

Biochemické a genetické aspekty regulácie metabolickej aktivity pekárskych kvasiniek vo vzťahu ku kvasným procesom v ceste

JÚLIUS ŠUBÍK

Súhrn. Práca podáva prehľad biochemických vlastností pekárskych kvasiniek, ktoré súvisia s ich aktivitou pri kvasení cesta. Diskutuje sa o genetickom pozadí a regulácii metabolizmu skvasiteľných cukrov cesta, metabolizme zásobných sacharidov kvasiniek a tvorbe oxidu uhličitého v ceste. Príčinná súvislosť týchto procesov je jedným z predpokladov pre racionálne šľachtenie priemyselných kmeňov pekárskych kvasiniek.

Na prípravu požívatín človek využíval činnosť mikroorganizmov oveľa skôr, ako ich prítomnosť vôbec tušil alebo čokoľvek o nich vedel. Tak to bolo aj pri príprave chleba a pekárskych výrobkoch. Ich história spadá do obdobia asi pred 6000 rokov a viaže sa na stredoveký Egypt [1]. O úlohe kvasiniek v kvasení a príprave chleba sa však dlho pochybovalo, a to aj napriek tomu, že Cagniard de la Tour, Schwann a Kützing v rokoch 1835—1837 presvedčivo ukázali, že kvasenie je výsledkom vegetatívneho rastu kvasiniek, teliesok, ktoré o rok neskôr Meyen nazval *Saccharomyces*. Až práce Pasteura v rokoch 1857—1863 jednoznačne ukázali úlohu kvasiniek a iných mikróbov v kvasení, čo v konečnom dôsledku dokázali práce Büchnera s kvasením bezbunkového extraktu kvasiniek.

Kvasinky sú kvantitatívne i ekonomicky najdôležitejšou skupinou mikroorganizmov, ktorú človek komerčne využíva. Priemyselne najvýznamnejšie sú rody *Candida* a *Saccharomyces*, najmä *Sacharomyces cerevisiae* a príbuzné druhy, ktoré sa vo veľkom rozsahu využívajú najmä v pekárskom priemysle, a pri produkcii etanolu.

Pri kysnutí cesta je hlavnou úlohou kvasiniek tvorba plynov a látok podmieňujúcich typickú arómu výrobkov [2—4]. Primárnou úlohou kvasiniek je skvasovanie sacharidov cesta a tvorba oxidu uhličitého, resp. etanolu, čím sa

RNDr. Július Šubík, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

cesto kypří a vytvára sa charakteristická štruktúra. Pretože kvasinky sú bohatým zdrojom bielkovín i vitamínov skupiny B [5], inou i keď menej významnou úlohou kvasiniek je aj zvýšenie výživnej hodnoty chleba a iných pekárskych výrobkov.

Jeden z najdôležitejších znakov kvality pekárskeho droždia je jeho aktivita v ceste, ktorá však nie je vlastnosťou jediného enzýmu, ale odráža výslednicu početných enzýmových aktivít bunky. Celkovú biochemickú aktivitu pekárskych kvasiniek síce determinuje primárne genotyp použitého produkčného kmeňa, závisí však do značnej miery i od technologického postupu ich výroby, resp. použitia. Pri dosiahnutom optime zloženia kultivačného média a fyzikálnochemických parametrov technologického procesu, s využitím moderných zariadení, resp. regulačnej techniky, je ďalšia optimalizácia biochemických vlastností pekárskych kvasiniek možná iba zásahmi do genómu produkčného kmeňa.

Cieľavedomé šľachtenie vyžaduje však poznať základné mechanizmy regulujúce syntézu i aktivitu enzýmových systémov podmienujúcich žiadaný fenotyp produkčného kmeňa a nezaobíde sa ani bez poznania faktorov vonkajšieho prostredia, ktoré ho významne ovplyvňujú.

1. Metabolizmus skvasiteľných cukrov cesta v kvasinkách a jeho regulácia

1.1. Metabolizované sacharidy cesta

Rýchlosť tvorby CO_2 a etanolu v kvasinkách v rozhodujúcej miere závisí od druhu a koncentrácií skvasiteľných cukrov v prostredí, od ich dostupnosti pre bunky, resp. cytoplazmu, ako aj od aktivity a saturácie glykolytických enzýmov intermediátmi ich katabolizmu.

Pre kvasenie cesta kvasinkami, ako aj pre rast ich buniek múka obsahuje všetky potrebné živiny, ako sú voľné cukry, aminokyseliny, vitamíny, minerálne, bielkoviny a polysacharidy [6]. Voľné cukry v množstve 1—2 g v 100 g múky sú tvorené voľnými hexózami (glukózou a fruktózou), disacharidmi (sacharózou a maltózou), ako aj glukofruktózanmi (levosin) (tab. 1). Obsah disacharidov v ceste sa však môže podstatne zvýšiť prídavkom exogénnej sacharózy alebo aktivitou endogénne prítomných, resp. exogénne pridaných amyláz degradujúcich škrob múky na maltózu [6]. Metabolické dráhy katabolizmu skvasiteľných cukrov múky schematicky znázorňuje obrázok 1 a podrobnejšie sa o nich diskutuje v ďalších kapitolách.

Glukóza a fruktóza vstupujú do bunky z extracelulárneho priestoru špeci-

Tabuľka 1. Obsah skvasiteľných cukrov v múke
Table 1. Content of fermentable sacharides in meal

Sacharid ¹	Množstvo [g/100 g múky] ²	
	(7)	(8)
Glukóza ³	0,02	0,01—0,17
Fruktóza ⁴	0,04	0,02—0,17
Maltóza ⁵	0,12	0,05—0,12
Sacharóza ⁶	0,26	0,10—0,38
Rafinóza ⁷	—	0,05—0,54
Glu ₁ -fru ₂ ⁸	0,40	—
Glu ₁ -fru ₃ ⁹	0,26	—
Vyššie glukofruktózy ¹⁰	0,72	—

¹Saccharide; ²Amount [g/100 g of meal]; ³Glucose; ⁴Fructose; ⁵Maltose; ⁶Saccharose; ⁷Raffinose; ⁸Glu₁-fru₂; ⁹Glu₁-fru₃; ¹⁰Higher glucofructoses.

fickým, konštitutívne prítomným prenášačom pre monosacharidy, fosforylujú sa a enzýmovým systémom glykolýzy sa odbúrajú na CO₂ a etanol. Prvým krokom metabolizmu sacharózy a rafinózy je ich extracelulárna hydrolýza invertázou (β -D-fruktofuranozidáza EC 3.2.1.26). Katabolizmus maltózy si primárne vyžaduje vstup tohto disacharidu do bunky špecifickým systémom maltózopermeázy. Intracelulárna maltóza sa potom hydrolyzuje glukozidázami na glukózu, ktorá napokon opäť vstupuje do metabolickej dráhy glykolýzy.

1.2. Transport monosacharidov

Napriek tomu, že utilizácia cukrov kvasinkami je dôležitým taxonomickým kritériom, transport cukrov sa zatiaľ študoval iba pri niektorých druhoch kvasiniek a iba s obmedzeným rozsahom sacharidov. Relatívne málo informácií existuje i o genetickom základe a celkovom počte týchto transportných systémov [9, 10].

Metabolizované cukry sa do buniek pekárskych kvasiniek dostávajú prostredníctvom viacerých transportných systémov. Sú to: konštituovaný systém pre cukry typu glukózy [11] a indukibilné systémy pre galaktózu a príbuzné cukry [12], pre maltózu a iné α -glukozidy [13—15], pre α -metyl-D-glukozid alebo α -tioetyl-D-glukozid, resp. iné α -glukozidy [16, 17], ako aj transportný systém pre trehalózu [18].

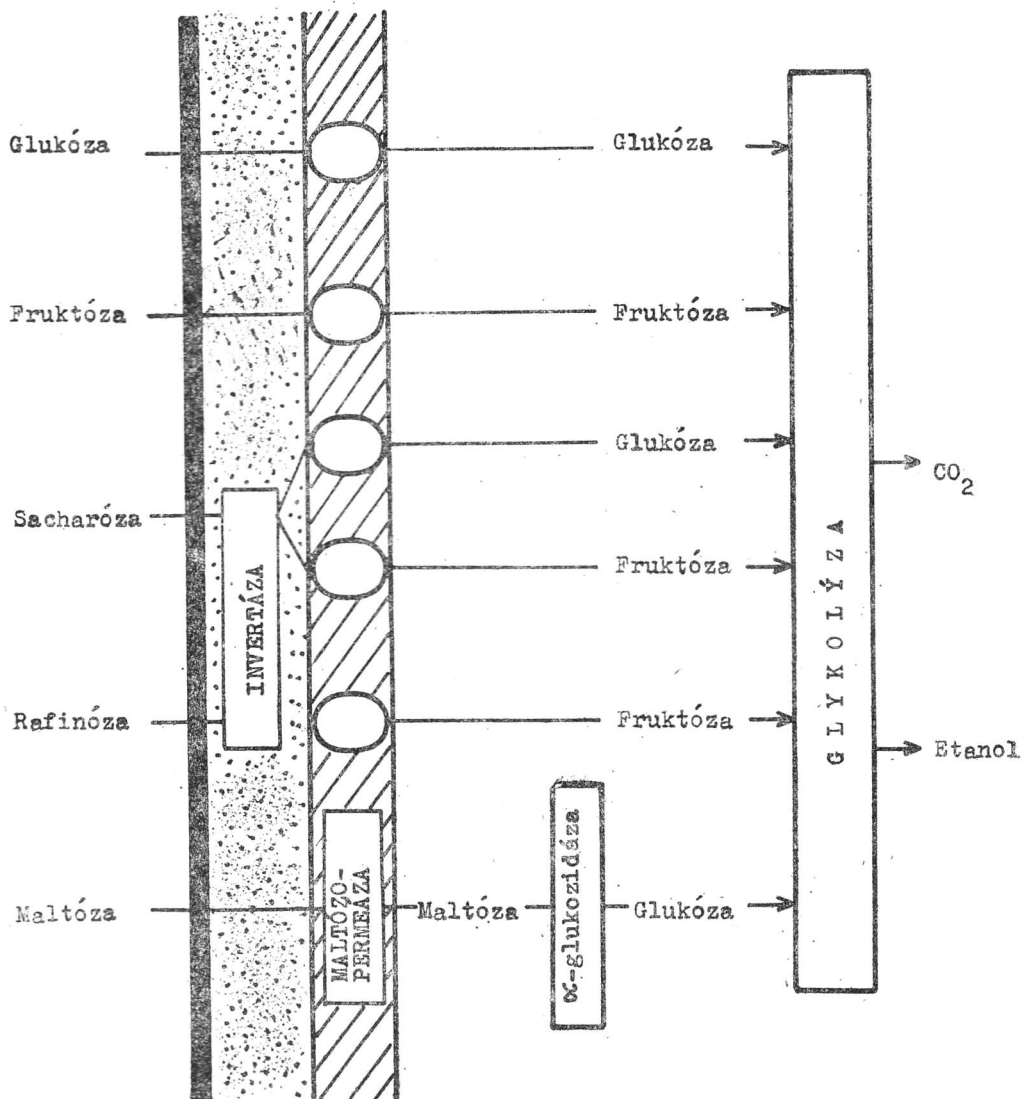
Transport monosacharidov (glukóza, fruktóza alebo xylóza) do buniek kvasiniek *S. cerevisiae* sa uskutočňuje prostredníctvom prenášača uľahčenou difúziou [10]. Transportný systém pre glukózu je konštitutívny [19] a špecificky inhibovateľný iónmi uranylu [20].

EXTRA-
CELULÁRNY
PRIESTOR

Bunková stena

Cytoplazmatická
membrána

INTRACELULÁRNY
PRIESTOR



S. cerevisiae

Obr. 1.
Fig. 1.

Hoci fosforylácia nie je nevyhnutným krokom difúzie glukózy, afinita glukózy a jej metabolizovateľných analógov pre transport sa silne zvyšuje za fosforylujúcich podmienok [21, 22]. V pekárskych kvasinkách prevažuje nízkoafinitný systém transportu glukózy s Michaelisovou konštantou 4 až 5 mM a s maximálnou rýchlosťou 30 až 45 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ sušiny [23, 24]. Popri tomto systéme iné druhy kvasiniek majú i vysokoafinitný systém ($K_m = 0,03\text{--}0,15$, $V_{\text{max}} = 3\text{--}18$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ sušiny) a existujú i také kvasinky, ktorým nízkoafinitný systém úplne chýba [24]. V súčasnosti existuje i snaha rekonštituovať transportný systém glukózy kvasiniek a prvým krokom v tomto smere je nedávno opísaná aktivita glukózového transportu v rekonštituovaných váčkoch plazmatickej membrány kvasiniek *S. cerevisiae* [25].

Biologický polčas konštitutívneho glukózového prenášača v prítomnosti cykloheximidu, inhibítora proteosyntézy bol viac ako 24 h [17], pri iných kmeňoch kvasiniek *S. cerevisiae* sa pohyboval v závislosti od zloženia inkubačného média v rozsahu 4 až 9 h [26]. Pri kvasinkách *Kluyveromyces lactis* je transportný systém pre glukózu ireverzibilne inaktívovaný prenosom buniek do média obsahujúceho etanol [27]. V týchto kvasinkách je však transportný systém pre glukózu inducibilný [28].

1.3. Transport maltózy

Molekulárna organizácia a genetický pôvod maltózopermeázy nie sú zatiaľ tak detailne preskúmané, hoci membránovú bielkovinu, ktorá špecificky viazala maltózu sa už podarilo izolovať a čiastočne charakterizovať [29]. Maltóza sa do buniek kvasiniek *S. cerevisiae* transportuje špecifickým prenášačom mechanizmom protónového symportu [10]. Tento symport o stechiometrii 1 H^+ /maltózu môže byť elektrogénny [30]. Hoci maltóza vstupuje do buniek *S. cerevisiae* aktívne za aerobných podmienok, jej vstup za anaeróbných podmienok je uľahčený difúziou [31]. Maltóza sa transportuje i do buniek, ktoré stratili aktivitu maltázy [25], ako aj do buniek, ktorých dýchanie i glykolýza boli inhibované antimycínom A, 2-dezoxy-D-glukózou a jódacetamidom [32]. Podobne ako transport glukózy [33] i transport maltózy je nešpecificky inhibovaný etanolom a vyššími alkoholmi, čo pravdepodobne súvisí s interakciou alkoholov s lipidickým okolím prenášača [34].

Transport maltózy a jej využiteľnosť pre rast kvasiniek úzko súvisí s prítomnosťou MAL génov v bunke [35], o ktorých bude podrobnejšia zmienka pri α -glukozidáze. Okrem týchto génov sa na regulácii tvorby, resp. aktivity maltózopermeázy špecificky zúčastňuje i gén HEX 2, ktorého mutácia spôsobuje defekt v katabolickej represii spojený s cytostatickým, nekontrolovateľným a nadbytočným vstupom maltózy do bunky [36]. Pri väčšine kvasiniek je

syntéza maltózopermeázy indukčivnej povahy a je pod kontrolou katabolickej represie [9, 13, 37], pri ktorej sa zvyšuje K_m pre maltózu zo 4 mM na 50 mM [13]. Biologický polčas maltózopermeázy je 1,2 h [17, 26] a počas hladovania na dusík sa predlžuje na 2,5 h [26].

1.4. Invertáza

Schopnosť niektorých kvasiniek využívať sacharózu ako jediný zdroj uhlíka a energie je podmienená prítomnosťou periplazmaticky lokalizovanej invertázy. β -D-fruktofuranozidázy (EC 3.2.1.26) hydrolyzujúcej sacharózu na glukózu a fruktózu [38]. Tento enzým hydrolyzuje koncové neredukujúce β -D-fruktofuranozidové zvyšky v β -fruktofuranozidoch za vzniku monosacharidov, ktoré sa transportujú a ďalej metabolizujú už vnútri bunky [38, 39].

Invertáza sa v bunkách kvasiniek vyskytuje vo forme externého glykoproteínu [40, 41], jeho membránovo viazaného prekursora [42] i ako cytoplazmatická neglykozylovaná invertáza [43, 44]. Externá invertáza je monomerný proteín molekulovej hmotnosti 270 000, obsahujúci glukózoamín (30 g/kg), manan (500 g/kg) a dva pravdepodobne identické polypeptidy molekulovej hmotnosti 60 000 [40, 45, 46]. Každý polypeptid externej invertázy je glykozylovaný priemerne na 9 miestach [46], pričom rozličný stav fosforylácie polymanozidových vonkajších reťazcov je zodpovedný za jej polymorfizmus [47]. Michaelisova konštanta enzýmu je relatívne vysoká ($K_m = 28$ až 38 mM pre SUC 3, resp. SUC 1 kmeň) [48, 49] a jeho pH optimum je 4,5 [38].

Schopnosť kvasiniek syntetizovať invertázu a využívať sacharózu je kontrolovaná jadrovými SUC génmi [50], ktorých expresia najmä v priemyselných kmeňoch môže byť ovplyvnená mitochondriálnym genómom [51]. Medzi rozličnými kmeňmi kvasiniek rodu *Saccharomyces* sa rekombinačnou analýzou identifikovalo 6 nealelických SUC lokusov, ktoré sa v genóme haploidných kmeňov môžu vyskytovať v nijakej, jednej alebo viacerých SUC⁺ alelách, umiestnených na rozličných chromozómoch (SUC 1, VII; SUC 2, IX; SUC 3, II; SUC 4, nezmapovaný; SUC 5, IV; SUC 7, nezmapovaný) [51–53]. Pokusy s klonovaním SUC génu [54, 55] a štúdium vzájomného vzťahu jednotlivých foriem invertáz [49, 56, 57] viedli k záveru, že každý SUC lokus obsahuje štruktúrny gén pre neglykozylovanú cytoplazmatickú invertázu i pre glykoproteín externej invertázy, pričom obe vznikajú za špecifických podmienok potranskripčnej a potranslačnej úpravy [58–61]. Identita SUC 2 lokusu so štruktúrnym genóm invertázy sa definitívne dokázala porovnaním nukleotidovej sekvencie SUC 2 génu [61] s aminoterminálnou sekvenciou aminokyselín izolovanej invertázy [59]. Pri použití klonovanej SUC 2 DNA sondy sa zistilo, že všetky aktívne SUC⁺ gény sú homologné v sekvencii DNA a sú pravdepo-

dobne výsledkom pohybu SUC⁺ informácie medzi chromozómami v priebehu evolúcie *Saccharomyces* [62].

Syntéza invertázy v kvasinkách nevyžaduje induktor. Hladina enzýmu a jeho aktivita pri rozličných kmeňoch je odlišná a popri genotype závisí aj od fyziologického stavu bunky [63, 64]. Syntézu invertázy citlivo reguluje koncentrácia glukózy (fruktózy, manózy) v kultivačnom médiu [64, 65]. Túto katabolickú represiu invertázy kontrolujú viaceré gény [48, 66—68] a je pravdepodobne modulovaná prostredníctvom izoenzýmu hexokináza II [70—73]. Uplatňujú sa na úrovni transkripcie DNA [58, 62, 74], translácie mRNA [34], ako aj na úrovni glykozylácie polypeptidov invertázy a jej transportu do periplazmatického priestoru [64, 75]. Za transmembránový transport invertázy je zodpovedná signálna sekvencia 19 aminokyselín na aminoterminálnej strane polypeptidu, ktorá sa počas sekrécie odštiepuje z prekursora extracelulárnej invertázy [59, 62].

1.5. α -glukozidáza

α -glukozidáza (α -D-glukozid glukohydroláza, EC 3.2.1.20) je intracelulárny enzým kvasiniek katalyzujúci hydrolýzu terminálneho neredukujúceho α -1,4 viazaného glukózového zvyšku v rozličných substrátoch za uvoľnenia α -D-glukózy [76]. α -glukozidázy, reprezentované maltázami, majú okrem hydrolyzujúcej aktivity i transferázovú aktivitu, pri ktorej dochádza k prenosu α -D-glukozylového zvyšku maltózy alebo α -D-glukozidu na vhodný akceptor [77].

Kvasničné α -glukozidázy majú širokú aglykónovú špecifitu [78, 79]. Dobre hydrolyzujú maltózu, maltotriózu, sacharózu a aryl- α -glukozidy, avšak veľmi slabo pôsobia na alkylglukozidy [79—80]. Pri kvasinkách *S.cerevisiae* sa podrobnejšie charakterizovala maltáza i α -metylglukozidáza. Prvý enzým hydrolyzoval maltózu, maltotriózu i sacharózu, druhý izomaltózu, sacharózu a α -metylglukozid [81, 82]. Charakterizáciou purifikovanej α -glukozidázy sa zistilo, že kvasničný enzým je monomér molekulovej hmotnosti 63 000. Jeho pH optimum je 6,8, K_m a V_{max} pre maltózu je 16,6 mM a 44,8 μ mol/min/mg bielkoviny [81]. Aktivita enzýmu je citlivá na inhibičný účinok akarbózy [83] a látky špecificky reagujúce s SH skupinami [80].

Skvasovanie maltózy kvasinkami *Saccharomyces* vyžaduje prítomnosť hociaktorého z piatich dominantných a nespojitých MAL génov lokalizovaných na rozličných chromozómoch (MAL 1, VII; MAL 2, III; MAL 3, II; MAL 4, XI; MAL 6, nezmapovaný) [9, 50]. Hoci gény sú funkčne ekvivalentné, ich povaha a vzájomné vzťahy sú neznáme. Podľa dnešných predstáv každý z týchto MAL lokusov tvorí komplex génov pozostávajúci minimálne z jedného regulačného

génu, jedného štruktúrneho génu pre maltázu a jedného štruktúrneho génu pre maltózopermeázu [84].

Syntéza maltázy i maltózopermeázy indukovaná je prídavkom maltózy do rastového média. V neprítomnosti induktora bunka obsahuje iba základnú hladinu každého enzýmu. Ich produkciu kontroluje regulačná bielkovina [9, 85, 86].

Existenciu regulačnej bielkoviny podporuje skutočnosť, že zatiaľ napriek rozsiahlej mutačnej analýze sa nepodarilo identifikovať nijakú mutáciu v štruktúrnom géne maltázy alebo maltózopermeázy. Na druhej strane bazálne hladiny maltázovej aktivity sú prítomné vo všetkých laboratórnych kmeňoch skvasujúcich alebo neskvasujúcich maltózu po segregácii alebo mutačnom zásahu [85, 87]. Navyše mutanty syntetizujúce maltázu konštitutívne alebo so sníženým efektom glukózovej represie sa mapovali do oblasti lokusov MAL 2, MAL 4 a MAL 6 [85, 86, 88, 89]. Pritom termosenzitívne mutanty alelické s lokusom MAL 6 neovplyvnili fyzikálne ani chemické vlastnosti maltázy [85, 89].

Možnosť, že MAL gény kódujú viac než regulačnú bielkovinu, naznačili viaceré práce [90—92], ktorých predpoklad však potvrdilo až klonovanie štruktúrneho génu pre maltázu [84, 93]. Prácou s prírodnými izolátmi *Saccharomyces* sa totiž zistilo, že geneticky funkčný MAL systém zahŕňa dve komplementačné skupiny zvané MALp a MALg. Ak sa dva kmene neskvasujúce maltózu z dvoch komplementačných skupín skrížia, potom diploid je schopný skvasovať maltózu bez ohľadu na to, či príslušný gén p alebo g sa mapuje v tom istom MAL lokuse [91, 92]. Takto všetky štandardné zbierkové MAL kmene môžu popri definovanom MAL lokuse obsahovať i iné nespojité kryptické MALg gény a preto ich genetická definovanosť je zatiaľ iba parciálna [84, 92].

Nedávno v segmente DNA z MAL 6 kmeňa sa podarilo klonovať štruktúrný gén pre maltázu a jej blízke okolie. Plazmid obsahujúci tento segment bol schopný transformovať kmeň neskvasujúci maltózu na kmeň skvasujúci maltózu [93]. Navyše použitím tejto sondy sa hybridizáciou dokázalo, že lokusy MAL 1, MAL 3 a MAL 6 sú príbuzné vykazujúce sekvenčnú homológiu DNA, čo vôbec neplatí pre lokusy MAL 2, resp. MAL 4 [84].

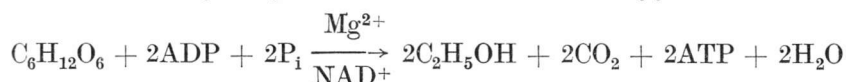
Indukovaná syntéza maltázy zahŕňa transkripciu DNA na mRNA s polčasom 23 min a *de novo* syntézu enzýmu [74]. Kinetika indukcie syntézy maltázy bola ovplyvniteľná génovou dózou MAL lokusov [94]. Kmene nesúce rozličné MAL lokusy produkovali rozličné hladiny maltázy (MAL 2 > MAL 6 ~ ~ MAL 1) [94, 95] a rýchlosť jej indukcie bola tiež odlišná (MAL 2 > MAL 6 > > MAL 1) [96].

Syntéza α -glukozidázy podlieha silnej glukózovej represii [86, 97, 98] uplatňujúcej sa na úrovni transkripcie štruktúrneho génu pre α -glukozidázu [97]. Pri niektorých kmeňoch sa na kontrole expresie MAL génov zúčastňuje i funkčný stav mitochondrií [99, 100]. Popri konštitutívnom fenotype [86, 88,

89] sa podarilo izolovať aj rozličné, väčšinou pleiotropné mutanty rezistentné proti katabolickej represii v syntéze α -glukozidázy [48, 69, 86, 101—105]. Mnohé z týchto mutácií majú vzťah k regulácii syntézy hexokinázy PII, ktorá sa signifikantne zúčastňuje na mechanizme katabolickej represie v eukaryotických kvasinkách [70—73].

1.6. Glykolýza

Glykolýza predstavuje anaeróbnou enzýmovú degradáciu hexózu, pri ktorej v kvasinkách vzniká oxid uhličitý, etanol a ATP. Celý proces je katalyzovaný sériou dvanástich enzýmových reakcií a sumárne sa dá vyjadriť rovnicou



Väčšina reakcií glykolýzy je reverzibilná a je katalyzovaná tým istým enzýmom v smere glykolýzy, ako aj glukoneogenézy [106]. Reakcia glukóza \rightleftharpoons glukóza-6-fosfát, fruktóza-6-P \rightleftharpoons fruktóza-1,6-difosfát a fosfoenolpyruvát \rightleftharpoons pyruvát sú však nevratné a katalyzované metabolicky antagonistickými obligátne glykolytickými a obligátne glukoneogenickými enzýmami [107, 108]. Enzýmy katalyzujúce tieto reakcie sú citlivo regulované na úrovni ich syntézy (indukcia, represia) i na úrovni ich katalytickej aktivity inhibíciou, aktiváciou, inaktiváciou a degradáciou [109—111].

Rýchlosť tvorby CO_2 a etanolu degradáciou glukózy môžu byť limitované dostupnosťou glukózy [112], nízkou koncentráciou niektorých reakčných komponentov (ADP, P_i , NAD^+), resp. aktivitou regulovaných glykolytických enzýmov [113].

Enzýmy glykolytickej dráhy predstavujú značnú frakciu rozpustných bielkovín kvasiniek. Ich koncentrácia je geneticky determinovaná a závisí od podmienok rastu buniek. Dnes sú známe mutácie ovplyvňujúce takmer každý glykolytický enzým [114]. Takéto mutácie sú však špecifické pre ten-ktorý enzým. Výnimku tvorí iba mutácia *gcr*, ktorá znižuje hladinu väčšiny glykolytických enzýmov na menej ako 5 % hladín štandardného kmeňa [115], pravdepodobne ovplyvnením syntézy alebo stability zodpovedajúcej mRNA [116]. Haploidné kmene majú všeobecne nižšiu glykolytickú aktivitu ako izogénne diploidné kmene a s rastom ploidie sa ďalej výrazne nemení. Naproti tomu diploidné alebo polyploidné hybridy skonštruované z neizogénnych rodičov môžu mať podstatne vyššiu glykolytickú aktivitu, čo poukazuje skôr na význam genetickej komplexnosti genómu hybridných polyploidných buniek než na génovú dózu [117].

Koncentrácia väčšiny glykolytických enzýmov je rovnaká bez ohľadu na to,

či bunky rástli na glukóze alebo etanole. Rast na etanole výrazne ovplyvňuje špecifickú aktivitu fosfofruktokinázy II [136] a znižuje špecifickú aktivitu pyruvátkinázy a pyruvátdekarboxylázy. Po raste na oboch substrátoch najnižšiu špecifickú aktivitu mali aldoláza, fosfofruktokináza a glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenáza [109, 118].

Vstup glukózy do metabolickej dráhy glykolýzy začína jej fosforyláciou v cytozole, ktorá môže byť katalyzovaná špecifickou glukokinázou [119] alebo nešpecifickou hexokinázou I, resp. hexokinázou II [72, 120]. Tieto enzýmy sú produktom génov GLK 1, HXK 1, resp. HXK 2 = HEX 1 = GLR 1 [73, 120]. Mutanty so zníženou aktivitou hexokinázy II (6-krát) v dôsledku mutácií v štruktúrnom gène HEX 1 = GLR 1 alebo mutanty so zvýšenou aktivitou hexokinázy II (2,5-krát) v dôsledku mutácií v regulačnom gène HEX 2 majú zníženú citlivosť na glukózovú represiu [68, 70, 72, 102, 118]. Zmenená špecifická aktivita hexokinázy nemala výrazný vplyv na aktivitu ostatných glykolytických enzýmov. V prípade *hex 1* mutantov znížila celkovú glykolytickú aktivitu buniek, v prípade *hex 2* mutantov bola bez vplyvu na kvasenie, avšak podstatne zvýšila respiračnú aktivitu buniek s glukózou ako substrátom [118].

Jedným z faktorov najvýraznejšie ovplyvňujúcich glykolytickú aktivitu kvasiniek je kyslík. V jeho prítomnosti oproti anaeróbnym podmienkam je signifikantne znížená spotreba glukózy i tvorba etanolu [5, 113]. Tento jav, nazvaný podľa svojho objaviteľa [121] Pasteurov efekt [122], prejavuje sa najmä v nerastúcich bunkách, pričom za rastových podmienok sa takmer nedá pozorovať [123].

Mechanizmus Pasteurovho efektu bol predmetom intenzívneho výskumu viacerých pracovísk na bunkovej i subcelulárnej úrovni [113, 124—126]. Hlavnú úlohu v jeho mechanizme má interakcia glykolýzy a dýchania prostredníctvom adenínových nukleotidov, anorganického fosfátu, redukčných ekvivalentov, ako aj alosterická kontrola začiatočných stupňov glykolýzy, najmä fosfofruktokinázy rozličnými efektormi [113, 124—127].

Reakcie glykolýzy v cytozole a reakcie oxidatívnej fosforylácie v mitochondriách súťažia o spoločné reakčné intermediáty, ako sú P_i , ADP, resp. NADH a ich rýchlosť je limitovaná najmä nedostatkom ADP. Preto všetky reakcie, ktoré regenerujú ADP hydrolýzou ATP (transportné procesy, syntetické reakcie, rozličné ATPázy), stimulujú glykolytickú tvorbu CO_2 a etanolu z glukózy [128]. Preto odpojovače oxidatívnej fosforylácie aktivujúce membránové ATPázy eliminujú Pasteurov efekt [113, 129]. Kontrola glykolýzy adenínovými nukleotidmi sa najvýraznejšie prejavuje, ak pomer koncentrácie ATP/ADP je asi 15 alebo vyšší. Táto kontrola je menej účinná pri vyšších koncentráciách intracelulárneho fosfátu a súvisí s regulačnou funkciou extramitochondriálneho pomeru ATP/ADP. P_i [130, 131].

V mechanizme Pasteurovho efektu dôležitú úlohu zohráva i alosterická regulácia fosfofruktokinázy prostredníctvom AMP, ATP, fruktóza-6-fosfátu, P_i , NH_4^+ , resp. K^+ [113, 124, 127, 128] a najmä najaktívnejšieho regulátora glykolýzy fruktóza-2,6-difosfátu, ktorý nie je intermediátom glykolýzy [132]. Fosfofruktokináza je prototyp multimodulovaného enzýmu zloženého z katalytickej i regulačnej podjednotky [133] a pokladá sa za enzým limitujúci rýchlosť glykolýzy [124]. Kvasinky obsahujú dva izoenzýmy: rozpustnú fosfofruktokinázu I špecifikovanú génmi PFK 1 [115, 134] a PFK 2 [135], ako aj fosfofruktokinázu II viazanú na častice, špecifikovanú génmi PFK 2 a PFK 3 [133, 135]. Produkt génu PFK 2 je regulačnou subjednotkou fosfofruktokinázy I a je tvorený konštitutívne. Produkt génu PFK 3 potrebuje pre svoju expresiu glukózu, a preto sa v bunkách rastúcich na etanole táto subjednotka fosfofruktokinázy II netvorí [136].

Regulácia aktivity fosfofruktokinázy prebieha tak, že jeden z jej substrátov — ATP pôsobí ako negatívny alosterický efektor, ktorý indukuje značnú kooperativitu pre druhý substrát — fruktóza-6-fosfát. Tento pôsobí ako pozitívny efektor, ktorý uvoľňuje inhibíciu s ATP. Viaceré látky majú podobné alosterické efekty pôsobiace obvyčajne synergeticky s ATP alebo fruktóza-6-fosfátom. Citrát a protóny sú negatívne efekторы. Najdôležitejšími pozitívnymi efektorami sú fruktóza-1,6-difosfát — produkt reakcie, ďalej glukóza-1,6-difosfát, AMP, NH_4^+ a P_i [113, 125, 127]. Najaktívnejším pozitívnym efektorom je nedávno objavený fruktóza-2,6-difosfát [137], ktorý v koncentrácii nižšej ako 1 $\mu\text{mol/l}$ uvoľňuje inhibíciu s ATP a zvyšuje afinitu fosfofruktokinázy pre fruktóza-6-fosfát [138]. K tvorbe amóniových iónov aktivujúcich okrem fosfofruktokinázy i pyruvátkinázu môžu prispievať i reakcie AMP deaminázy [139], ktoré sa naviac zúčastňujú i na regulácii veľkosti adenylátového poolu, resp. energetického náboja bunky [140, 141].

Zvýšená aktivita fosfofruktokinázy ovplyvňuje i dva ďalšie kľúčové glykolytické enzýmy, a to hexokinázu a pyruvátkinázu. Znížením koncentrácie svojho substrátu fruktóza-6-fosfátu, resp. glukóza-6-fosfátu sa zvýši aktivita hexokinázy [142, 143] a na druhej strane, zvýšením koncentrácie svojho reakčného produktu, fruktóza-1,6-difosfátu aktivuje pyruvátkinázu [144, 145]. Pyruvátkináza je špecifikovaná génom PYK 1, ktorý bol nedávno aj klonovaný [146, 147]. Enzým je syntetizovaný konštitutívne. Jeho hladina po prenose buniek z nefermentabilných substrátov na glukózu vzrastá 6—20-násobne [148]. Aktivitu enzýmu modulujú viaceré efekторы. Pozitívnym alosterickým efektorom je spomínaný fruktóza-1,6-difosfát a negatívnymi efektorami sú ATP a citrát [144, 149].

Hexokinázy, fosfofruktokinázy a pyruvátkináza sú teda enzýmy, ktorých aktivita významne ovplyvňuje celkovú kapacitu glykolytickej dráhy kvasiniek. Túto kapacitu, ako vyplýva z prehľadu, môžu okrem genetického poza-

dia bunky podstatne ovplyvňovať i fyziologický stav buniek a faktory vonkajšieho prostredia.

2. Metabolizmus zásobných sacharidov kvasiniek

Dôležitou oblasťou v metabolizme kvasiniek sú energetické rezervy buniek a ich metabolizácia. Základnými rezervnými látkami kvasiniek sú neredukujúci disacharid trehalóza (α -D-glukopyranozyl-(1-1)- α -D-glukopyranozid) a polysacharid glykogén. Okrem rezervných sacharidov bunky kvasiniek obsahujú i štruktúrne polysacharidy (glukany a manany), resp. rozličné glykoproteíny. Celkový obsah sacharidov značne závisí od podmienok kultivácie a predstavuje približne 30 až 40 % sušiny pekárskeho droždia [5].

Údaje o obsahu rezervných sacharidov v bunkách kvasiniek sa veľmi líšia, ich hodnoty sa pohybujú v rozmedzí 0,5 až 15 % sušiny buniek pre trehalózu a od 5,5 do 12,1 % pre glykogén [150]. Iní autori uvádzajú oveľa väčší rozsah pre oba sacharidy — menej ako 1 % a viac ako 23 % sušiny buniek [151—155].

Variabilita v obsahu glykogénu i trehalózy buniek kvasiniek naznačujú, že tieto sacharidy majú významnú úlohu v priebehu životného cyklu buniek. Zistilo sa, že tieto sacharidy sú významné rezervy uhlíka a energie predovšetkým hladujúcich buniek, buniek v priebehu respiračnej adaptácie, sporulujúcich buniek a klíbiacich spór, vo vegetatívnych bunkách pri prechode zo stacionárnej fázy do čerstvého média, a pri pučiach bunkách za podmienok limitácie zdroja uhlíka a energie [155].

Rozdielny priebeh akumulácie a využitia glykogénu a trehalózy naznačujú, že tieto sacharidy majú rozdielnú úlohu v životnom cykle buniek. Predpokladá sa, že glykogén slúži ako zdroj energie pri respiračnej adaptácii, resp. hladovaní. Účasť trehalózy sa spája iba s procesom hladovania buniek [155] a nie je vylúčená ani jej participácia v osmoregulácii buniek [156]. Obsah zásobných sacharidov je v úzkej korelácii s trvanlivosťou droždia, odrážajúcej sa v aktivite i životaschopnosti jeho buniek počas skladovania [157—161].

Aby sa presnejšie definovala biologická úloha glykogénu a trehalózy u *S.cerevisiae*, ako aj regulačných mechanizmov umožňujúcich ich uplatnenie, podrobili sa kvasinky štúdiu za rozličných podmienok rastu, predovšetkým za neprítomnosti zdrojov dusíka, síry a fosforu pri súčasnom nadbytku glukózy. Zistilo sa, že vo všetkých prípadoch došlo k výraznejšej akumulácii rezervných sacharidov, čo viedlo k záveru, že táto akumulácia je všeobecnou reakciou na limitáciu vo výžive [53, 155].

Syntéza zásobných sacharidov v bunkách kvasiniek je proces závislý od fázy

bunkového cyklu, prítomnosti živín a stupňa aerácie v priebehu kultivácie [155]. K výraznejšiemu hromadeniu glykogénu dochádza v priebehu neskoršej exponenciálnej fázy rastu kultúry po poklese obsahu glukózy v médiu pod jednu polovicu pôvodného obsahu. Hladina glykogénu ostáva pomerne vysoká i počas ďalšej fázy rastu kultúry na etanole i po dosiahnutí stacionárnej fázy [155, 162].

Spôsob akumulácie trehalózy v bunkách kvasiniek v priebehu kultivácie je odlišný. Pri pučiacech bunkách dochádza k úplnej spotrebe trehalózy [163]. Trehalóza sa začína akumulovať až po zužitkovaní glukózy z média počas rastu na etanole a pokračuje v stacionárnej fáze rastu [155, 164].

Biosyntéza glykogénu v kvasinkách prebieha pravdepodobne obdobným mechanizmom ako v živočíšnych bunkách [5, 165]. Biosyntéza sa uskutočňuje na bielkovine — nosiči a zúčastňujú sa na nej tieto enzýmy: syntetáza iniciátora tvorby glykogénu, glykogénsyntetáza (UDP-glukóza: glykogénglykozyltransferáza, EC 2.4.1.11) a glukozyl vetviaca α -glukantransferáza (EC 2.4.1.18) [165, 166]. Zvýšenie obsahu glykogénu v kvasinkách počas rastu súvisí čiastočne s aktiváciou glykogénsyntetázy, pravdepodobne prostredníctvom kinázy bielkovín a čiastočne so zvýšením celkového obsahu glykogénsyntetázy v bunke [167]. Recesívne mutácie v regulačnom géne GLC 1 [168] môžu vyvolať defekt v aktivácii glykogén syntetázy (prechod D-formy na I-formu) a zapríčiniť deficienciu v glykogéne [154]. Takéto pleiotropné mutácie [168] okrem glykogénu ovplyvnia i metabolizmus trehalózy, najmä neschopnosť akumulovať trehalózu za nerastových podmienok alebo počas rastu na glukóze [164, 169]. Tento defekt mutantov v tvorbe trehalózy možno obísť rastom ich buniek na maltóze, ak súčasne obsahujú aj konštitutívnu alelu MAL 4 génu [164], čo poukazuje na existenciu dvoch odlišných systémov v biosyntéze trehalózy [169, 170].

Biosyntéza trehalózy v kvasinkách má určitý vzťah k metabolizmu maltózy a kmene, ktoré majú konštitutívnu alelu MAL génov, akumulujú viac trehalózy počas rastu na glukóze ako kmene majúce inducibilné MAL gény. Mutáciou konštitutívnej alely MAL génu na nefermentabilnú *mal* alelu sa tento fenotyp aktívnej akumulácie trehalózy stráca [171]. Môže sa uskutočniť dvoma nezávislými anabolickými dráhami. Systém I je katalyzovaný trehalóza-6-fosfát-syntetázou (UDP-glukóza-6-fosfátglukozyltransferáza, EC 2.4.1.15), ktorá je pravdepodobne génovým produktom lokusu SST 1 [170]. Systém II je špecifický pre maltózu, prebieha v bunkách iba počas rastu na maltóze a nevyžaduje produkt defektného SST 1 génu. Za nerastových podmienok trehalóza z glukózy týmto systémom nevzniká [164, 170].

K degradácii rezervných sacharidov dochádza zvyčajne po vyčerpaní vonkajších zdrojov uhlíka. Na odbúrání glykogénu sa zúčastňuje enzým α -1,4-glukan: ortofosfátglukozyltransferáza, EC 2.4.1.1 [5]. Produktom rozkladu glyko-

génu je glukóza-1-fosfát, ktorý sa môže ďalej degradovať glykolýzou [5]. Trehalóza sa hydrolyzuje trehalázou (EC 3.2.1.28) na glukózu [5]. Je pozoruhodné, že kým trehalóza je lokalizovaná v cytozole, enzým trehaláza sa nachádza vo vakuole [156]. Kryptická forma trehalázy sa môžu zmeniť na vysokoaktívnu za účasti ATP a cAMP pravdepodobne proteínkinázou [172].

3. Tvorba oxidu uhličitého v ceste

Jedným z najvýznamnejších kvalitatívnych znakov pekárskoho droždia je jeho kvasná aktivita v ceste, ktorá sa prejaví množstvom CO_2 uvoľneného pri skvasovaní sacharidov múky, resp. cukrov exogénne pridaných do cesta. Úplným skvasením jedného mólu glukózy teoreticky vznikajú dva móly etanolu, 2 móly CO_2 za sprievodnej premeny 2 mólov ADP a anorganického fosfátu na 2 móly ATP. Pri tejto stechiometrii z 1 g skvasenej glukózy môže za štandardných podmienok vzniknúť 0,49 g CO_2 , t. j. 270 ml plynu [4]. V skutočnosti však bunky neodbúrajú pridanú glukózu úplne na CO_2 a etanol, ale využijú ju samu alebo niektoré jej katabolické produkty na syntézu zásobných sacharidov, resp. iných zložiek bunkových štruktúr [4, 5].

Rýchlosť, ktorou kvasinky produkujú CO_2 , závisí okrem biochemických vlastností ich buniek, o ktorých sa podrobnejšie diskutovalo v predchádzajúcich častiach teoretického úvodu, aj od fyzikálnych a chemických vlastností ich okolitého prostredia v ceste, najmä od koncentrácie a dostupnosti jednotlivých cukrov, kyslíka, pH, teploty, osmotického tlaku, inhibičných a aktivačných faktorov prostredia.

Cesto obsahuje komplexnú zmes substrátov využiteľných kvasinkami. V priebehu kvasných procesov v ceste sa charakteristicky mení koncentrácia jeho sacharidových frakcií, ktoré sú popri škrobe zastúpené najmä glukózou, fruktózou, sacharózou, maltózou a glukofruktózanmi [7, 8, 173—177]. Podľa prác viacerých autorov [173—177] dochádza najprv k úbytku sacharózy, ktorá sa rýchlo štiepi na glukózu a fruktózu. Z voľných hexóz prítomných v múke alebo vytvorených hydrolýzou sacharózy, resp. glukofruktózanov (levozínu) invertázou [7, 178, 179] sa glukóza spotrebúva relatívne rýchlejšie ako fruktóza, najmä na začiatku kvasenia. Počas skvasovania hexóz obsah maltózy účinkom amylázy vzrastá a jej intenzívnejší metabolizmus v bunkách sa pozoruje až po relatívnom poklese koncentrácie voľných hexóz. Porovnanie kinetiky tvorby CO_2 v normálnom ceste a v ceste pripravenom z autoklávovanej múky, kde enzýmový systém múky je inaktivovaný, ukázalo, že významný rozdiel v produkcii CO_2 sa dá pozorovať už po 25 min kysnutia cesta, čo pravdepodobne

súvisí s nedostatkom skvasiteľných cukrov (maltózy) pre činnosť kvasiniek v ceste [4]. O tom, že v ktorej fáze kysnutia cesta sa bude maltóza utilizovať kvasinkami, závisí aj od metabolickej aktivity použitých buniek, najmä či ich enzýmový systém katabolizmu maltózy je inducibilný, konštitutívny, citlivý alebo rezistentný proti katabolickej represii, resp. inaktivácii. Žiaľ, takáto korelácia medzi metabolickými vlastnosťami kvasiniek a zmenami koncentrácie sacharidov cesta v priebehu kysnutia nebola zatiaľ predmetom štúdia.

Vodná fáza cesta okrem rozpustných cukrov, anorganických solí, vitamínov a aminokyselín obsahuje neskôr i etanol a CO_2 tvorený kvasením. Rozpustnosť CO_2 vo vode pri teplote 25°C a tlaku 100 kPa je 0,144 g v 100 g vody. Pri normálnych hodnotách pH cesta (pH 5—6) iba zanedbateľná časť CO_2 sa viaže formou uhličitanov [4, 180]. Zohrievaním cesta pri pečení sa schopnosť vodnej fázy zachytávať CO_2 znižuje a plyn sa z nej uvoľňuje formou bubliniek [180]. Skutočný objem plynu závisí i od vonkajšieho (barometrického) tlaku a v porovnaní so štandardnými podmienkami kolíše v rozmedzí $\pm 10\%$ [4].

Rýchlosť skvasovania cukrov a tvorby CO_2 kvasinkami vzrastá s teplotou a v rozsahu teplôt 20 až 50°C dosahuje faktor 1,6 až 2,8 na teplotný gradient 10°C [8]. Kritickou teplotou je 54°C [181], pri ktorej dochádza k termálnej inaktivácii väčšiny enzýmov bunky. Takúto teplotu počas 15 min pri pH 7 prežije iba 5 % buniek kvasničnej populácie [182]. Pre aktivitu pekárského droždia je pH cesta v rozmedzí hodnôt 4 až 6 optimálne [183].

Oveľa citlivejšie sú však kvasinky na osmotický tlak v ceste vytváraný cukrami a iónmi solí. Vnútorň tlak kvasiniek podľa stability ich protoplastov v roztoku neelektrolytov je ekvivalentný osmotickému tlaku približne 0,8 M manitolu [184]. Zodpovedá to napr. koncentrácii NaCl 2,3 g/100 g, glukózy 14 g/100 g, alebo sacharózy 27 g/100 g roztoku. So vzrastajúcim osmotickým tlakom prostredia glykolytická i celková metabolická aktivita buniek klesá [185, 186], pričom sa súčasne zvyšuje i intracelulárna koncentrácia toxického etanolu [187]. Preto osmotolerancia kvasiniek môže byť dôležitým predpokladom dobrého kysnutia najmä sladkého a masného cesta [2—4, 188—190]. V sladkých cestách s vysokým obsahom sacharózy (35—50 g/100 ml vody v ceste) je totiž osmolarita vonkajšieho prostredia 2—3-krát vyššia ako osmotický tlak v bunkách kvasiniek a zvyšuje sa z tejto hodnoty takmer dvojnásobne vzhľadom na viac ako 100-krát vyššiu rýchlosť hydrolýzy sacharózy kvasinkami v porovnaní s rýchlosťou utilizácie vytvorených hexóz [191]. Napriek tomu však i neosmotolerantné hybridy pekárskych, pivovarských alebo liehovarských kvasiniek mali relatívne dobrú kvasnú schopnosť dokonca i v cestách, kde osmotický tlak bol vysoký [192].

Pri kvasení cesta popri CO_2 vzniká i etanol. Je známe, že koncentrácia etanolu v bunkách pri kvasení je vyššia ako v okolí buniek [193]. Jeho vzrastajúca koncentrácia pôsobí však inhibične na rast i na samo kvasenie a života-

schopnosť [187, 194]. Za predpokladu, že počas kysnutia cesta sa skvasí asi 3,2 až 5,5 % sacharidov múky, potom obsah alkoholu vo vode môže dosiahnuť hodnoty 2,8—4,8 g/100 ml. Etanol v tejto koncentrácii je už pre kvasinky inhibičný a môže byť príčinou poklesu kvasnej aktivity v posledných fázach kysnutia cesta [4].

Dobrá fermentačná aktivita kvasiniek závisí aj od obsahu ich vitamínov, najmä tiamínu [180, 195]. Pri časove dlhších kvaseniach cesta sa dá signifikantne stimulovať minerálnymi soľami, najmä amónnymi [180, 196, 197].

4. Kritériá užítkovej hodnoty pekárskych kvasiniek

Pekárske kvasinky musia kompromisne spĺňať náročné požiadavky výrobcu i používateľa. Z hľadiska výrobcu optimálne pekárske kvasinky by mali mať maximálnu výťažnosť enzymaticky aktívnej biomasy na jednotku substrátu a mali by mať čo najkratšiu generačnú dobu. Z hľadiska užívateľa pekárske kvasinky by mali mať maximálnu kvasnú schopnosť v ceste, mali by mať maximálnu trvanlivosť a mali by byť dostatočne rezistentné proti osmotickému tlaku solí a cukrov, resp. proti teplote [2—4].

Optimum kvasnej schopnosti v ceste podmieňujú tieto vlastnosti kvasiniek [3]:

1. rýchly transport cukrov do bunky a jej schopnosť rýchlej adaptácie na meniace sa substráty,
2. vysoký stupeň glykolytickej aktivity,
3. vysoká aktivita invertázy alebo iných enzýmov schopných čo najrýchlejšie hydrolyzovať vyššie glukofruktózy,
4. vysoká schopnosť kvasenia maltózy,
5. schopnosť rásť a syntetizovať enzýmy, resp. koenzýmy za anaeróbnych podmienok.

Trvanlivosť kvasiniek závisí od kmeňa, a je teda geneticky podmienená. Je v úzkej korelácii s obsahom zásobných sacharidov glykogénu a trehalózy [157—161], ktorý výrazne ovplyvňuje vedenie fermentačného procesu a fyziologický stav buniek [155]. Trvanlivosť závisí aj od obsahu vody v droždí a podmienok jeho skladovania, najmä teploty [2—4].

Požiadavky na dobré pekárske kvasinky sú takto značne rozsiahle a determinované nie jedným, ale celou škálou génov. Táto skutočnosť komplikuje celý šľachtiteľský program u pekárskych kvasiniek [3, 198], ktorého obťažnosť zhodnotil Harrison už roku 1971 slovami: „Šľachtenie priemyselných kvasiniek je vskutku empirické v tom zmysle, že nemožno nikdy predpovedať

jeho výsledok. Nezdar je väčšinou bežnejší než úspech a veľmi veľký počet hybridov treba otestovať predtým, než sa vyberie ten najlepší, a ani ten nemusí byť skutočne lepší než rodičia“ [199]. Toto zdanlivo pesimistické, ale realistické stanovisko výstižne dokumentuje dlhý a prácný proces šľachtenia, ktorý nedávno opísal Burrows [3]. Napriek tomu teoretické a metodologické pokroky súčasnej genetiky spolu s biochemickými poznatkami o regulácii metabolickej aktivity kvasiniek nám dnes dovoľujú predsa len trochu optimistickejší pohľad na racionálne zlepšovanie vlastností pekárskych kvasiniek, kde popri metódach klasického mutačného a rekombinačného šľachtenia sa dajú využiť i také postupy ako sú fúzia protoplastov, medzidruhová hybridizácia a transformácia buniek kvasiniek s in vitro rekombinovanou DNA.

Literatúra

1. DEMAINE, A. L. — SOLOMON, N. A.: *Sci. Amer.*, 245, 1981, s. 67.
2. BURROWS, S.: In: *The Yeast*. Vol. 3. Eds. A. H. Rose, J. S. Harrison. London, Academic Press 1970, s. 349.
3. BURROWS, S.: In: *Economic Microbiology*. Vol. 4. Ed. A. H. Rose, London, Academic Press 1979, s. 31.
4. OURA, E. — SOUMALAINEN, H. — VISKARI, R.: In: *Economic Microbiology*, Vol. 7. Ed. A. H. Rose. Oxford, Academic Press 1982, s. 87.
5. KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: *Kvasinky a kvasinkovité mikroorganizmy*. Bratislava, Alfa — Praha, SNTL 1982.
6. HAMPL, J. — HOLÝ, Č. — HAVEL, F. — KADLEC, F. — PŘÍHODOVÁ, J.: *Jakost pekárenských a cukrárenských výrobků*. Praha, SNTL 1981.
7. SAUNDERS, R. M. — NG, H. — KLINE, L.: *Cereal Chem.*, 49, 1972, s. 86.
8. REED, G. — PEPPLER, H. J.: *Yeast Technology*, Westport, Connecticut, The AVI Publ. Co. Inc. 1973.
9. BARNETT, J. A.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 32, 1976, s. 126.
10. EDDY, A. A.: *Adv. Microbiol. Physiol.*, 23, 1982, s. 1.
11. KOTYK, A.: *Folia microbiol.*, 12, 1967, s. 121.
12. CIRILLO, V. P.: *J. Bacteriol.*, 95, 1968, s. 1727.
13. GORTS, C. P. M.: *Biochim. biophys. Acta*, 184, 1969, s. 299.
14. STEWART, G. G. — GORING, T. E. — RUSSELL, I.: *J. Amer. Soc. Brew. Chem.*, 35, 1977, s. 168.
15. OKADA, H. — HALVORSON, H. O.: *J. Bacteriol.*, 86, 1963, s. 966.
16. OKADA, H. — HALVORSON, H. O.: *Biochim. biophys. Acta*, 82, 1964, s. 547.
17. ALONSO, A. — KOTYK, A.: *Folia microbiol.*, 23, 1978, s. 118.
18. KOTYK, A. — MICHALJANIČOVÁ, D.: *J. gen. Microbiol.*, 110, 1979, s. 323.
19. CIRILLO, V. P.: *J. Bacteriol.*, 95, 1968, s. 603.
20. FUHRMAN, G. F.: *Kemia-Kemi*, 4, 1977, s. 616.
21. STEEVENINCK, J., van — ROTHSTEIN, A.: *J. gen. Physiol.*, 49, 1965, s. 235.
22. SERRANO, R. — Dela FUENTE, G.: *Mol. cell. Biochem.*, 5, 1974, s. 161.

23. WILKINS, P. O.: *J. Bacteriol.*, *93*, 1967, s. 1565.
24. EHWALD, R. — MAURINA, L.: *Folia microbiol.*, *26*, 1981, s. 95.
25. FRANZUSOFF, A. J. — CIRILLO, V. P.: *J. Biol. Chem.*, *258*, 1983, s. 3608.
26. LAGUNAS, R. — DOMINGUEZ, C. — BUSTURIA, A. — SÁEZ, M. J.: *J. Bacteriol.*, *152*, 1982, s. 19.
27. ROYT, P. W.: *Biochim. biophys. Acta*, *687*, 1982, s. 226.
28. ROYT, P. W. — MAC QUILLAN, A. M.: *Biochim. biophys. Acta*, *426*, 1976, s. 302.
29. SIRO, M. R. — VIITANEN, K. — LÖVGREN, T.: *Acta chem. scand.*, *B35*, 1981, s. 29.
30. SERRANO, R.: *Eur. J. Biochem.*, *80*, 1977, s. 97.
31. BARNETT, J. A. — SIMS, A. P.: *J. gen. Microbiol.*, *128*, 1982, s. 2303.
32. SEASTON, A. — INKSON, C. — EDDY, A. A.: *Biochem. J.*, *134*, 1973, s. 1301.
33. LEAO, C. — Van UDEN, N.: *Biotechnology*, *24*, 1982, s. 100.
34. LOUREIRO-DIAS, M. C. — PEINADO, J. M.: *Biotechnol. Lett.*, *4*, 1982, s. 721.
35. STEWART, G. G.: *Can. J. Microbiol.*, *27*, 1981, s. 973.
36. ENTIAN, K. D.: *Mol. gen. Genet.*, *179*, 1980, s. 169.
37. SIRO, M. R. — LÖVGREN, T.: *Eur. J. appl. Microbiol. Biotechnol.*, *7*, 1979, s. 59.
38. MYRBÄCK, K.: In: *The Enzymes. Part A. Invertases*. Eds. J. B. Sumner, K. Myrbäck. New York, Academic Press 1960, s. 379.
39. REED, G. — UNDERKOFER, L. A.: *Enzymes in Food Processing*. New York—London, Academic Press 1966, s. 102.
40. NEUMANN, N. P. — LAMPEN, J. O.: *Biochemistry*, *6*, 1967, s. 468.
41. SUTTON, P. D. — LAMPEN, J. O.: *Biochim. biophys. Acta*, *56*, 1962, s. 303.
42. BABCZINSKI, P.: *Biochim. biophys. Acta*, *614*, 1980, s. 121.
43. GASCON, S. — LAMPEN, J. O.: *J. Biol. Chem.*, *243*, 1968, s. 1567.
44. BETETA, P. — GASCON, S.: *FEBS Lett.*, *13*, 1971, s. 297.
45. NEUMANN, N. P. — LAMPEN, J. O.: *Biochemistry*, *8*, 1969, s. 3552.
46. TRIMBLE, R. B. — MALEY, F.: *J. Biol. Chem.*, *252*, 1977, s. 4409.
47. FREVERT, J. — BALLOU, C. E.: *Proc. Natl Acad. Sci. US*, *79*, 1982, s. 6147.
48. HACKEL, R. A. — KHAN, N. A.: *Mol. gen. Genet.*, *164*, 1978, s. 295.
49. MIZUNAGA, T. — TKACZ, J. S. — RODRIGUEZ, L. — HACKEL, R. A. — LAMPEN, J. O.: *Mol. cell. Biol.*, *1*, 1981, s. 460.
50. MORTIMER, R. K. — HAWTHORNE, D. C.: *Yeast Genetics*. In: *The Yeast*. Vol. 1. Eds. A. H. Rose, J. S. Harrison. New York, Academic Press 1969, s. 385.
51. SPENCER, J. F. T. — SPENCER, D. M. — MILLER, R.: *Curr. Genet.*, *7*, 1983, s. 47.
52. GILLAND, R. B.: *C. R. Trav. Lab. Carlsberg, Ser. Physiol.*, *24*, 1949, s. 347.
53. CARLSON, M. — OSMOND, B. C. — BOTSTEIN, D.: *Genetics*, *98*, 1981, p. 41.
54. CARLSON, M. — OSMOND, B. C. — BOTSTEIN, D.: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, *45*, 1980, s. 799.
55. CARLSON, M. — BOTSTEIN, D.: *Cell*, *28*, 1982, s. 145.
56. GROSSMANN, M. K. — ZIMMERMANN, F. K.: *Molec. gen. Genet.*, *175*, 1979, s. 223.
57. RODRIGUEZ, L. — LAMPEN, J. O. — MacKAY, V. L.: *Mol. cell. Biol.*, *1*, 1981, s. 469.
58. PERLMAN, D. — HALVORSON, H. O.: *Cell*, *25*, 1981, s. 525.
59. PERLMAN, D. — HALVORSON, H. O. — CANNON, L. E.: *Proc. Natl Acad. Sci. US*, *79*, 1982, s. 781.

60. TRIMBLE, R. B. — MALEY, F. — CHU, K. F.: *J. Biol. Chem.*, 258, 1983, s. 2562.
61. CARLSON, M. — BOTSTEIN, D.: *Mol. cell. Biol.* 3, 1983, s. 351.
62. CARLSON, M. — TAUSSIG, R. — KUSTU, S. — BOTSTEIN, D.: *Mol. cell. Biol.*, 3, 1983, s. 439.
63. TODA, K. — YABE, I. — YAMAGATA, T.: *Eur. J. appl. Microbiol. Biotechnol.*, 16, 1982, s. 17.
64. MORMENEO, S. — SENTANDREU, R.: *J. Bacteriol.*, 152, 1982, s. 14.
65. DAVIES, R.: *Biochem. J.*, 55, 1953, s. 484.
66. GASCON, S. — OTTELENGHI, P.: *C. R. Trav. Lab. Carlsberg*, 39, 1972, s. 15.
67. ZIMMERMANN, F. K. — KAUFMANN, I. — RASEMBERGER, H. — HAUSSMAN, P.: *Mol. gen. Genet.*, 151, 1977, s. 95.
68. ZIMMERMANN, F. K. — SCHEEL, I.: *Mol. gen. Genet.*, 154, 1977, s. 75.
69. ENTIAN, K. D. — ZIMMERMANN, F. K.: *J. Bacteriol.*, 151, 1982, s. 1123.
70. ENTIAN, K. D.: *Mol. gen. Genet.*, 178, 1980, s. 633.
71. ENTIAN, K. D.: *Mol. gen. Genet.*, 184, 1981, s. 278.
72. ENTIAN, K. D. — MECKE, D.: *J. Biol. Chem.*, 257, 1982, s. 870.
73. MICHELS, C. A. — HAHNENBERGER, K. M. — SYLVESTRE, Y.: *J. Bacteriol.*, 153, 1983, s. 574.
74. ELORZA, M. V. — VILLANUEVA, J. R. — SANTANDREU, R.: *Biochim. biophys. Acta*, 475, 1977, s. 103.
75. CHU, F. K. — MALEY, F.: *J. Biol. Chem.*, 255, 1980, s. 6392.
76. FOGARTY, W. M. — KELLY, C. T.: In: *Progress in Industrial Microbiology*. Vol. 15. Ed. M. J. Bull. Amsterdam—Oxford—New York, Elsevier 1979, s. 87.
77. NISIZAWA, K. — HASHIMOTO, K.: In: *Carbohydrates*. Vol. 11A. Eds. W. Pigman, D. Horton, New York, Academic Press 1970, s. 242.
78. GOTTSCHALK, A.: In: *The Enzymes. Chemistry and Mechanism of Action*. Vol. 1. Eds. J. B. Dummer, K. Myrbäck. New York, Academic Press 1950, s. 551.
79. PHILLIPS, A. W.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 80, 1959, s. 346.
80. LEGLER, G. — LOTZ, W.: *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.*, 354, 1973, s. 243.
81. NEEDLEMAN, R. B. — FEDEROFF, H. J. — ECCLESHALL, T. R. — BUCHFERER, B. — MARMUR, J.: *Biochemistry*, 17, 1978, s. 4657.
82. KUAN, N. A. — EATON, N. R.: *Biochim. biophys. Acta*, 146, 1967, s. 173.
83. TRUSCHKEIT, E. — FROMMER, W. — JUNGE, B. — MÜLLER, L. — SCHMIDT, D. D. — WINGENDER, W.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 20, 1981, s. 744.
84. NEEDLEMAN, R. B. — MICHELS, C.: *Mol. cell. Biol.*, 3, 1983, s. 796.
85. ten BERGE, A. M. A. — ZOUTEWELLE, G. — van de POLL, K. W.: *Mol. gen. Genet.*, 123, 1973, s. 233.
86. ZIMMERMAN, F. K. — EATON, N. R.: *Mol. gen. Genet.*, 134, 1974, s. 272.
87. KHAN, N. A. — ZIMMERMAN, F. K. — EATON, N. R.: *Mol. gen. Genet.*, 124, 1973, s. 365.
88. KHAN, N. A.: *Mol. gen. Genet.*, 172, 1979, s. 281.
89. BERGE, A. M. A. — ZOUTEWELLE, G. — van de POLL, K. W. — BLOEMERS, H. P. J.: *Mol. gen. Genet.*, 125, 1973, s. 139.
90. OSHIMA, Y.: *J. Ferm. Technol. (Japan)*, 45, 1967, s. 550.
91. NAUMOV, G. I.: *Genetika*, 6, 1970, s. 121.
92. NAUMOV, G. I.: *Genetika*, 12, 1976, s. 87.
93. FEDEROFF, H. — COHEN, J. D. — ECCLESHALL, T. R. — NEEDLEMAN, R. B. — BUCHFERER, B. A. — GIACALONE, J. — MARMUR, J.: *J. Bacteriol.*, 149, 1982, s. 1064.

94. MOWSHOWITZ, D. B.: *J. Bacteriol.*, **137**, 1979, s. 1200.
95. RUDERT, F. — HALVORSON, H. O.: *Bul. Res. Coun. Isv.*, **1144**, 1962, s. 337.
96. MOWSHOWITZ, D. N.: *Genetics*, **98**, 1981, s. 713.
97. van WIJK, R., — OUWEHAND, J. — van de BOS, T. — KONIGSBERGER, V. V.: *Biochim. biophys. Acta*, **186**, 1969, s. 178.
98. BURGER, M. — OURA, E. — SUOMALAINEN, H.: *Suomen Kemistilehti*, **B38**, 1965, s. 285.
99. EVANS, I. H. — WILKIE, D.: *Genet. Res. Camb.*, **27**, 1976, s. 89.
100. MAHLER, A. R. — WILKIE, D.: *Plasmid*, **1**, 1978, s. 125.
101. MICHELS, C. A. — ROMANOWSKI, A.: *J. Bacteriol.*, **143**, 1980, s. 674.
102. ENTIAN, K. D. — ZIMMERMAN, F. K. — SCHEEL, I.: *Mol. gen. Genet.*, **156**, 1977, s. 99.
103. MONTENECOURT, B. S. — KUO, S. C. — LAMPEN, J. O.: *J. Bacteriol.*, **114**, 1973, s. 233.
104. SCHAMHART, D. H. J. — ten BERGE, A. M. A. — van de POLL, K. W.: *J. Bacteriol.*, **121**, 1975, s. 747.
105. HOCKNEY, R. C. — FREEMAN, R. F.: *J. gen. Microbiol.*, **121**, 1980, s. 479.
106. KARLSON, P.: *Základy biochemie*. Praha, Academia 1981.
107. FRAENKEL, D. G. — VINOPAL, R. T.: *A. Rev. Microbiol.*, **27**, 1973, s. 69.
108. KATZ, J. — RONGSTAD, R.: In: *Topics in Cellular Regulation*. Vol. 10. Eds. B. L. Horecker, E. Stadtman. New York, Academic Press 1976, s. 237.
109. MAITRA, P. K. — LOBO, Z.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **185**, 1978, s. 535.
110. FOY, J. J. — BHATTACHARJEE, J. K.: *Arch. Microbiol.*, **129**, 1981, s. 216.
111. HOLZER, H.: *Trends in Biochem. Sci.*, **1**, 1976, s. 178.
112. BECKER, J. V. — BETZ, A.: *Biochim. biophys. Acta*, **274**, 1972, s. 584.
113. RACKER, E.: *Mechanisms in Bioenergetics*. New York—London, Academic Press 1965.
114. FRAENKEL, D. G.: In: *The Molecular Biology of the Yeast Saccharomyces*. Eds. J. N. Strathern, E. W. Jones, J. R. Broach. New York, Cold Spring Harbor Laboratory 1982.
115. CLIFTON, D. — WEINSTOCK, S. B. — FRAENKEL, D. G.: *Genetics*, **88**, 1978 s. 1.
116. CLIFTON, D. — FRAENKEL, D. G.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 1981, s. 13074.
117. TAGAKI, A. — HARASHIMA, S. — OSHIMA, Y.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**, 1983, s. 1034.
118. ENTIAN, K. D. — ZIMMERMAN, F. K.: *Mol. gen. Genet.*, **177**, 1980, s. 345.
119. MAITRA, P. K.: *J. Biol. Chem.*, **245**, 1970, s. 2433.
120. LOBO, Z. — MAITRA, P. K.: *Genetics*, **86**, 1977, s. 726.
121. PASTEUR, L.: *Compt. Rend. Acad. Sci.*, **52**, 1861, s. 1260.
122. WARBURG, O.: *Biochem. Z.*, **172**, 1926, s. 432.
123. LAGUNA, S. R.: *Mol. cell. Biochem.*, **27**, 1979, s. 139.
124. RAMAIAH, A.: *Current Top. ell. Regul.*, **8**, 1974, s. 297.
125. SOLS, A.: In: *Reflexions on Biochemistry*, Eds. A. Kornberg, L. Horecker. New York, Academic Press 1976, s. 199.
126. KREBS, S. H.: *Essays Biochem.*, **8**, 1972, s. 1.
127. SOLS, A. — CASTANO, J. G. — ARAGON, J. J. — DOMENECU, C. — LAZO, P. A. — NIETO, A.: In: *Metabolic Interconversion of Enzymes*. Ed. H. Holzer. Berlin, New York—Heidelberg, Springer—Verlag 1981, s. 111.
128. RACKER, E. — SPECTOR, M.: *Science*, **213**, 1983, s. 303.

129. ŠUBÍK, J. — KOLAROV, J. — KOVÁČ, L.: Biochem. biophys. Res. Commun., *49*, 1972, s. 192.
130. WU, J. F. — DAVIS, E. J.: Arch. Biochem. Biophys., *208*, 1981, s. 85.
131. JONG, Y. S. — DAVIS, E. J.: Arch. Biochem. Biophys., *222*, 1983, s. 179.
132. HERS, H. G. — van SCHAFTINGEN, E.: Biochem. J., *206*, 1982, s. 1.
133. LOBO, Z. — MAITRA, P. K.: FEBS Lett., *139*, 1982, s. 93.
134. CIRIACY, M. — BRETTENBACH, I.: J. Bacteriol., *139*, 1979, s. 152.
135. LOBO, Z. — MAITRA, P. K.: FEBS Lett., *137*, 1982, s. 279.
136. NADKARNI, M. — LOBO, Z. — MAITRA, P. K.: FEBS Lett., *147*, 1982, s. 251.
137. van SCHAFTINGEN, E., — HERS, H. G.: Biochem. biophys. Res. Commun., *96*, 1980, s. 1529.
138. van SCHAFTINGEN, E., — HERS, H. G.: Eur. J. Biochem., *117*, 1981, s. 319.
139. YOSHINO, M. — MURAKAMI, K.: J. Biol. Chem., *257*, 1982, s. 2822.
140. YOSHINO, M. — MURAKAMI, K.: Biochim. biophys. Acta, *672*, 1981, s. 16.
141. YOSHINO, M. — MURAKAMI, K.: Biochem. biophys. Res. Commun., *112*, 1983, s. 96.
142. KOSOW, B. P. — ROSE, I. A.: J. Biol. Chem., *246*, 1971, s. 2618.
143. WOMACK, F. C. — COLOWICK, S. P.: Proc. Natl Acad. Sci. US, *76*, 1979, s. 5080.
144. HÜNSLEY, J. R. — SUELTER, C. H.: J. Biol. Chem., *244*, 1969, s. 4815.
145. EIGENBRODT, E. — GLOSSMANN, H.: Trend in Physiol. Sci., 1980, s. 240.
146. BURKE, R. L. — TEKAMP-OLSON, P. — NAJARAN, R.: J. Biol. Chem., *258*, 1983, s. 2193.
147. KAWASAKI, G. — FRAENKEL, D. G.: Biochem. biophys. Res. Commun., *108*, 1982, s. 1107.
148. HOMMES, F. A.: Arch. Biochem. Biophys., *114*, 1966, s. 231.
149. MAITRA, P. K. — LOBO, Z.: J. Biol. Chem., *246*, 1971, s. 489.
150. SUOMALAINEN, H. — PFÄFFLI, S.: J. Inst. Brew., *67*, 1961, s. 249.
151. GUNJA-SMITH, Z. — PATIL, N. B. — SMITH, E. E.: J. Bacteriol., *130*, 1977, s. 818.
152. PANEK, A. D. — MATTOON, J. R.: Arch. Biochem. Biophys., *183*, 1977, s. 306.
153. KUENZI, M. T. — FIECHTER, A.: Arch. Mikrobiol., *84*, 1972, s. 254.
154. ROTHMAN-DENES, L. B. — CABIB, E.: Proc. Natl Acad. Sci. US, *66*, 1970, s. 967.
155. LILLIE, S. H. — PRINGLE, J. R.: J. Bacteriol., *143*, 1980, s. 1384.
156. KELLER, F. — SCHELLENBERG, M. — WIEMKEN, A.: Arch. Microbiol., *131*, 1982, s. 298.
157. CABIB, E. — ROTHMAN-DENES, L. B. — HUANG, K. P.: Ann. N. Y. Acad. Sci., *210*, 1973, s. 192.
158. GRBA, S. — OURA, E. — SUOMALAINEN, H.: Eur. J. appl. Microbiol., *2*, 1975, s. 29.
159. GRBA, S. — OURA, E. — SUOMALAINEN, H.: Finn. Chem. Lett., *6*, 1979, s. 61.
160. BOČAROVA, N. I. — ČERNÝŠ, V. G.: Mikrobiologija, *48*, 1979, s. 153.
161. PÁCA, J.: J. Inst. Brew., *87*, 1981, s. 147.
162. BECKER, J. U.: Arch. Microbiol., *123*, 1979, s. 143.
163. POLLOCK, G. E. — HOLMSTROM, C. D.: Cereal Chem., *28*, 1951, s. 498.
164. PANEK, A. D. — SAMPAIO, A. L. — BRAZ, B. C. — BAKER, S. J. — MATTOON, J. R.: Cell. mol. Biol., *25*, 1979, s. 345.
165. KRISMAN, C. R. — BARENGO, O. R.: Eur. J. Biochem., *52*, 1975, s. 117.
166. ZEMEK, J. — KUČÁR, Š. — BAUER, Š.: Eur. J. Biochem., *40*, 1973, s. 195.

167. ROTHMAN-DENES, L. B. — CABIB, E.: *Biochemistry*, 10, 1971, s. 1236.
168. CHVOJKA, A. — BARLAS, M. — RUIS, H. — PADRAO, G. R. C. B. — PANEK, A. D. — MATTOON, J. R.: *Curr. Genet.*, 4, 1981, s. 47.
169. PADRAO, G. R. B. — MALAMUD, D. R. — PANEK, A. D. — MATTOON, J. R.: *Mol. gen. Genet.*, 185, 1982, s. 255.
170. OPERTI, M. S. — OLIVEIRA, D. E. — FREITAS-VALLE, A. B. — DESTRECHER, E. G. — MATTOON, J. R. — PANEK, A. D.: *Curr. Genet.*, 5, 1982, s. 69.
171. OLIVEIRA, D. E. — RODRIGUES, E. G. C. — MATTOON, J. R. — PANEK, A. D.: *Curr. Genet.*, 3, 1981, s. 235.
172. van SOLINGEN, P., — van der PLAAT, P.: *Biochem. biophys. Res. Commun.*, 62, 1975, s. 553.
173. KOCH, R. H. — SMITH, F. — GEDDES, W. F.: *Cereal Chem.*, 31, 1954, s. 55.
174. MAC KENZIE, R. M.: *Soc. Chem. Ind. Monograph*, 3, 1958, s. 127.
175. BILTCLIFFE, D. O.: *J. Food Technol.*, 7, 1972, s. 63.
176. SUOMALAINEN, H. — NYKÄNEN, L.: *J. Inst. Brew.*, 72, 1972, s. 469.
177. CAVOLA, P. — SALOVAARA, H. — ENQVIST, J.: *Mlýnsko-pekárenský Prům.*, 1, 1983, s. 24.
178. TANAKA, Y. — SATO, T.: *J. Ferm. Technol.*, 47, 1969, s. 587.
179. MEDCALF, D. F. — CHEUNG, P. W.: *Cereal Chem.*, 48, 1971, s. 1.
180. MATZ, S. A.: *Bakery Technology and Engineering*. 2nd ed. Westport, Connecticut, The AVI Publ. Co. Inc. 1972.
181. WOOD, T. H.: *Adv. Biol. Med. Phys.*, 4, 1950, s. 119.
182. CERNY, G.: *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 170, 1980, s. 173.
183. COOPER, E. J. — REED, G.: *Bakers' Digest*, 42, 1968, č. 6, s. 29.
184. KOVÁČ, L. — GBELSKÁ, Y. — POLIACHOVÁ, V. — ŠUBÍK, J. — KOVÁČOVÁ, V.: *Eur. J. Biochem.*, 111, 1980, s. 491.
185. PANCHAL, C. J. — STEWART, G. G.: *J. Inst. Brew.*, 86, 1980, s. 207.
186. PANCHAL, C. J. — PEACOCK, L. — STEWART, G. G.: *Biotech. Lett.*, 4, 1982, s. 639.
187. STEWART, G. G.: *Can. J. Microbiol.*, 27, 1981, s. 973.
188. FLUCKINGER, R.: *Getreide, Mehl Brot*, 28, 1974, s. 230.
189. KOPPENSTEINER, G. — WINDISCH, S. S.: *Arch. Microbiol.*, 83, 1972, s. 193.
190. WINDISH, S. — STECKOWSKI, U.: *Branntweinwirtschaft*, 111, 1971, s. 197.
191. DEMIS, D. J. — ROTHSTEIN, A. — MEIER, R.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 48, 1954, s. 55.
192. WINDISCH, S. — KOWALSKI, S. — ZANDER, I.: *Eur. J. appl. Microbiol.*, 3, 1976, s. 213.
193. NAUARRO, J. M. — DURAND, G.: *Ann. Microbiol. (Paris)*, B129, 1978, s. 215.
194. BROWN, S. W. — OLIVER, S. G. — HARRISON, D. E. F. — RIGHELATO, R. C.: *Eur. J. appl. Microbiol. Biotechnol.*, 11, 1981, s. 151.
195. RYCHTERA, M. — PICHOVÁ, A.: *Kvasný Prům.*, 27, 1981, s. 227.
196. MASELLI, J. A.: *Proc. Amer. Soc. Bakery Engng*, 1959, s. 160.
197. FEDOROVA, I. J. — TRAUBENBERG, S. J.: *Chlebopek. kondidēt. Prom.*, 8, 1977, s. 32.
198. JOHNSON, J. R. — OBERMAN, H.: In: *Progress in Industrial Microbiology*. Vol. 15. Ed. M. J. Bull. Amsterdam—Oxford—New York, Elsevier 1979, s. 151.
199. HARRISON, J. S.: *J. appl. Bact.*, 34, 1971, s. 173.

Биохимические и генетические аспекты регуляции метаболической активности пекарских дрожжей с связи с процессами брожения в тесте

Резюме

В работе дается обзор биохимических свойств пекарских дрожжей связанных с их активностью при брожении теста. Обсуждается генетический фон и регуляция метаболизма сбраживаемых сахаров теста, метаболизм запасных сахаридов дрожжей и образование углекислоты в тесте. Причинная взаимосвязь этих процессов является одной из предпосылок рациональной селекции промышленных штаммов пекарских дрожжей.

Biochemical and genetical aspects concerning metabolic activity control of baker's yeast with respect to process of fermentation in dough

Summary

In this contribution biochemical properties of baker's yeast are given that relate to their activity as agents in the process of dough fermentation. It also deals with the genetical background and regulation of the metabolism of fermentable saccharides in dough, metabolism of reserve yeast saccharides and production of carbon dioxide in dough. The cause relationship of these processes is precondition for rational improvement of industrial strains of baker's yeast.