

Koncentrát aminokyselín Peramín vo výžive

Saccharomyces cerevisiae

VELIKÝ I., HUNČÍKOVÁ S., PRAŠIVKOVÁ A., Katedra technickej mikrobiológie a biochémie, Chemická fakulta v Bratislave a Kvasný priemysel, n. p., Trenčín 547.466 : 57

Do skupiny základných a nevyhnutných prvkov vo výžive droždia *Saccharomyces cerevisiae* vedľa kyslíku, vodíku, síry, fosforu, draslíka, vápnika a stopových prvkov patrí i dusík. V živných pôdach je prítomný vo forme amoniaku alebo amonných solí, prípadne vo forme aminokyselín, peptidov a podobne. V laboratórnych i priemyselných živných pôdach pre droždie prichádza do úvahy v prevažnej miere minerálna forma dusíka, a to amoniak alebo amonné soli (síran amonný, fosforečnan amonný), ako najvhodnejšie a najprístupnejšie formy dusíka.

Zdrojom dusíku pre *Saccharomyces cerevisiae*, ako sa spomenulo, môžu byť taktiež aminokyseliny. K využitiu aminodusíku aminokyselin dochádza po ich dezaminácii a nasledovnom zužitkovaní uvolneného amoniaku [1]. Využitie aminodusíku aminokyselin ako dusíkového zdroja výživy droždia je podmienené jednak optickou konfiguráciou a taktiež polohou aminoskupiny v molekule. Pre droždie výhodným zdrojom dusíku z aminokyselin sú kyselina asparágová, asparagín, kyselina glutamínová, glycín, tyrozín a leucín. Z niektorých týchto aminokyselin využijú *Saccharomyces cerevisiae* až 99 % dusíku [2]. K najlepšiemu využitiu dusíku u aminokyselin dochádza u aminodusíku v α -polohe. Tak ako u niektorých aminokyselin dochádza skoro k úplnému využitiu dusíku droždím, tak u niektorých iba k čiastočnému, ako napríklad u tryptofanu — asi na 56 % — alebo z histidínu iba 34 %. I toto môže byť potvrdením, že *Saccharomyces cerevisiae* využívajú iba dusík aminoskupiny v α -polohe. Závislosť využitia dusíku aminokyselin na optickej konfigurácii sa ukázala v tom, že u natívnych l-foriem dochádza k využitiu bunkami *Saccharomyces cerevisiae*, pričom u niektorých aminokyselin sú využitelné obidve formy. Okrem týchto funkcií spočíva úloha niektorých v živnej pôde v stopových množstvách prítomných aminokyselin v stimulovaní biochemických pochodov v bunke, podobne ako u vitamínov.

V našich pokusoch sa použil koncentrát aminokyselin a nízkych peptídov Peramín, výrobok získaný chemickým spracovaním keratínu peria [3, 4, 5, 6]. Cielom práce bolo experimentálne overenie možnosti použitia nového výrobku pri výrobe droždia ako stimulátora tvorenia biomasy a zistenie jeho vplyvu na fyziologické vlastnosti vyrobeného droždia.

Materiál a metodika

V práci použitý preparát „Peramín“ je definovaný ako koncentrát aminokyselin získaný vhodnou kombináciou alkalickej a kyslej hydrolyzy keratínu peria, prípadne iných druhov keratínu. Pripravuje sa vo forme polotuhnej a vo forme práškovej. Z aminokyselin stanovili sa v Peramíne pomocou papierovej chromatografie nasledovné: cystín, cystein, kyselina asparágová, kyselina glutamínová, serín, glycín, treonín, histidín, prolín, lizín, alanín, tyrozín, tryptofan, arginín, valín, metionín, leucín, izoleucín, fenylalanín. Preparát sa veľmi dobre rozpušťa vo vode.

Tabuľka 1

Zloženie syntetickej pôdy

Zložka pôdy	g
Sacharóza	170,0
Diamoniumfosfát	5,9
Síran amonný	8,3
Síran horečnatý	1,6
NH ₃	2,8
Voda	10.000,0

Pokusy sa previedli v sklenenom fermentačnom valci s prevzdušňovaním stlačeným vzduchom. Vplyv Peramínu sa sledoval jednak na pôde syntetickej (tabuľka 1), kde zdrojom uhlíkatých živín bola sacharóza a jednak na pôde priemyselnej (tabuľka 2),

Tabuľka 2

Zloženie melasovej pôdy v jednotlivých fermentáciách

Zložka pôdy	Fermentácia				
	Kontrolná	Pokusná P ₁	Pokusná P ₂	Pokusná P ₃	Pokusná P ₄
Melasa	664,00 g	664,00 g	664,00 g	664,00 g	664,00 g
Diamoniumfosfát	12,84 g	12,84 g	12,84 g	12,84 g	12,84 g
Síran amonný	25,20 g	24,00 g	22,54 g	21,75 g	17,20 g
NH ₃	4,50 ml	4,00 ml	4,00 ml	3,75 ml	3,00 ml
Počiatočný objem zápary	6,00 l	6,00 l	6,00 l	6,00 l	6,00 l
Objem vykvásenej zápary	17,90 l	17,75 l	17,65 l	17,60 l	17,40 l
Násadné droždie	80,00 g	80,00 g	80,00 g	80,00 g	80,00 g

kde zdrojom uhlíkatých živín bola melasa. V pokusoch použitá melasa mala polarizáciu 51,20 % a straviteľného dusíku 0,34 %. Melasa sa čerila za horúca čerstvo prípravenou zrazeninou hydroxydu hlinitého. Peramín sa do melasy pridával po čerení. Potom sa melasa sterilizovala 1 hodinu v pare. Ako ďalšie živiny sa používali síran amonný, diamóniumfosfát a čipková voda v množstvach podľa živinovej bilancie, vzhľadom na meniacu sa množstvo dusíku pridávaného v Peramíne. Pokusné fermentácie sa na syntetickej pôde previedli jednorázovým pridaním živín. Pokusy na melasovej pôde sa prevádzdali prítokovým spôsobom. Schéma prítoku živín v týchto pokusoch je uvedené v tabuľke 3.

V pokusoch sa použilo násadné droždie II. generácie o známej sušine v množstve 100 g u syntetickej pôdy a 80 g u melasovej pôdy. Vplyv Peramínu

Tabuľka 3

Schéma prítoku živín

Čas hod.	Melasa %	Soli %	Čipkov %
0	10	11	11
1	—	—	—
2	5	8	8
3	8	11	11
4	10	13	13
5	11	15	15
6	13	14	14
7	15	11	11
8	12	7	7
9	7	6	6
10	5	4	4
11	4	—	—
12	—	—	—

Tabuľka 4
Zloženie Peramínu použitého v pokusoch

Druh analýzy	Peramín výr. č. 160457 %	Peramín výr. č. 240158 %
Sušina	90,05	64,08
Dusík podľa Kjeldahla	9,37	11,58
Aminodusík podľa Van Slyke	4,30	—
Bielkoviny (N × 6,25)	58,40	72,40
Popol	19,15	12,20
Stupeň štiepenia	46,15	—

sa sledoval v koncentráciach 1, 2, 3 a 4 g na 1000 ml syntetickej pôdy a 0,5, 1, 2 a 3 g na 1000 ml melasovej pôdy. Na syntetickej pôde sa použil Peramín výr. č. 160457 (tabuľka 4) a na melasovej Peramín výr. č. 240158 (tabuľka 4). Z aminokyselín stanovených chromatograficky v pokusoch použitom Peramíne boli príťomné: kyselina asparágová, kyselina glutamínová, cystein, cystín, serín, glycín, treonín, histidín, lizin, alanín, tyrozín, arginín, valín, metionín, fenylalanín, prolín, leucín, izoleucín a tryptofan.

Kontrola fermentácie sa prevádzala sledovaním teploty, Bg^0 , pH, prietoku vzduchu, stanovením redukujúcich cukrov, stanovením množstva aminodusíku, alkoholu, množstva vyrobeného droždia. Vo vyrobenom droždí sa stanovila sušina a dusík. V autolyzatoch z vyrobeného množstva sa stanovilo množstvo dusíka a aminodusíku.

Výsledky

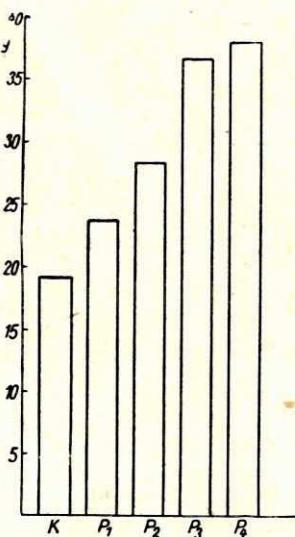
Vplyv Peramínu na tvorbu biomasy u *Saccharomyces cerevisiae* sa zrovnával s kontrolou skupinou fermentáciou, bez prídavku Peramínu. U syntetickej pôdy zvýšil sa výtažok droždia v sušine v pokusnej skupine s prídomkom 1 g Peramínu v 1000 ml pôdy — pokusná fermentácia P_1 o 48,99 %, u pokusnej fermentácie s prídomkom 2 g Peramínu v 1000 ml — pokusná fermentácia P_2 o 78,89 % s prídomkom 3 g Peramínu — pokusná fermentácia P_3 o 130,91 % a s prídomkom 4 g Peramínu v 1000 ml — pokusná fermentácia P_4 o 138,12 %, v srovnání s kontrolou fermentáciou. Výsledky s analýzou vyrobeného droždia sú uvedené v tabuľke 5 a v grafe v obr. 1. V tabuľke 6 sú uvedené analýzy násadného droždia. Získané výsledky poukazujú na to, že pridávaný koncentrát aminokyselín bol využitý *Saccharomyces cerevisiae* ako zdroj dusíkovej výživy. Poukazuje na to stúpajúci výtažok sušiny vyrobeného droždia so stúpajúcim prídomkom preparátu. Pomerne malý rozdiel zvýšenia sušiny medzi pokusnou fermentáciou P_3 a P_4 poukazuje na už málo účinné zvyšovanie množstva priateľného dusíka vo forme aminokyselín.

Z vyrobeného droždia pripravil sa autolyzát. V autolyzate sa sledovalo množstvo dusíka a amino-

Tabuľka 6
Analýza násadného droždia

Fermentácia	Násadné droždie g	Násadné droždie sušina g	Dusík celkový %	Dusík na sušinu %
Kontrolná	100	32,98	2,44	7,40
Pokusná P_1	100	32,98	2,44	7,40
Pokusná P_2	100	31,00	—	—
Pokusná P_3	100	32,98	2,44	7,40
Pokusná P_4	100	30,83	2,04	6,61

dusíku v sušine a stupeň štiepenia (tabuľka 7). Aminodusík v sušine pri srovnani s kontrolou fermentáciou sa zvýšil o málo v pokusnej fermentácii P_1 a P_2 . V ostatných fermentáciách množstvo aminodusíku bolo v autolyzate nižšie ako u kontrolnej fermentácie. Aminodusík sa stanovil titračne podľa Pope-Stevense.



Obr. 1. Množstvo sušiny vyrobeného droždia v jednotlivých fermentáciách v g, na syntetickej pôde

V druhej časti pokusov na melasovej pôde použil sa Peramín s predpokladom, že samotná melasa obsahuje volné aminokyseliny. Tak ako u syntetickej pôdy i v tomto prípade sa zistil priaznivý vplyv Peramínu na zvyšovanie produkcie droždia. V tabuľke 8 a 9 sú uvedené výsledky z pokusov a analýzy z vyrobeného droždia na melasovej pôde. Výtažok droždia na melasu (obr. 2) je u kontrolnej fermentácii 64,59 %, u pokusnej fermentácii P_1 , s prídomkom 0,5 g Peramínu v 1000 ml pôdy — 71,53 %, u pokusnej fermentácii P_2 , s prídomkom 1 g Peramínu v 1000 ml pôdy — 75,13 %, u pokusnej fermentácii P_3 , s prídomkom 2 g Peramínu v 1000 ml pôdy — 80,01 %, a u pokusnej fermentácii P_4 , s prí-

Analýza vyrobeného droždia a výtažok sušiny

Fermentácia	Vyrobené droždie g	Vyrobené droždie sušina g	Sušina %	Dusík celkový %	Dusík na sušinu %	Výtažok sušiny g	Výtažok sušiny ku kontrolke %
Kontrolná	204,17	48,80	23,83	2,27	9,50	15,82	100,00
Pokusná P_1	241,00	58,55	23,49	2,02	8,81	23,57	148,99
Pokusná P_2	231,30	59,30	25,60	1,91	7,61	28,30	178,89
Pokusná P_3	275,25	69,51	25,30	2,04	8,05	36,53	230,91
Pokusná P_4	275,50	68,50	24,85	2,10	8,42	37,67	238,12

Tabuľka 5

Analýza autolyzátov droždia

Fermentácia	Sušina %	Dusík celkový %	Dusík na sušinu %	Aminocelkový %	Aminodusík na sušinu %	Stupeň štiepenia %
Kontrolná	2,82	0,257	9,10	0,115	4,06	44,60
Pokusná P_1	3,15	0,316	10,00	0,154	4,69	48,90
Pokusná P_2	5,79	0,544	9,40	0,272	4,71	50,15
Pokusná P_3	3,13	0,276	8,62	0,112	3,58	40,80
Pokusná P_4	3,60	0,312	8,67	0,126	3,50	40,40

Tabuľka 8

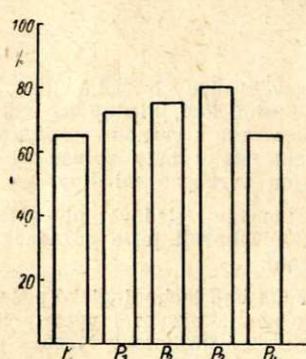
Výťažok droždia a liehu v jednotlivých fermentáciách

Fermentácia	Celková výťažnosť droždia a liehu na spracovaný cukor — %	Droždie na melasu %	Lieh na melasu %	Využitie melasy %	Objemové % liehu v zápare
Kontrolná	54,30	64,59	8,35	92,22	0,31
Pokusná P_1	52,97	71,53	5,61	89,99	0,21
Pokusná P_2	58,12	75,13	7,17	98,86	0,27
Pokusná P_3	55,83	80,01	4,54	95,12	0,17
Pokusná P_4	56,80	64,76	9,10	94,88	0,34

Tabuľka 9

Analýzy vyrobeného droždia

Fermentácia	Sušina vyrobeného droždia %	Dusík celkový %	Dusík na sušinu %	Proteiny na sušinu %	Kyslosť droždia mg CH ₃ COOH na 100 g	Doba kysnutia v min.			
						I.	II.	III.	Spolu
Kontrolná	25,86	2,10	8,11	50,69	192	71	40	29	140
Pokusná P_1	25,86	2,15	8,31	51,94	192	65	39	33	137
Pokusná P_2	25,97	2,01	7,74	48,37	168	69	20	39	128
Pokusná P_3	25,90	1,97	7,60	47,50	216	65	30	28	123
Pokusná P_4	26,57	2,14	8,06	50,37	216	66	36	25	127



Obr. 2. Výťažok droždia na melasu v % v jednotlivých fermentáciách

davkom 3 g Peramínu v 1000 ml pôdy — 64,76 %. I v tomto prípade tak ako u predchádzajúcich pokusov sa zvyšuje výťažok droždia so stúpajúcim množstvom Peramínu do určitej hranice. V pokusnej fermentácii P_4 sa dosiahol približne rovnaký výťažok droždia na melasu ako u kontrolnej fermentácie. Oproti syntetickej pôde je účinné množstvo Peramínu nižšie približne o 1 g v 1000 ml pôdy. Dá sa predpokladať, že tento rozdiel je spôsobený prítomnosťou volných aminokyselín a nízkych peptidov v melase. I v tomto prípade ide o využitie aminodusíku aminokyselín prítomných v použitom prepráte najmä ako zdroja dusíku pre *Saccharomyces cerevisiae*.

V tabuľke 8 sú uvedené výťažky droždia a liehu vo vykvasenej zápare po jednotlivých fermentáciach. Medzi kontrolnou fermentáciou a pokusnými sa po-

zoroval rozdiel v objemových percentách liehu vo vykvasenej zápare. Rozdiel medzi fermentáciami nie je priekazný a kolíše v hraniciach rozdielov medzi paralelkami jednotlivých fermentácií. Podobne je to i pri hodnotení výsledkov doby kysnutia (tabuľka 9).

Záver

V orientačných pokusoch s použitím koncentrátu aminokyselín Peramínu pre zvýšenie produkcie biomasy *Saccharomyces cerevisiae* sa zistil priažnivý vplyv preparátu na zvyšovanie výťažku droždia. Pokusy sa previedli v sklenenom fermentačnom valci na syntetickej a melasovej pôde. Výťažok droždia na melasu bol u pokusných fermentácií s prídavkom Peramínu vyšší o 6,94 až 17 %. Množstvo Peramínu v živnej pôde sa pohybovalo od 0,5 g do 4 g na 1000 ml živnej pôdy. Z dosiahnutých výsledkov vidieť priažnivý vplyv Peramínu nielen na stimuláciu tvorby sušiny, ale taktiež ukazuje sa tu určitý vplyv na metabolismus *Saccharomyces cerevisiae* ako aj na fyziologické vlastnosti vyrobeného droždia.

Literatúra

- [1] Prescott S., Dunn C.: Industrial microbiology, 1949.
- [2] Nielsen N.: Compt. rend. trav. lab. Carlsberg., Sér., physiol., 21, 395 (1936).
- [3] Velíký I.: Peramín — ein Aminosäuren-Konzentrat und sein biologischer Wert., Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin, Bd. XIV, 1960.
- [4] Betina V., Velíký I.: Nová kombinácia živín pre produkciu penicilínu. Biológia SAV, Roč. XII., Č. 5 (1957).
- [5] Velíký I.: Koncentrát aminokyselín Peramín a možnosti jeho použitia. Naša veda SAV, roč. VI., č. 5 (1959).
- [6] Velíký I.: Spôsob výroby koncentrátu aminokyselín z peria a iných druhov keratínu. Patent č. 94 946, platný od 31. 1. 1957.

Došlo do redakcie 14. 6. 1960.

**КОНЦЕНТРАТ АМИНОКИСЛОТ
ПЕРАМИН В ПИТАТЕЛЬНОЙ
СРЕДЕ ДРОЖЖЕЙ
SACCHAROMYCES CEREVISIAE**

При экспериментах ориентировочного характера в питательную среду культур вводился концентрат аминокислот ПЕРАМИН с целью повышения выхода биологической массы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Было установлено благоприятное влияние препарата на количество продукта. При испытаниях применялись стеклянные ферментационные сосуды с синтетической средой а также со средой на базе меляссы. Выход дрожжей из мелясской среды увеличился при добавке ПЕРАМИНА на 6,94—17 %. Количество ПЕРАМИНА в питательной среде изменялось при испытаниях в пределах от 0,5 до 4 г на 1000 мл питательной среды. Результаты изучения доказывают весьма положительное влияние ПЕРАМИНА не только как стимулятора более интенсивного образования сухого вещества, но и как фактора улучшающего физиологические свойства дрожжей и влияющего благоприятно на метаболизм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

**AMINOSÄUREN KONZENTRAT
PERAMIN IN DER ERNÄHRUNG VON
SACCHAROMYCES CEREVISIAE**

In Orientationsversuchen der Benützung des Aminosäurenkonzentrates Peramin zur Erhöhung der Produktion der Biomasse von *Saccharomyces cerevisiae* wurde ein günstiger Einfluss des Präparates auf die Steigerung der Hefeausbeute festgestellt. Die Versuche wurden in einem gläsernen Fermentationszylinder auf synthetischem und Melasse-Substrat durchgeführt. Die Hefeausbeute aus der Melasse war bei den Versuchsgärungen mit Peramin-Zusatz um 6,94 % bis 17 % höher. Die Peramingabe bewegte sich zwischen 0,5 und 4 g auf 1000 ml Nährsubstrat. Die erzielten Resultate bestätigen den günstigen Einfluss des Peramins nicht nur auf die Stimulation der Trockensubstanzbildung, sondern auch auf den Metabolismus der *Saccharomyces cerevisiae*, sowie auch auf die physiologischen Eigenschaften der erzeugten Hefe.

**THE PERAMIN CONCENTRATE OF
AMINO ACIDS AND ITS INTRODUCTION
INTO THE NUTRITIVE MEDIUM
FOR THE SACCHAROMYCES CEREVISIAE
MICROBS**

Several experiments have been made with the PERAMIN concentrate of amino acids in order to stimulate biological processes taking place in the cultures of the *Saccharomyces cerevisiae* yeast and increase thus final yields. The results are very encouraging. Glass fermenting vessels were used for experiments, in which synthetic media and media based on molasses were compared. Batches grown on molasses with some Peramin added gave yields by 6,94—17 % higher than without addition. The amount of Peramin varied from 0,5 to 4 g to 1000 ml of nutritive medium. The figures indicate, that the PERAMIN stimulates the generation of dry matter, having at the same time very favourable influence on the physiological properties of yeast and the metabolism of the *Saccharomyces cerevisiae* family.