

ТЕХНОЛОГІЯ ПРОДУКТІВ БРОДІННЯ, БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА ФАРМАЦІЯ

УДК 663.12/14

Р.Б. Косів, Л.Я. Паляниця

Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології органічних продуктів

ВПЛИВ ПАРАМЕТРІВ УЛЬТРАЗВУКОВОЇ ОБРОБКИ НА ЛІЗИС ДРІЖДЖОВИХ КЛІТИН

© Косів Р.Б., Паляниця Л.Я., 2002

Вивчено вплив умов УЗ-обробки на плазмоліз дріжджових клітин з подальшим протеолізом їх білкової протоплазми. Результати показали, що зміна частоти ультразвукових коливань в межах 22–44 кГц не впливає на лізис, швидкість нагромадження засвоюваного азоту зростає зі збільшенням інтенсивності коливань, для досягнення достатньої кількості засвоюваного азоту тривалість ультразвукової обробки становить 8–12 хв.

The influence of ultrasonic treatment conditions on plasmolysis of yeast cell with the following proteolysis protein protoplast was studied. Its results were showed that: the change of frequency ultrasound waves in the interval 22–44 kHz doesn't influence the autolysis, the rate of assimilative nitrogen's accumulation increases with the growth of intensities of ultrasound waves, the time of ultrasound treatment is 8–12 min achievement of the sufficient as nitrogen's quantity.

Використання дріжджових автолізатів, що містять амінокислоти, вітаміни та ферменти, дає можливість підвищувати біосинтетичну та ферментативну активність мікроорганізмів. Автолізати одержують плазмолізом дріжджових клітин з наступним протеолізом їх білкової цитоплазми. Плазмоліз проводять з використанням плазмолізуючих і стерилізуючих агентів, культур мікроорганізмів, а також ультразвуку (УЗ) [1–4].

Процес лізису з використанням ультразвукових хвиль має переваги порівняно з іншими способами, оскільки характеризується незначною тривалістю та не потребує введення додаткових речовин. Лізис дріжджів у присутності ультразвуку вивчений ще недостатньо, тому метою нашої роботи було дослідження впливу параметрів УЗ-обробки на вищевказаний процес.

Методика експериментів

Дріжджову суспензію пресованих товарних дріжджів (*Sahharomyces cerevisiae*) обробляли в низькочастотному генераторі УЗДН-2Т з експоненційним випромінювачем. Виживання дріжджів (кількість життєздатних клітин) визначали методом глибинного висіву на чашки Петрі з русловим агаром у поєднанні з методом граничних розведень. Процес автолізу контролюють за зміною вмісту амінного азоту, який певною мірою характеризує глибину гідролізу білків клітини.

Процес лізису дріжджів у полі УЗ хвиль контролювали за зміною в обробленій суспензії вмісту засвоєного азоту (ЗА). Кількість засвоєного азоту в одержаних лізатах визначали методом формольного титрування.

Результати та їх обговорення

Відомо, що ефективність дії УЗ залежить від тривалості обробки та чинників, які сприяють утворенню кавітації, а саме: частоти та інтенсивності коливань.

На початковій стадії опромінення (до 4 хв) спостерігалось значне збільшення кількості засвоєного азоту (ЗА), яке практично зупинялося до 12 хв (рис. 1). Одночасно зі збільшенням тривалості обробки відбувалося наростання в'язкості середовища за рахунок екстрагованих білків клітин. Оскільки підвищення в'язкості гальмує перебіг кавітаційних процесів, то, відповідно, знижує ефективність дії УЗ. Цим, очевидно, пояснюється незначна зміна формольного числа (ФЧ) зі збільшенням тривалості озвучення від 4 до 12 хв.

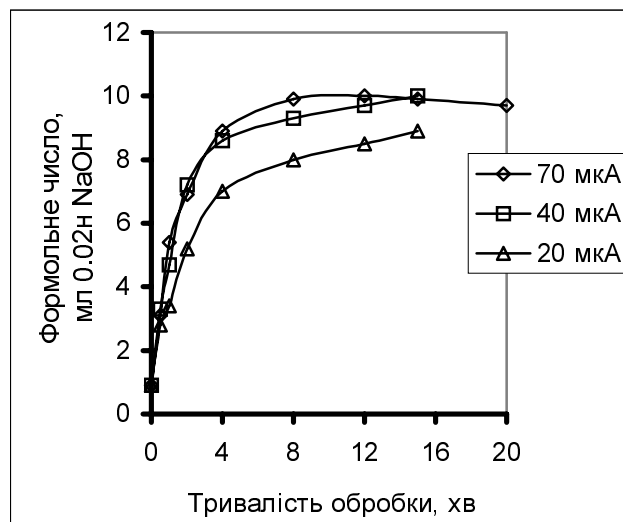


Рис. 1. Залежність ФЧ дріжджової суспензії від тривалості УЗ-обробки:
 $v = 22 \text{ кГц}$; $M_0 = 5 \%$, $V = 25 \text{ мл}$, $t = 20 \text{ }^\circ\text{C}$

Руйнівну дію мають ультразвукові хвилі певної інтенсивності: руйнування клітин спостерігалось тоді, коли інтенсивність ультразвукових коливань була достатньою для виникнення кавітації в озвучуваному середовищі.

Одержані результати свідчили про те, що зі збільшенням сили струму в контурі лампи генератора від 10 до 20 мкА відбувався значний ріст відсотка МК і кількості ЗА в обробленій суспензії (рис. 2). Подальше підвищення сили струму до 40 мкА вело до незначного росту цих показників, які залишалися практично однаковими при зміні сили струму від 40 до 70 мкА. При 80 мкА відбувалося невелике збільшення кількості життєздатних клітин і зменшення ФЧ суспензії.

Детальне вивчення впливу ультразвукових коливань на дріжджі клітини виконано при інтенсивності озвучення, що відповідає силі струму 40 мкА, при якій спостерігалось достатнє зменшення відсотка життєздатних клітин і збільшення кількості ЗА.

Ефективність дії УЗ характеризується дозою озвучення, що дорівнює добутку інтенсивності УЗ та тривалості обробки. Криву залежності ФЧ від дози (рис. 3) можна розділити на 3 фази: фаза інтенсивного росту кількості ЗА при зміні дози від 10 до 160 мкА·хв, фаза незначної

зміни ФЧ лізату при збільшенні дози від 160 до 480 мкА·хв та фаза, в якій зміна дози не впливає на накопичення ЗА.

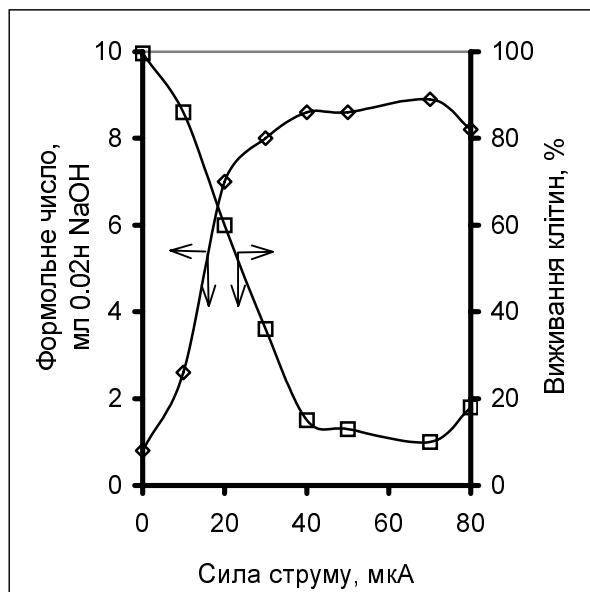


Рис. 2. Залежність ФЧ лізатів і виживання клітин від інтенсивності УЗ:
 $M_0 = 5\%$, $V = 25$ мл, $t = 20$ °С, $\tau = 4$ хв

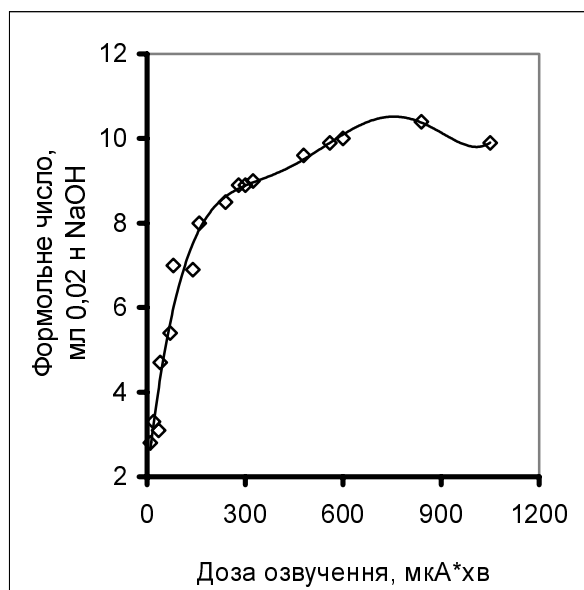


Рис. 3. Залежність ФЧ лізатів від дози озвучення:
 $M_0 = 5\%$, $V = 25$ мл, $t = 20$ °С

Отже, для досягнення максимальної кількості ЗА в дріжджових лізатах доза озвучення повинна перевищувати 480 мкА·хв, що при силі струму в контурі лампи генератора 40 мкА відповідає тривалості обробки 12 хв.

Таким чином, при одержанні лізатів дріжджових клітин у полі УЗ-хвиль необхідно враховувати таке:

1. Залежність швидкості накопичення ЗА в лізатах від інтенсивності УЗ хвиль має екстремальний характер. Екстремум відповідає силі струму 40–70 мкА.
2. Для досягнення достатньої кількості ЗА в дріжджових лізатах доза озвучення повинна перевищувати 480 мкА·хв, що при силі струму в контурі лампи генератора 40 мкА відповідає тривалості обробки 12 хв.

1. Беликов В.М., Гордиенко С.В., Латов В.К., Цырякин В.А., Андрианов В.В., Бернова Г.И., Неклюдов А.Д. Аминокислотный состав препаратов из автолизатов пекарских дрожжей // Прикладная биохимия и микробиология. – 1978. – Т. XIV, вып. 1. – С. 60–66. 2. Сарджвеладзе Э.Г., Микеладзе Г.Г., Гордиенко С.В., Беликов В.М., Латов В.К. Исследование возможности получения смесей аминокислот из автолизатов дрожжей, выращенных на питательной среде из виноградных и яблочных выжимок // Прикладная биохимия и микробиология. – 1980. – Т. XVI, вып. 5. – С. 788–791. 3. Сулейманов С.Г. Дрожжевой автолизат как стимулятор роста пекарских дрожжей // Тез. докл. 8 Конф. мол. ученых и спец., посвящ. 60-летию образ. Моск. технол. ин-та пищ. пром-сти. – М., 1991. – С. 92–93. 4. Войнарский И.Н., Латов В.К., Куликов С.А., Бабаян Т.Н., Двадцатова Е.А., Устинников Б.А. Влияние дрожжевого автолизата и некоторых его фракций на дрожжегенерацию и скорость спиртового брожения // Тез. докл. Всеююз. конф. “Достиж. биотехнол.-агропром. комплекса”. – Черновцы, 1991. – 134 с.