

## Mikrobiologicko-biochemické aspekty spracovania srvátky

MARTIN TOMÁŠKA - ERNEST ŠTURDÍK

**Súhrn.** V práci sú uvádzané nové poznatky o morfológických, biochemicko-fyziologických a genetických vlastnostiach vybraných mikrobiálnych rodov a druhov v súvislosti s ich uplatnením v biotechnologickej výrobe laktázy, etanolu, pekárskoho droždia, niektorých polysacharidov a organických kyselín zo srvátky. Dôraz je kladený na možné spôsoby konverzie laktózy, galaktózy a glukózy na vyššie uvedené potravinársky využívané produkty.

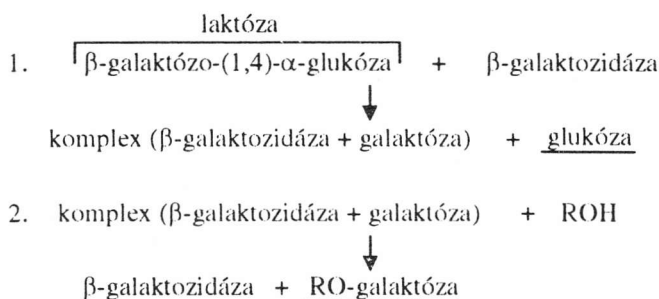
Srvátka ako vedľajší produkt pri výrobe syrov a kazeínu môže predstavovať vážny ekologický problém. Približne 47 % jej svetovej produkcie, ktorá sa pohybuje okolo  $10^{11}$  kg za rok, sa nevyužívalo [1]. Vzhľadom na uvedené, berúc do úvahy tiež zloženie tejto suroviny [2,3], priaznivé pre rast mnohých mnohých mikroorganizmov, môže biotechnologické spracovanie srvátky tvoriť pomerne stabilnú súčasť jej celkového zhodnotenia [4]. Hlbšie poznanie fyziologických i morfológických vlastností a genetických schopností tu využívaných mikrobiálnych spoločenstiev, ako i štúdium mechanizmov metabolizmu laktózy a s ňou úzko spätých glukózy a galaktózy, napomáha kvalitatívne širšiemu rozvoju spomínanej alternatívy využitia srvátky. V ďalšom sú z tohto pohľadu zosumarizované poznatky o niektorých potravinársky významných srvátkových biotechnológiách, ktoré sú predmetom výskumnovývojových programov.

---

Ing. Martin Tomáška, doc.ing. Ernest Šturdík, CSc., Katedra biochemickej technológie, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

## Laktáza

Utilizácia laktózy mikroorganizmami je okrem väzby na transportné a regulačné proteíny spojená s činnosťou  $\beta$ -galaktózy. Aktivita tohto indukčného enzýmu v pôvodnej (permeázový transport) alebo fosfoesterovej forme (fosfoenolpyruvátový transportný systém) v extracelulárnom či intracelulárnom priestore [5] spôsobuje štiepenie laktózy na glukózu a galaktózu v molárnom pomere 1:1, mechanizmom zobrazeným na obr.1 [6].



Obr.1. Mechanizmus hydrolýzy laktózy  $\beta$ -galaktózou [6].

R - funkčná skupina.

Fig.1. Mechanism of lactose hydrolyse by  $\beta$ -galactosidase [6].

R - function group.

$\beta$ -Galaktozidáza je okrem laktózovej indukcie a glukózovej katabolickej represie modifikovaná mnohými faktormi. Kompetetívne je inhibovaná galaktózou, ktorá ju však zároveň stabilizuje [5,7]. Jej termostabilita je pozitívne ovplyvnená i prítomnosťou niektorých iónov, najmä mangánatých, horečnatých a kobaltnatých [7]. Neplatí to však absolútne. Vôbec, vlastnosti (pH a teplotné optimum, stabilita) a molekulová hmotnosť  $\beta$ -galaktozidázy sú silne determinované vlastným producentom. Všeobecne možno zhrnúť, že fungálne a bakteriálne laktázy sú termo- a acidostabilnejšie, avšak produkované v nižších výťažkoch, kým dobrá produkčná schopnosť kvasiniek je zatienená slabšou stabilitou príslušného enzýmu [5].

Ako priemyselní producenti  $\beta$ -galaktozidázy sú využívané kmene s vyššou nadproduktčnou schopnosťou, hlavne z rodov *Kluyveromyces*, *Candida* a *Aspergillus*. Komerčne je enzým distribuovaný ako voľný, prípadne vo forme imobilizovaných preparátov. Po jeho aplikácii vznikajúca glukóza a galaktóza sú oproti laktóze lepšie rozpustné, ľahšie stráviteľné a vykazujú

o 50 % vyššiu sladivosť. Z týchto dôvodov nachádza laktáza uplatnenie pri výrobe cukríkov, sušienok, džemov, fortifikovaných krmovinových zmesí, nízkolaktózového mlieka, či iných mliečnych výrobkov s vylepšenými senzoricko-dietetickými a technologickými vlastnosťami [8].

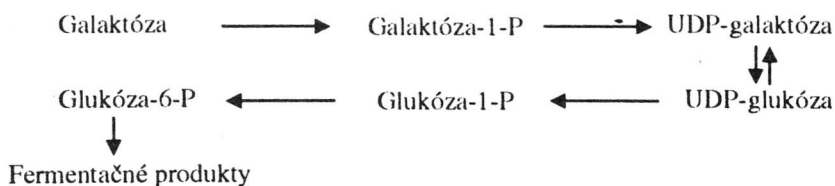
## Etanol

V poslednej dobe nastáva renesancia výroby etanolu zo srvátky. Pri tejto biotechnológii sa využívajú najmä kvasinkové rody *Kluyveromyces* [9], *Candida* [10], druh *Saccharomyces cerevisiae* [11], ako aj baktérie *Zymomonas mobilis* [12].

Bunky kvasiniek rodu *Kluyveromyces* sú elipsoidné, cylindrické, guľovité, miestami až pretiahnuté. Rastú jednotlivo alebo v pároch. Ich obrovské kolónie sú krémovo lesklé, matné, niektoré i ružové, tvoriace sliz [13]. Walker [14] pozoroval výrazný dimorfizmus u *K.marxianus*, podmienený najmä prítomnosťou kyslíka, ale aj dostupnosťou živín v médiu a rastovou rýchlosťou buniek. U kvasiniek rozlišoval dve majoritné formy: tvorbu vlákien-pseudomycélií (pri aeróbnom raste na ľahko využiteľnom substráte a za vyššej zriedovacej rýchlosti) a oválny elipsoidný tvar (pri opačných podmienkach, napr. počas anaeróbnej etanolovej fermentácie srvátky).

Využitie rodu *Kluyveromyces* vzhľadom na jeho metabolizmus je pomerne rozsiahle. Okrem výroby etanolu nachádza uplatnenie i pri produkcii  $\beta$ -galaktozidázy, polygalaktouronidázy a inulinázy [15]. Jeho biomasa je zdrojom mnohých cenných látok získavaných metódami komplexnej frakcionácie [16]. Štyri druhy *K.fragilis*, *K.lactis*, *K.marxianus* a *K.bulgaricus* dokážu priamo utilizovať laktózu [15]. Tá je transportovaná do ich intracelulárneho priestoru aktívnym prenášačovým transportom, pričom daná permeáza je úzko sacharidovo špecifická [17,18]. Po následnej hydrolýze glukóza priamo vstupuje do Embden-Meyerhofovej dráhy (klasická glykolýza), kým galaktóza je metabolizovaná Leloirovou dráhou (obr.2) [19].

Z fyziologických vlastností spomínaných kvasiniek možno spomenúť u niektorých kmeňov pozitívne killer schopnosti znižujúce riziko kontaminácie, ale tiež negatívnu, slabšiu toleranciu na etanol [15]. Woo a kol. [20] sa snaže skombinovať etanolovú toleranciu a laktózovú fermentačnú schopnosť uskutočnili fúziu protoplastov *S.cerevisiae* STV 89 a *K.fragilis* CBS 397 použitím polyetylénglykolu a  $\text{CaCl}_2$ . Medzi vzniknutými fuzantmi



Obr.2. Zjednodušená Leloirová dráha odbúrania galaktózy [19].  
P - fosfát, UDP - uridín-5'-difosfát.

Fig. 2. Simplified Leloir track of galactose degradation [19].  
P - phosphate, UDP - uridine-5'-diphosphate.

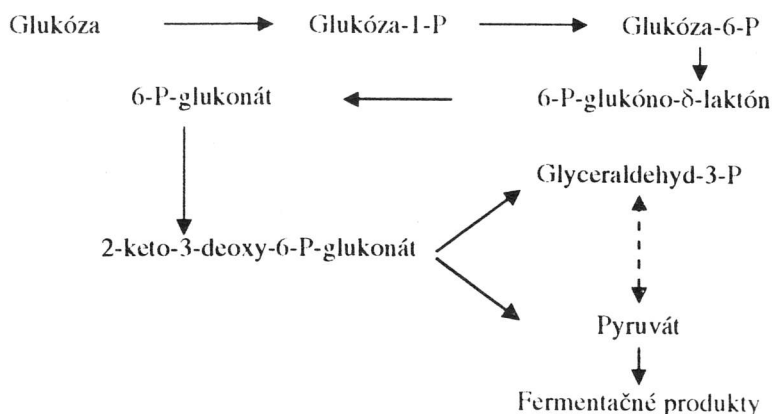
najlepšie požadované vlastnosti vykazoval F-3-9, oveľa priaznivejšie ako *K. fragilis*. V práci autorov Castrilla a Ugaldeho [21] je popísaná schopnosť rodu *Kluyveromyces* tvoriť etanol i za aeróbných podmienok, v prítomnosti nadbytočného substrátu, na rozdiel od druhu *S. cerevisiae*. Pravda, ak sa zameriavame na maximalizáciu výťažku biomasy, je táto vlastnosť nežiadúca. Uvedený nedostatok odstránila príprava alkoholdehydrogenázového deficitného mutanta selekciou kvasiniek rezistentných voči alylalkoholu, resp. použitím mutagénu metylmetánsulfonátu [22].

S ohľadom na dobrú etanoltoleranciu tradične používaného druhu *S. cerevisiae* sa sústreďuje pozornosť mnohých vedeckých pracovísk na jeho začlenenie do srvátkových biotechnológií, napriek tomu, že nemetabolizuje laktózu priamo. Pri výrobe etanolu je táto neschopnosť využitia riešená buď koimobilizáciou produkčných kmeňov s  $\beta$ -galaktozidázou [11], alebo využívajúc moderné genetické metódy a techniky prípravou nových Lac<sup>+</sup> rekombinantných jedincov [23,24]. Morfologické a fyziologicko-biochemické vlastnosti druhu *S. cerevisiae* sú detailnejšie popísané v časti venovanej výrobe pekárskoho droždia.

Zdá sa, že laktózu využívajúci rod *Candida* je v súčasnosti častejšie uplatňovaný pri produkcii mikrobiálnych proteínových preparátov ako v etanolovej fermentácii. Svojou fyziológiou nie je schopný konkurovať novobjavujúcim sa vysokoprodukčným kmeňom z vyššie uvedených rodov.

Naopak, veľký rozvoj (berúc do úvahy produkciu etanolu všeobecne) zaznamenáva použitie *Zymomonas mobilis*. Táto gramnegatívna, fakultatívne anaeróbná pohyblivá baktéria rastie v pároch vo forme elipsoidných paličiek [25]. Glukózu transportuje pasívne sprostredkovanou difúziou [26]. Dokáže ju premieňať na pyruvát s vyššou účinnosťou ako typické etanolproduktujúce kvasinky, pretože ju konvertuje cez Enter-Doudorofovu dráhu

(obr.3) [19,26,27,28]. Galaktózu a laktózu však nemetabolizuje. Yanase a kol. [27,28] vo svojich prácach skúmali expresiu génov kódujúcich  $\beta$ -galaktozidázu a laktózapermeázu zabudovanú v plazmidoch prenesených do *Z.mobilis*. U novopripraveného kmeňa sa namerala zvýšená  $\beta$ -galaktozidázová aktivita, kým aktivita laktózapermeázy bola výrazne nižšia ako u donorovej *E.coli*. Následkom toho bunky *Z.mobilis* nesúce Lac<sup>+</sup> plazmid síce konvertovali laktózu na etanol, no neboli schopné na nej rásť. Autori vysvetľujú tento fenomén ako inhibíciu rastu galaktózou, resp. niektorými jej metabolitmi. I zavedenie komplexnejšieho galaktózového operónu *E.coli* na vektor, s následnou transformáciou *Z.mobilis*, len mierne zvýšilo tvorbu etanolu z galaktózy. V závere druhej práce [28] je preto spomínaná hypotéza zavedenia fyziologicky vhodnejších génov *Pseudomonas fluorescens*, čím by sa pravdepodobne eliminoval porušený rast, a tým v konečnom dôsledku i lepšie využila laktóza. Ďalší, odlišný spôsob uplatnenia *Z.mobilis* pre biotechnologickú produkciu etanolu zo srvátky bol opísaný Kaminim a Gunasekavanom [12]. Spomínané baktérie sa použili formou kokultúry s *K.fragilis*, ktorá takto dokázala prefermentovať laktózu s vyšším výťažkovým koeficientom konverzie substrátu na produkt ako jednotlivé monokultúry.



Obr.3. Metabolizmus glukózy zjednodušenou Enter-Doudorffovou dráhou [19].  
P - fosfát.

Fig.3. Metabolism of glucose with simplified Enter-Doudorff track [19].  
P - phosphate.

Etanolvá fermentácia, berúc do úvahy vhodné podmienky anaeróbneho rastu produkčných mikroorganizmov, i činnosti enzýmov podieľajúcich sa na tvorbe etanolu, prebieha efektívne pri teplote 30°C a pH 4,5. Z prirodzených miest, odkiaľ možno izolovať nové kmene, treba spomenúť mliečne výrobky (*Kluyveromyces*, *Candida*), resp. med, pivo, umývacie linky nápojárskeho priemyslu (*Z.mobilis*) [13,15,25].

## Pekárske droždie

Pomerne vysoký záujem o pekárske droždie nútil pracovníkov droždiarní rozšíriť spektrum klasicky používaných substrátov i o ľahko dostupnú srvátku. Typické pekárske kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* transportujú (sprostredkovaná difúzia [29]) a metabolizujú glukózu, avšak nedokážu realizovať tvorbu  $\beta$ -galaktozidázy. Navyše i utilizácia galaktózy je problematická [13,15]. Napriek týmto fyziologickým nedostatkom firma Kroger Comp. (USA) už začiatkom 80-tych rokov zaviedla takto modifikovanú technológiu. Princípom uplatnenia srvátky v nej je hydrolýza laktózy imobilizovanou laktázou, ako i použitie recyklu biomasy, práve kvôli dôslednejšiemu zúžitkovaniu galaktózy [30]. Odlišne orientovaná práca autorov Champagne a kol. [31] využíva poznatok ľahkej utilizácie kyseliny mliečnej kvasinkami *S.cerevisiae*. Mliečnymi baktériami prefermentovaná srvátka sa tak stáva vhodným médiom pre požadovanú kvasinkovú kultiváciu.

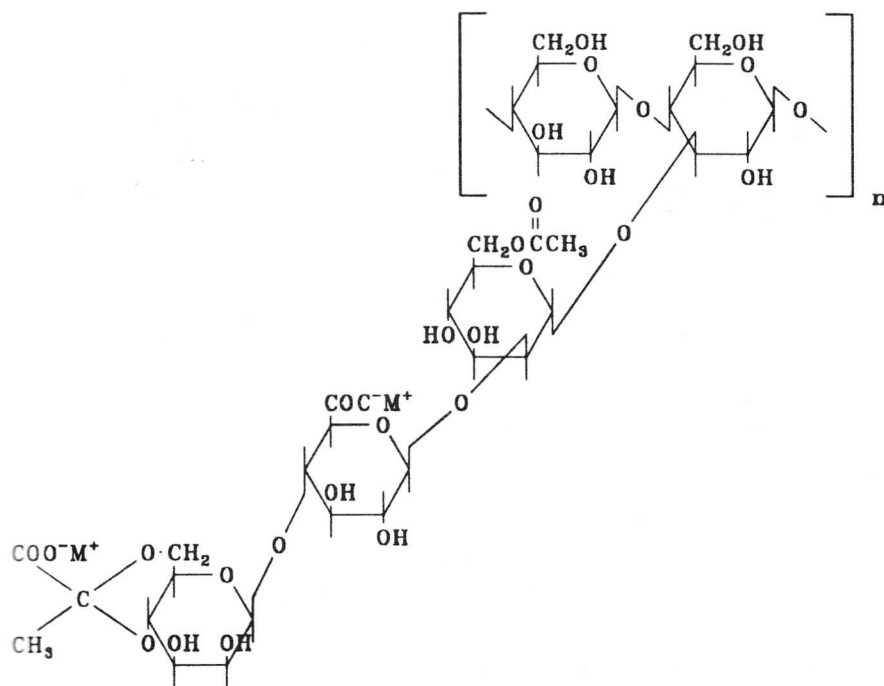
Morfologicky je druh *S.cerevisiae* dobre preštudovaný. Elipsoidné, guľovité bunky rastú samostatne, môžu tiež vytvárať mycélium. Obrovské kolónie sú svetlohnedé až krémové, hladké i drsné. Tieto kvasinky optimálne rastú pri teplote blízkej 30°C a pri pH v rozmedzí 4,5-6,0. Izolovať ich možno všade tam, kde sa s nimi intenzívne pracuje, najmä z droždiarní a pekární [13].

## Polysacharidy

Vďaka svojim reologickým vlastnostiam patrí mikrobiálny exopolysacharid xantán medzi významné potravinárske aditíva. Schopnosťou viazať vodu a už v malých koncentráciách vytvárať vysokoviskózne roztoky, nachádza uplatnenie ako prírodný stabilizátor (napr. v práškových džúsoch, jogurtoch, kečupoch). S jeho aplikáciami sa stretávame i v kozmetickom.

farmaceutickom, farbiarskom a polygrafickom priemysle, ako aj pri ťažbe ropy.

Molekula xantánu (obr.4) pozostáva z hlavného poly- $\beta$ -(1-4)-D-glukopyranózového reťazca, na ktorý sú naviazané bočné, obsahujúce manózu a kyselinu glukurónovú, pričom tieto môžu byť rôzne substituované [1]. K jeho typickým producentom zaraďujeme druh *Xanthomonas campestris* rastúci do priamych pohyblivých paličiek vyskytujúcich sa jednotlivo. V prírode sa nachádza na listoch kapusty, kelu, kde spôsobuje ich chorobné vädnutie. Je teda rastlinným patogénom. Metabolizmus tejto gramnegatívnej baktérie je striktnie aeróbny, nikdy nie fermentatívny. Žltohnedé sfarbenie jeho slizovitých kolónií je daný prítomnosťou xantomonadínu, pigmentu karotenoidnej povahy [25]. Väčšina kmeňov *X.campestris* utilizuje laktózu slabo alebo temer vôbec. V literatúre boli publikované niektoré spôsoby prípravy nových Lac<sup>+</sup> rekombinantných jedincov s využitím genetického potenciálu *E.coli* [32,33]. Podmienkou dobrej produkčnej schopnosti takto



Obr.4. Chemická štruktúra xantánu [1].

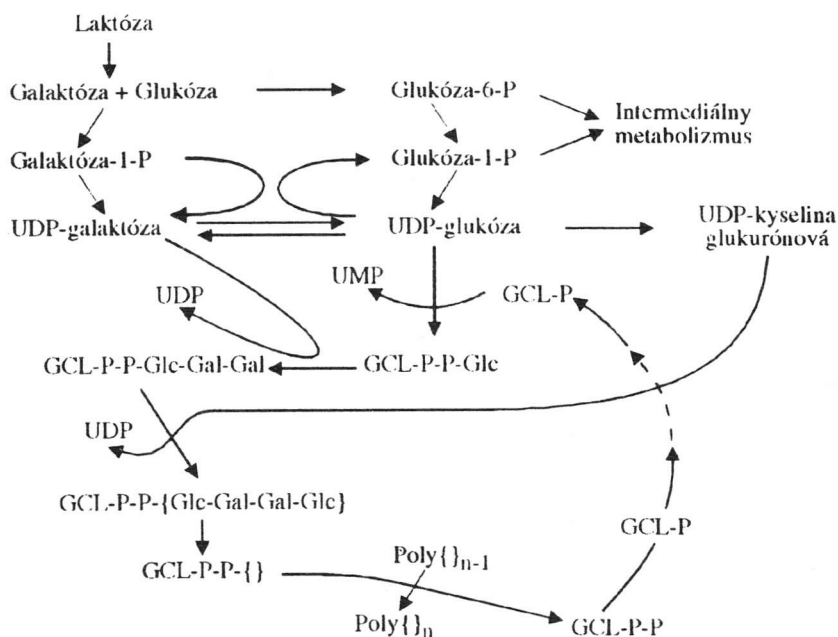
$\text{M}^+ = \text{Na}, \text{K}, 1/2 \text{Ca}$ .

Fig.4. Chemical structure of xantane [1].

$\text{M}^+ = \text{Na}, \text{K}, 1/2 \text{Ca}$ .

modifikovaných kmeňov je ich trvalé uchovávanie na laktózových substrátoch [34].

Okrem baktérií *X.campestris* sú známe i ďalšie mikrobiálne rody (*Propionibacterium* [35,36], *Erwinia* [37,38] priamo syntetizujúce z laktózy nové typy exopolysacharidov so širokým využitím. Na rozdiel od xantánu majú tieto vo svojom reťazci zabudovanú galaktózu. Pre ich biosyntézu sa preto javí výhodným využitie médií obsahujúcich galaktózu (srvátka). Intermediáty galaktózy (UDP-galaktóza), vznikajúce v prvých fázach syntézy (obr.5) [1], sú tak menej ovplyvňované konkurenčnými metabolickými dráhami ako glukózové (UDP-glukóza), a tým sú viac využiteľné pre tvorbu samotných exopolysacharidov, neovplyvňujúc tak viabilitu produkčných buniek [1].



Obr. 5. Zjednodušená schéma biosyntézy mikrobiálnych exopolysacharidov [1].

UDP - uridín-5'-difosfát, UMP - uridín-5'-monofosfát, P - fosfát, GCL - glykozylový prenášač, Glc - glukóza, Gal - galaktóza, POLY{ }<sub>n</sub> a POLY{ }<sub>n-1</sub> - vznikajúce oligosacharidy.

Fig. 5. Simplified scheme of microbial exopolysaccharides biosynthesis [1].

UDP - uridine-5'-diphosphate, UMP - uridine-5'-monophosphate, P - phosphate, GCL - glycosile agent, Glc - glucose, Gal - galactose, POLY{ }<sub>n</sub> and POLY{ }<sub>n-1</sub> - forming oligosaccharides



Kľúčovým prvkom vlastnej syntézy je prenos sacharidov z prvotných modifikovaných intermediátov na vznikajúci oligosacharid cez cytoplazmatickú membránu pomocou glykozylového prenášača. Je to najpomalší a ireverzibilný krok celého mechanizmu, nakoľko oveľa väčšiu afinitu k uvedenému prenášaču vykazujú, na rozdiel od exopolysacharidov, pre bunku nevyhnutne dôležité peptidoglykány a lipopolysacharidy [1,19]. V tejto fáze tiež dochádza k nasubstituovaniu rôznych acylových a anorganických skupín na bočné reťazce exopolysacharidu, čo výrazne ovplyvňuje jeho výsledné reologické vlastnosti [1].

Všeobecne platí, že exopolysacharidy sú optimálne produkované v neutrálnej oblasti, v rozmedzí teplôt 26 - 32°C, za aeróbnych (*Xanthomonas*, *Erwinia*), resp. anaeróbných (*Propionibacterium*) podmienok.

## Organické kyseliny

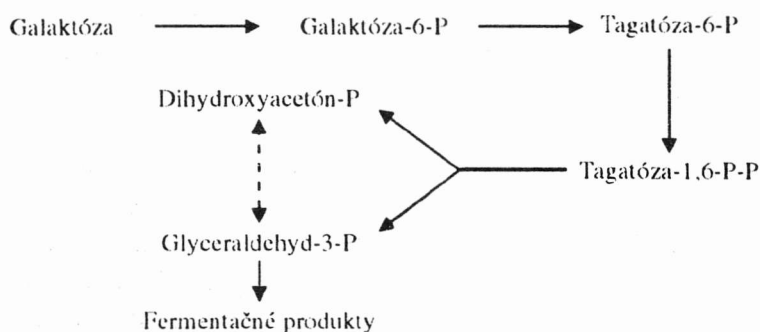
Pri laktózových fermentáciách sa stretávame s produkciou viacerých organických kyselín [4]. Kyselina mliečna zaujíma medzi nimi dominantné postavenie. Je produkovaná najmä skupinou tzv. mliečnych baktérií, pozostávajúcich z piatich rodov [25], z ktorých sú využívané najmä dva, *Lactobacillus* a *Streptococcus*.

Morfologicky sú tieto značne odlišné. Rod *Lactobacillus* tvorí dlhé i krátke paličky [39], častokrát sa ohýbajúce, kým rod *Streptococcus* typické kokovité okrúhle bunky rastúce v pároch alebo reťazkách. Oba sú nepohyblivé, fakultatívne anaeróbne s fermentatívnym metabolizmom [25]. Zourari a kol. [40] charakterizovali vo svojej práci niektorých zástupcov uvedených rodov po fyziologickej stránke.

Laktóza je mliečnymi baktériami transportovaná buď aktívnym transportom alebo mechanizmom skupinovej translokácie [40,41]. Hydrolýzou vznikajúca glukóza môže byť okrem Embden-Meyerhofovej dráhy metabolizovaná i cez pentózofosfoketolázový skrat, najmä heterofermentatívnymi druhmi [42]. Galaktóza je v ďalšom v závislosti od transportu konvertovaná Leloirovou (obr.2) alebo tagatóza-6-fosfátovou (obr.6) dráhou [43]. Predsa však u druhu *Streptococcus thermophilus*, ako i u niektorých zástupcov rodu *Lactobacillus*, sa v súvislosti s utilizáciou laktózy stretávame s extracelulárnym vylučovaním galaktózy, kde počas kultivácie tejto baktérie na laktózovom médiu dochádza k exportu galaktózy do extracelulárneho priestoru [40,44]. Kmene spomínaného druhu efektívnejšie využívajúce galaktózu

možno získať rastom Gal<sup>-</sup> kultúry v chemostate pri limitácii laktózou [40], alebo pôsobením N-metyl-N'-nitro-N-nitrozoguanidínu ako vhodného mutagénneho činidla [45].

Z hľadiska koncových produktov fermentácie môžeme mliečne baktérie rozlíšiť ako homo- a heterofermentatívne [19,42,43]. K prvej skupine produkujúcej kyselinu mliečnu patria napr. druhy *L.helveticus*, *L.bulgaricus*, k druhej tvoriacej taktiež kyselinu octovú, etanol a CO<sub>2</sub> zaraďujeme napr. *L.kefir* [25]. Z enzýmového hľadiska možno homo- a heterofermentatívne kmene rozlíšiť prítomnosťou, resp. absenciou aldolázy alebo fosfoketolázy. Zatiaľ čo heterofermentatívne druhy majú vo svojej enzýmovej výbave fosfoketolázu a nemajú aldolázu, u homofermentatívnych je tomu naopak [42]. Uvedené diferencie v metabolizme mliečnych baktérií sú tiež silne ovplyvnené i podmienkami fermentácie. Pri sacharidovej limitácii, alebo za striktných anaeróbných podmienok i za výrazného nadbytku substrátu, sa môžu aj u inak homofermentatívnych kmeňov objavovať prvky heterofermentatívneho metabolizmu [46].



Obr. 6. Zjednodušený tagatóza-6-fosfátový metabolizmus galaktózy [43].

P - fosfát.

Fig. 6. Simplified tagatose-6-phosphate metabolism of galactose [43].

P - phosphate.

Okrem usmernenia fermentačného procesu v zmysle jeho homofermentatívnosti je žiadúce orientovať selekciu na také produkčné kmene, ktoré poskytujú vyššie podiely žiadanejšej kyseliny L-mliečnej. Výsledná konfigurácia tejto kyseliny závisí od stereošpecificity jedného z enzýmov vlastnej biosyntézy - laktátdehydrogenázy [47]. Väčšina v prírode sa nachádzajúcich

mliečnych baktérií (okolie mliekární, zelenina, mliečne výrobky) však tvorí kyselinu mliečnu ako racemát.

Zástupcovia rodu *Lactobacillus* rastú optimálne pri teplotách 42°C, rod *Streptococcus* preferuje i vyššie teploty, až do 52°C [25]. Oba rody vyžadujú médiá bohaté na rastové faktory. I z tohto hľadiska sa použitie srvátky javí veľmi výhodným. V súvislosti s inhibíciou vlastnej biosyntézy nedisociovanou kyselinou mliečnou pri nízkom pH je potrebné ho udržiavať počas fermentácie na hodnotách blízkyh 6,0 [48,49].

Biochemicky je s kyselinou mliečnou, ktorá sa v potravinárstve používa ako prírodné ochucovadlo a konzervačná látka (náhrada kyseliny citrónovej), či formou laktátu amónneho ako súčasť živočíšneho krmiva [50,51], spätá i tvorba dvoch ďalších kyselín - octovej a propiónovej.

Mikroorganizmy produkujúce tieto kyseliny (*Clostridium formiaceticum* [52], resp. *Propionibacterium freundenreichii-shermanii* a *Propionibacterium acidopropionici* [53,54] lepšie využívajú ako C-zdroj kyselinu mliečnu než laktózu [55]. Preto sú do laktózových médií aplikované formou kokultúry spolu s mliečnymi baktériami. Samozrejme, vzhľadom na slabšiu termotoleranciu spomínaných druhov je potrebné viesť dané fermentácie pri nižších teplotách ako pri výrobe samotnej kyseliny mliečnej [25].

Využitie kyseliny octovej v potravinárstve netreba zvlášť zdôrazňovať. Srvátkový ocot môže byť v pozitívnom zmysle senzoricky kvalitatívne odlišný od bežne používaných. Jeho produkcia na srvátke je považovaná za efektívnejšiu ako klasická octová technológia [52]. Kyselina propiónová sa používa najmä ako konzervačná látka a niektoré jej estery i ako aditíva zvyšujúce arómu [55].

## Literatúra

1. FLATT, J.H., Utilization of Dairy Waste: Microbial Production Galactose Containing Polysaccharides from Lactose in Whey, Madison, University of Wisconsin, 1988.
2. GLASS, L. - HEDRICK, T.I., J. Dairy Sci., 60, 1976, s.185.
3. GLASS, L. - HEDRICK, T.I., J. Dairy Sci., 60, 1976, s.190.
4. ZADOW, J.G., Bull. Int. Dairy Fedr., 233, 1988, s.53.
5. RICHMOND, M.L. - GRAY, J.I. - STINE, C.M., J. Dairy Sci., 64, 1981, s.1759.
6. SHUKLA, T.P., CRC Crit. Rev. Food Technol., 5, 1975, s.325.
7. TOMÁŠKA, M. - STREĎANSKÝ, M. - ŠTURDÍK, E., Bulletin PV, 32(12), 1993, č.1, s.17.
8. RYDER, D.N., Bull. Int. Dairy Fedr., 233, 1988, s.45.
9. MARIORELLA, B.L. - CASTILLO, F.J., Process Biochem., 19, 1984, s.157.
10. CUESTA, M.A. - CORNEJO, I., Rev. Agroquim. Technol. Aliment., 37, 1990, s.371.

11. AXELSSON, A. - WILSON, M. - ZACCHI, G. - HAHN-HAGERDAL, B., J. Chem. Tech. Biotechnol., 52, 1991, s.227.
12. KAMINI, N.R. - GUNASEKAVAN, P., J. Ferment. Bioeng., 68, 1989, s.305.
13. KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A., Taxonómia kvasiniek a kvasinkových mikroorganizmov. Bratislava, Alfa, 1991.
14. WALKER, G.M., J. Chem. Tech. Biotechnol., 49, 1990, s.75.
15. KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A., Yeasts and Yeast-like Organisms. Weinheim, VCH Verlagsgesellschaft, 1991.
16. VANDÁK, D., Komplexná frakcionácia biomasy *Kluyveromyces marxianus*. Diplomová práca. Bratislava, CHTF SVŠT, 1990.
17. GASNIER, B., Biochim. Biophys. Acta, 903, 1987, s.425.
18. DE BRUIJNE, A.W. - SCHUDDEMAT, J. - VAN DE BROEK, P.J.A. - VAN STEVENINCK, J., Biochim. Biophys. Acta, 939, 1988, s.569.
19. LEHNINGER, A.L., Principles of Biochemistry, New York, Worth Publishers, Inc., 1982.
20. WOO, R.Y. - JANG, H.W. - LEE, H.S., J. Microbiol. Biotechnol., 1, 1991, s.151.
21. CASTRILLO, J.I. - UGALDE, U.O., J. Biotechnol., 22, 1992, s.145.
22. ANTIER, P. - BOZE, H. - MOULIN, G. - GALZY, P., Biotechnol. Lett., 12, 1990, s.45.
23. JEONG, Y.S. - VIETH, W.R. - MATSUURA, T., Biotechnol. Bioeng., 37, 1991, s.587.
24. PORRO, D. - MARTEGANI, E. - RANZI, B.M. - ALBERGHINA, L., Biotechnol. Bioeng., 39, 1992, s.799.
25. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Holt, J.G. (Ed.). Baltimore/London, Williams & Wilkins, 1984.
26. DI MARCO, A.A. - ROMANO, A.H., Appl. Environ. Microbiol., 49, 1985, s.151.
27. YANASE, H. - KURII, J. - TONOMURA, K., J. Ferment. Technol., 66, 1988, s.409.
28. YANASE, H. - KOTANI, T. - YASUDA, M. - MATSUZAWA, A. - TONOMURA, K., Appl. Microbiol. Biotechnol., 35, 1991, s.364.
29. BISSON, L.F. - FRAENTEL, D.G., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 1983, s.1730.
30. Anonymný autor, Food Technol., 38, 1984, s.26.
31. CHAMPAGNE, C.P. - GOULET, J. - LACHANCE, R.A., J. Food Sci., 54, 1989, s.1238.
32. THORNE, L. - TANSLEY, L. - POLLOCK, T.J., J. Ind. Microbiol., 3, 1988, s.321.
33. FU, J.F. - TSENG, Y.H., Appl. Environ. Microbiol., 56, 1990, s.919.
34. SCHWARTZ, R.D. - BODIE, E.A., Appl. Environ. Microbiol., 50, 1985, s.1483.
35. CROW, V.L., Appl. Environ. Microbiol., 54, 1988, s.1892.
36. RACINE, M. - DUMONI, J. - CHAMPAGNE, C.P. - MONIN, A., J. Appl. Bacteriol., 71, 1991, s.233.
37. FLATT, J.H. - HARDIN, R.S. - GONZALES, J.M. - DOGGER, D.E. - LIGHFOOT, E.N. - CAMERON, D.C., Biotechnol. Prog., 8, 1992, s.327.
38. FLATT, J.H. - COOPER, T.A. - GONZALES, J.M. - DOGGER, D.E. - LIGHFOOT, E.N. - CAMERON, D.C., Biotechnol. Prog., 8, 1992, s.335.
39. STEIN, M.A.C.F. - JERKE, P.R. - LUNA, M.F. - PODLECH, P.A.S. - BORZANI, W., Biotechnol. Lett., 11, 1989, s.523.
40. ZOURARI, A. - ACCOLAS, J.P. - DESMAZEARD, M.J., Lait, 72, 1992, s.1.
41. THOMPSON, J., Biochemie, 70, 1988, s.325.
42. THOMPSON, J., In: Sugar Transport and Metabolism in Gram-positive Bacteria. Reizer, J. - Peterkofsky, A. (Eds.). Chichester, Horwood Limited, 1987, s.13.
43. YAMADA, T., In: Sugar Transport and Metabolism in Gram-positive Bacteria. Reizer, J. - Peterkofsky, A. (Eds.). Chichester, Horwood Limited, 1987, s.69.
44. ROMANO, A.H., Trends. Biotechnol., 14, 1986, s.207.
45. BENATEYA, A. - BRAQUART, P. - GUY, L., Can. J. Microbiol., 37, 1991, s.136.
46. YOSHIMICHI, I., Arch. Exp. Med., 61, 1988, s.1.

47. VICKROY, T.B. In: Comprehensive Biotechnology. Moo-Young, M. (Ed.). Oxford, Pergamon Press, 1985, s.761.
48. WANG, G. - WANG, D.I.C., Appl. Environ. Microbiol., 47, 1984, s.294.
49. BEREZNY, L.M. - MARWIN, CH., J. Ind. Microbiol., 4, 1989, s.65.
50. CCA biochem b.v. Gorinchem: Firemná literatúra, 1989.
51. MULLIGAN, C.N. - SAFI, B.F. - GROLEAU, D., Biotechnol. Bioeng., 38, 1991, s.1173.
52. TANG, I.CH. - YANG, S.T. - OKOS, M.R., Appl. Microbiol. Biotechnol., 28, 1988, s.138.
53. BLANC, P. - GOMA, G., Biotechnol. Lett., 11, 1989, s.189.
54. CHAMPAGNE, C.P. - BAILLARGON-COTE, C. - GOULET, J., J. Appl. Bacteriol., 66, 1989, s.175.
55. PLAYNE, M.J. In: Comprehensive Biotechnology. Moo-Young, M. (Ed.). Oxford, Pergamon Press, 1985, s.731.

Do redakcie došlo 24.3.1993.

### **Microbiologic-biochemical aspects of whey treatment**

#### **Summary**

New knowledge of morphological, biochemic-physiological and genetic properties of selected microbial genera and species in connection with their utilization in biotechnologic production of lactase, ethanol, baking yeast, some polysaccharides and organic acids from whey. Emphasis is laid upon possible ways of lactose, galactose and glucose conversion to higher mentioned food products.