa spoja a zahustia asi na polovicu pôvodného objemu. Po ochladení na teplotu 0–2 °C z roztoku vypadnú kryštálíky ergosterolu. Etanolický extrakt slúži ďalej na izoláciu fosfolipidov, ktoré sa získavajú po odparení rozpúšťadla extrakciou 50 % vodným roztokom acetónu [30].

Po vyextrahovaní lipidov ostávajúca frakcia (prevažne polysacharidy) slúži ako výhodná surovina na izoláciu imunoaktívnych glukánov. Izolácia je založená na odstránení rozpustných polysacharidov (manánov, (1-6)- $\beta$ -D-glukánov) najskôr alkalickou (2–6 % NaOH) a potom kyslou 1 % HCl) hydrolýzou pri zvýšenej teplote, pričom výsledným produktom je (1-3)- $\beta$ -D-glukán. Podrobnejší opis postupu navrhutej technológie frakcionácie kvasničnej biomasy bol publikovaný v časopise Kvasný priemysl [31].

*Využitie preparátov získaných frakcionáciou autolyzáta pekárskeho drożdžia.* Aby sa preveril navrhnutý postup s väčším množstvom vstupnej suroviny a pripravilo dostatočné množstvo finálnych produktov na overenie ich použiteľnosti v zamýšľaných oblastiach, realizovali sme viaceré štvrtprevádzkové a poloprevádzkové experimenty vo VÚ LIKO a v poloprevádzke v Dolnej Krupej.

Získaný kvasničný extrakt sme testovali ako zdroj rastových faktorov na komponovanie diagnostických pôd a kultivačných médií v mikrobiológii a biotechnológii. Inou oblasťou využitia kvasničného extraktu je potravinársky priemysel; vďaka vysokému obsahu proteínov a produktov ich degradácie môže po ochutení slúžiť ako aditívum do rôznych druhov pokrmov. Nevyhnutnou podmienkou využitia kvasničného extraktu práve v tejto oblasti je jeho mikrobiologická nezávadnosť. Z tohto hľadiska sa robila mikrobiologická skúška podľa podnikovej normy 3 (Imuna), pričom sa nezistili nijaké patogénne mikroorganizmy ani indikátory fekálneho znečistenia. Celkový počet mikroorganizmov sa pohyboval od 100–2550, čo nepresahuje hornú hranicu uvedenej normy (t. j. 10 000 (tab. 1).

Pre použitie v diagnostických pôdach kvasničný extrakt odskúšali na pracovisku Imuna n. p., Šarišské Michaľany, testom ID<sub>50</sub>, pričom sa potvrdilo, že rast sledovaných kmeňov baktérií (*Streptococcus pyogenes* WORD, *Coryne-*

Tabuľka 1. Obsah kontaminujúcich mikroorganizmov v 1 g kvasničného extraktu  
Table 1. Contents of contaminating microorganisms in 1 g of yeast extract

Skupina zisťovaných kontaminantov (spôsob kultivácie) <sup>1</sup>	Kvasničný extrakt <sup>2</sup>		
	CHTF	Difco	Oxoid
Počet patogénnych mikroorganizmov (pôda A, kultivácia 2 dni, 37 °C) <sup>3</sup>	0	0	0
Indikátory fekálneho znečistenia (pôda B, kultivácia 2 dní, 37 °C) <sup>4</sup>	0	0	0
Celkový počet mikroorganizmov (pôda C, kultivácia 4 dni, 37 °C) <sup>5</sup>	2 550	1 050	100
Počet plesní (pôda D, kultivácia 7 dní, 37 °C) <sup>6</sup>	0	0	0
Počet kvasiniek (pôda D, kultivácia 7 dní, 37 °C) <sup>6</sup>	1 200	300	40

A – krvný agar; Blood agar. B – Endova pôda; End medium. C – mäsovopeptónový agar; Broth agar. D – Sabouradov agar; Sabouraud agar.

<sup>1</sup>Group of contaminants (cultivation conditions); <sup>2</sup>Yeast extract; <sup>3</sup>Number of pathogenic microorganisms (medium A, cultivation 2 days, 37 °C); <sup>4</sup>Fecal contamination indicators (medium B, cultivation 2 days, 37 °C); <sup>5</sup>Total number of microorganisms (medium C, cultivation 4 days, 22 °C); <sup>6</sup>Number of molds (medium D, cultivation 7 days, 22 °C); <sup>7</sup>Number of yeasts (medium D, cultivation 7 days, 22 °C)

*bacterium dephtheriae*, *Diplococcus pneumoniae*) sa v tekutých médiách veľmi nelíši pri použití nášho extraktu a kvasničných extraktov firmy Difco, resp. Imuna Šarišské Michaľany (tab. 2).

Na Katedre biochemickej technológie sme ďalej preverili možnosť apliko-

Tabuľka 2. Výsledky rastových vlastností kvasničných extraktov komerčných a pripravených v rámci komplexnej frakcionácie pekárského droždia, vyjadrené hodnotami ID<sub>50</sub> pri použití vybraných kmeňov baktérií

Table 2. Results of growth properties of commercial yeast extracts and those prepared by complex fractionation of baker's yeast, expressed by the ID<sub>50</sub> values for the selected bacteria strains

Vzorka <sup>1</sup>	Koncentrácia <sup>2</sup> [g · l <sup>-1</sup> ]	<i>Streptococcus pyogenes</i> Ward	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Diplococcus pneumoniae</i>
A	10	6,5	6,5	7,3
B	10	6,3	6,3	6,7
C	10	5,5	6,3	6,1

A – kvasničný extrakt CHTF; Yeast extract CHTF. B – kvasničný extrakt IMUNA; Yeast extract IMUNA. C – kvasničný extrakt Difco; Yeast extract Difco.

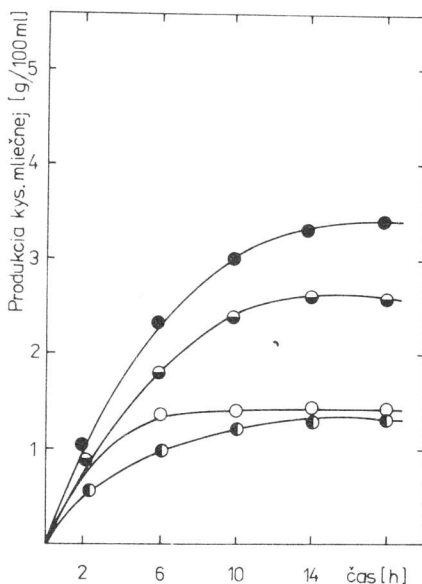
<sup>1</sup>Sample; <sup>2</sup>Concentration.

Tabuľka 3. Testovanie účinnosti komerčného preparátu invertázy firmy Merck a preparátu invertázy izolovaného v rámci komplexnej frakcionácie droždia (CHTF) z hľadiska vhodnosti na prípravu fondánových náplní

Table 3. Testing the effectiveness of the commercial invertase preparation of the Merck Co. and invertase preparation isolated during the complex yeast fractionation (CHTF) from the aspect of suitability for fondant fillings

Č. <sup>1</sup>	Fondánová hmota <sup>2</sup> [g]	Množstvo preparátu <sup>3</sup>	Aktivita <sup>4</sup> [μkat]	Senzorické posúdenie <sup>5</sup>
1	250	bez prídavku <sup>6</sup>	–	tuhá až tvrdá <sup>7</sup>
2	250	0,25 ml (Merck)	32,75	mäkká <sup>8</sup>
3	250	80 mg (CHTF)	38,75	mierne tuhá <sup>9</sup>
4	250	160 mg (CHTF)	77,50	vláčna <sup>10</sup>
5	250	240 mg (CHTF)	116,25	vláčna <sup>10</sup>

<sup>1</sup>Number; <sup>2</sup>Fondant mass; <sup>3</sup>Amount of the preparation; <sup>4</sup>Activity; <sup>5</sup>Sensoric evaluation; <sup>6</sup>No additive; <sup>7</sup>Tough to hard; <sup>8</sup>Soft; <sup>9</sup>Slightly tough; <sup>10</sup>Plastic.



Obr. 1. Fermentácia kyseliny mliečnej pomocou *Lactobacillus* sp. na syntetickom médiu (SL) s prídavkom kvasničného extraktu CHTF (◑) Imuna (●), Oxoid (◐), Gibco (○) v množstve 5 g · l<sup>-1</sup>. Kultivácia prebiehala staticky pri 50 °C.

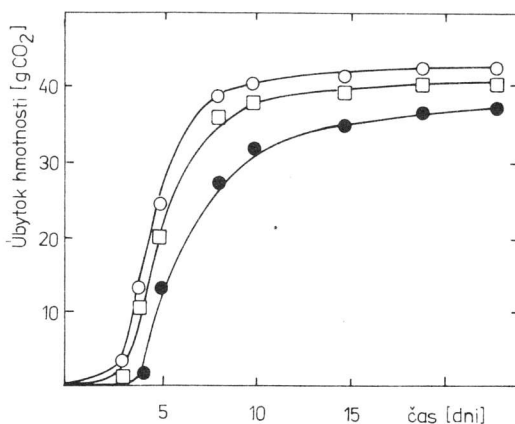
Fig. 1. Fermentation of lactic acid with *Lactobacillus* sp. on a synthetic medium (SL) with addition of CHTF yeast extract (◑). The standards used: yeast extract IMUNA (●), Oxoid (◐), Gibco (○) at 5 g l<sup>-1</sup>. Static cultivation at 50 °C. (Lactic acid production; Time.)



vat kvasničný extrakt do kultivačných médií, konkrétne pri fermentácii kyselinovej mliečnej. Testovaný kvasničný extrakt sa z hľadiska dosiahnutých výťažkov kyseliny mliečnej dá porovnať s extraktmi n. p. Imuna, Gibco a Oxoid (obr. 1).

Preparát invertázy sa testoval v n. p. Figaro Bratislava, pri príprave cukríkov obsahujúcich fondánovú náplň. V porovnaní so zahraničným preparátom firmy Merck, ktorý sa na tieto účely bežne používa, bolo potrebné na dosiahnutie toho istého efektu pridať relatívne viac izolovanej invertázy. Výhodou však je, že vďaka zvýšenému obsahu proteínov, preparát získaný postupom komplexnej frakcionácie priamo ovplyvňuje nutričné a senzorické vlastnosti výrobku a dodáva im plnosť chuti (tab. 3).

Absorpčné vlastnosti preparátu bunkových stien kvasiniek sa preverili na KVÚVV v Bratislave, najmä na stimuláciu kvasenia „problematických“ hroznových muštov (vysoký obsah pesticídov, nekvalitné hrozno atď.) V uvedených experimentoch sa zistilo, že náš preparát pozitívne ovplyvňuje kvasenie hroznového muštu s vysokým obsahom pesticídov (Ridomil, Euparen) a jeho účinok sa dá porovnať so zahraničnými preparátmi bunkových stien YW (Francúzsko) a Antigärstop (NSR) [32] (obr. 2).



Obr. 2. Porovnanie účinnosti preparátov bunkových stien na priebeh kvasenia hroznového muštu (270–280 g cukru/l) s prídavkom inhibítora Ridomil (10 mg/l). Kinetika sa sledovala gravimetricky. ○ – yeast wall (Fould Springer, Francúzsko), □ – CHTF (preparát CHTF SVŠT Bratislava), ● – kontrola (bez prídavku sorbenta).

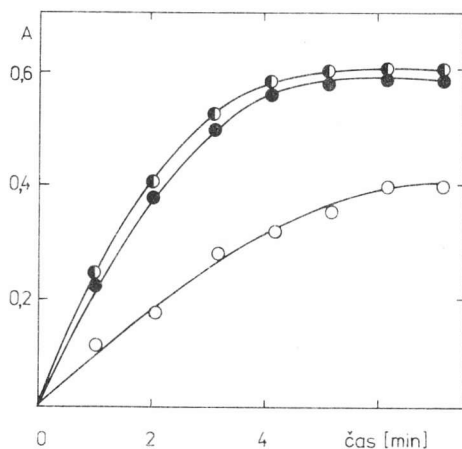
Fig. 2. Comparison of the effect of cell membrane preparations on the fermentation of grape must (270–280 g sugar/l) with added inhibitor Ridomil (10 mg/l). The kinetics was studied gravimetrically. ○ – yeast wall (Fould Springer, France), □ – CHTF (preparation of the Chemicotechnological Faculty of the Slovak Technical University, Bratislava), ● – control (without addition of sorbent). (Weight loss; Time (days).)

Izolovaný preparát fosfolipidov sa otestoval v laboratórnych podmienkach pri príprave instantného droždia. Instantné droždie sa pripravilo s prídavkom kvasničných fosfolipidov, malo porovnateľnú kvasnú mohutnosť a emulgačné vlastnosti ako droždie s komerčným emulgátorom Glanapon (Rakúsko), pričom v porovnaní s kontrolou sa emulgačná schopnosť droždia s prídavkom kvasničných fosfolipidov zdvojnásobila (obr. 3).

Ergosterol môže byť vďaka svojej čistote priamo transformovaný UV žiarením na vitamín D<sub>2</sub>, resp. predĺžením času žiarenia možno pripraviť toxickú zmes látok, ktorá sa dá využiť na deratizačné účely. Takýto preparát bol pripravený na Katedre biochemickej technológie a s pozitívnymi výsledkami overený v príslušných testoch na VÚPL v Bratislave.

Imunoaktívne glukány sa aplikovali po ožiarení (rádiolýza <sup>60</sup>Co dávkou 316,8 kGy) i. p. kontrolnej skupine myší. Vplyv preparátu na modelovanie imunitnej odpovede sa sledoval po infikovaní myší baktériami *Klebsiella pneumoniae*. Účinok pripravených preparátov zatiaľ nedosahoval taký efekt, ako napr. po podaní karboxymetylglukánu, preto treba hľadať ďalej také úpravy, ktoré spôsobia zvýšenie biologického účinku ožiareného glukánu.

Z uvedených výsledkov je zrejmé, že navrhnutým postupom možno získať súčasne niekoľko zaujímavých preparátov využiteľných na potravinárske, fer-



Obr. 3. Spektrofotometrické sledovanie rozpustnosti 2 g instantného droždia v 20 ml vody po pridaní kvasničných fosfolipidov a komerčne vyrábaného emulgátora. ● – instantné droždie s prídavkom kvasničných fosfolipidov (10 mg), ◐ – instantné droždie s prídavkom preparátu Glanapon (20 mg), ○ – instantné droždie bez prídavku emulgátora.

Fig. 3. Spectrophotometric investigation of the solubility of 2 g instant yeast in 20 ml water after addition of yeast phospholipids and a commercially made emulsifier. ● – instant yeast with addition of yeast phospholipids (10 mg), ◐ – instant yeast with addition of Glanapon preparation (20 mg), ○ instant yeast without any emulsifier. (Time.)

mentačné a farmaceutické účely. Doteraz realizované a publikované postupy zamerané na získavanie preparátov z kvasničnej biomasy sa z hľadiska charakteru izolovaných produktov sústreďujú väčšinou jednostranne – buď na biochemikálie vysokej čistoty [7], alebo lacnejšie viaczožkové produkty [8], resp. sólo izolácie preparátov technickej čistoty [3]. Postupom vypracovaným na Katedre biochemickej technológie CHTF SVŠT v Bratislave možno získať výrobky charakteru komplexných preparátov (kvasničný extrakt a kvasničné bunkové steny), preparáty technickej čistoty (invertáza a fosfolipidy), ale aj vysokopurifikované preparáty (ergosterol a glukány). Určité rezervy navrhnutého postupu sú vo využití frakcie nukleových kyselín z hľadiska ich izolácie na farmaceutické účely i modifikácie 3'-nukleotidov na 5'-nukleotidy v získanom kvasničnom extrakte. Takto upravený kvasničný extrakt by našiel širšie uplatnenie v potravinárstve ako zosilňovač chuti. Problematika získavania a využitia nukleotidov je v súčasnosti stredobodom našej pozornosti.

## Literatúra

1. GOLDBERG, I.: *Single Cell Protein*. Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag 1988, 179 s.
2. ALEKSANIAN, E. R. – MARKOSIAN, L. S., *Prikl. Bioch. Mikrobiol.*, 22, 1986, s. 163.
3. HARLENDER, S. K. – LABUZA: Th. P., *Biotechnology in Food Processing*. Park Ridge, N. J., Noyes Publications 1986, 312 s.
4. Ger. (DDR) 209 836, 1984.
5. DiLUZIO, N. R., *Springer Semin. Immunopathol.*, 8, 1985, s. 387.
6. KOZUB, G. I. – JOZHITSA, V. M. – PARASKA, P. I. – KOPEISKA, M. A. – PUGOVSKIJ, N. G., *Sad. Vinograd. Vinodel.*, 5, 1985, s. 28.
7. BIOCHEMICALS – *Enzymes, Coenzymes, Substrates*. Tokio, Oriental Yeast Co., Ltd. 1988.
8. PEPLER, M., *Econom. Microbiol.*, 7, 1982, s. 293.
9. FRENGOVA, G., *Biotechnol. Bioind.*, 2, 1987, s. 7.
10. ŠTURDÍK, E. – KOLLÁR, R., *Kvasný Prům.*, 34, 1988, s. 10.
11. CHISTI, Y. – MOO-YOUNG, M., *Enzyme Microb. Technol.*, 8, 1986, s. 194.
12. KULA, M. R. – SCHÜTTE, H., *Biotechnol. Progress*, 3, 1987, s. 31.
13. DOULAH, M. S., *Biotechnol. Bioeng.*, 19, 1987, s. 649.
14. NESTEROV, A. I. – STAVROITOŤVÁ, G. A., *Prikl. Biochim. Mikrobiol.*, 11, 1975, s. 593.
15. SHETTY, J. K. – KINSELLA, J. E., *Biotechnol. Bioeng.*, 20, 1978, s. 755.
16. ANDREWS, B. A. – ASENJO, J. A., *Trends Biotechnol.*, 5, 1987, s. 273.
17. NOMBELA, C.: *Yeast Cell Wall Synthesis and Autolysis*. Amsterdam, Elsevier 1984, 341 s.
18. MARKOVA, E. V. – LISENKOV, A. N.: *Kombinatornyje plany v zadačach mogofaktornogo eksperimenta*. Moskva, Nauka 1979, s. 198.
19. PAZMAN, A. – MIKULECKA, J. – RAFFAJ, V. – TOKOŠOVÁ, N.: *Riešené situácie z navrhovania experimentov*. Bratislava, Alfa 1986, 200 s.
20. Autorské osvedčenie ČSSR, 259 289, 1988.

21. ŠTURDÍK, E. – KOLLÁR, R. – MIKULÁŠOVÁ, M. – BERNÁT, I. – FORSTHOFFER, J. – KRČMÁR, S., *Kvasný Prům.*, 34, 1988, s. 241.
22. DAVÍDEK, J. – HRDLÍČKA, J. – KARVÁNEK, M. – POKORNÝ, J. – SEIVERT, J. – VELÍŠEK, J.: *Laboratorní příručka analýzy potravin*. Praha, SNTL 182 s.
23. LOWRY, O. H. – ROSENBROUGH, A. L. – FAW, A. L. – RANDALL, R. I., *J. Biol. Chem.*, 193, 1951, s. 265.
24. Automatický analyzátor aminokyselin AAA 390. Praha, Mikrotechna 1983.
25. DUBOIS, M. – GILLES, K. A. – HAMILTON, J. K. – REBERS, P. A. – SMITH, F., *Anal. Chem.*, 28, 1956, s. 350.
26. SPIRIN, A. S., *Biochimija*, 23, 1985, s. 658.
27. BIO-LA-TEST „Glukoza enzymaticky“, Brno, Lachema 1984.
28. BIO-LA-TEST na stanovení fosforu. Brno, Lachema 1984.
29. Autorské osvědčení ČSSR, 259 288, 1988.
30. *Czech. Appl.* 768 88, 1988.
31. ŠTURDÍK, E. – KOLLÁR, R. – KRČMÁR, S. – FORSTHOFFER, J. – ŠAJBIDOR, J. – KOLLÁTIOVÁ, D., *Kvasný Prům.*, 35, 1989, s. 74.
32. MINÁRIK, E. – JUNGOVÁ, O. – ŠTURDÍK, E. – KOLLÁR, R., *Vinohrad*, 26, 1988, s. 159.

### **Фракционирование и использование компонентов хлебопекарных дрожжей**

#### **Резюме**

Метод комплексного фракционирования хлебопекарных дрожжей позволяет после дезинтеграции дрожжевой биомассы процессом инициированного автолиза получить дрожжевой экстракт, который можно использовать в пищевой промышленности в виде вкусового вещества в диагностических средах в микробиологии и в культивационной среде в ферментационной промышленности, дальше препарат инвертазы для кондитерской промышленности, эргостерол в виде провитамина витамина D<sub>2</sub>, а также в виде токсического вещества с целью десинсекции (при повышенной дозе УВ излучения), фосфолипиды с подходящими эмульгационными свойствами при подготовке инстантных дрожжей, дрожжевые клеточные стены для стимулирования брожения винных суслов и дрожжевых глюканов для повышения иммунитета организма.

### **Fractionation and utilization of baker's yeast compnents**

#### **Summary**

Methods of complex baker's yeast fractionation enable after cell wall disintegration in process of induced autolysis to obtain yeast extract as flavour enhancer for food industry or as a part of diagnostic and cultivation media in microbiology and fermentation industry, invertase for confectionary, ergosterol as a precursor of vitamin D<sub>2</sub> or as a toxic substance for deratization purposes, phospholipids with advantageous emulgaion properties for instant yeast preparation, yeast cell walls as a stimulator of wine fermentation and yeast glucan as a immunomodulator agent.