

## Vliv měrné růstové rychlosti na tvorbu sterolů u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* při přítokované kultivaci\*

JOSEF ČERMÁK<sup>1</sup>, MOJMÍR RYCHTERA<sup>1</sup>, PETR NECHVÍLE<sup>1</sup>, JAN NÁHLÍK<sup>2</sup>, KAREL MELZUCH<sup>1</sup>,  
JAN ŠINDELÁŘ<sup>2</sup>, JAROSLAV VOVSÍK<sup>2</sup> a JAROSLAV VOTRUBA<sup>3</sup>

Institute of Chemical Technology – <sup>1</sup>Department of Fermentation Chemistry and Bioengineering,  
<sup>2</sup>Department of Computer and Control Engineering, Prague; <sup>3</sup>Microbiology Institute  
of Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

### Abstract

ČERMÁK J., RYCHTERA M., NECHVÍLE P., NÁHLÍK J., MELZUCH K., ŠINDELÁŘ J., VOVSÍK J., VOTRUBA J. (2000):  
**Influence of the specific growth rate on formation of sterols in yeast *Saccharomyces cerevisiae* during fed-batch cultivation.**  
Czech J. Food Sci., 18: 110–114.

Ergosterol is a major sterol in yeast cells. Intermediates of ergosterol biosynthesis or products of ergosterol biotransformation occur in cells too. Sterols mainly form components of cell membranes. Fluidity of membranes is affected by sterols. The amount of sterols in cells can be influenced above all by cultivation conditions and by the yeast genotype. Specific growth rate is an important factor which affects the amount of sterols present in yeast cells. We carried out a series of 24-hour cultivations to find out the impact of specific growth rate on sterol biosynthesis. Inflow of synthetic medium to the bioreactor was controlled by means of a profile of carbon dioxide concentration in the outlet gases. This profile was acquired by simulation according to a mathematical model of cultivation. Profile of carbon dioxide concentration corresponded to a precalculated profile of specific growth rate. Cultivation was divided into two phases with different growth rate values. A constant value of the specific growth rate was maintained in the 1<sup>st</sup> phase. The specific growth rate value decreased by controlling the inflow in the 2<sup>nd</sup> phase (beginning at 12<sup>th</sup> hour of cultivation). Other cultivations were carried out using so-called physiological control which consisted in determining the immediate physiological state (e.g., RQ) and the choice of control strategy according to the metabolic state. Selected control strategy ensures an immediate action (inflow of the medium). If the specific growth rate decreased in the 1<sup>st</sup> phase, the amount of total sterols in yeast dry biomass increased (to 2.7% in yeast dry biomass). But the purity of ergosterol decreased (amount of sterol contaminants increased up to 23.3% in the sterol fraction). If a constant value of respiratory quotient was maintained (at about 1.1), the amount of total sterols in yeast dry biomass and the purity of ergosterol were constant. If the value of respiratory quotient was changed in the growth and final phase of cultivation, the amount of total sterols in yeast dry biomass increased (to 2.83% in yeast dry biomass). However, the purity of ergosterol decreased (amount of sterol contaminants increased up to 21.2% in sterol fraction).

**Key words:** sterols; *Saccharomyces cerevisiae*; effect on growth rate; fed-batch cultivation; control of feeding

### Souhrn

ČERMÁK J., RYCHTERA M., NECHVÍLE P., NÁHLÍK J., MELZUCH K., ŠINDELÁŘ J., VOVSÍK J., VOTRUBA J. (2000): **Vliv měrné růstové rychlosti na tvorbu sterolů u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* při přítokované kultivaci.** Czech J. Food Sci., 18: 110–114.

Nejvíce zastoupeným steroidem v kvasinkových buňkách je ergosterol, dále se vyskytují i meziproducty biosyntézy ergosterolu nebo producty jeho rozkladu. Hlavním místem výskytu sterolů jsou buněčné membrány, jejichž fluiditu steroidy ovlivňují. Množství sterolů v kvasinkových buňkách lze ovlivnit podmínkami kultivace a genotypem kvasinek. Jeden z důležitých faktorů ovlivňujících množství sterolů v kvasinkových buňkách je měrná růstová rychlost. Při studiu vlivu měrné rychlosti růstu jsme provedli řadu 24hodinových kultivací. Přítok syntetického média do bioreaktoru byl řízen na základě profilu koncentrace oxidu

\* Úkol byl řešen jako součást projektu EU Copernicus ERP-CIPA-CT94-0205 za současné podpory MŠMT ČR (projekty č. OK 95088, OK 163 a OK 241).



uhlíčitěho v plynech odcházejících z bioreaktoru. Ten byl získán pomocí simulace podle matematického modelu kultivace. Profil koncentrace oxidu uhličitěho odpovídal předem navrženému profilu měrné rychlosti růstu. Kultivace byla v tomto případě rozdělena na dvě fáze s rozdílnou růstovou rychlostí. V první fázi byla udržována konstantní hodnota růstové rychlosti, ve druhé fázi (začínající ve 12. hodině kultivace) docházelo řízením přítoku k plynulému poklesu měrné rychlosti růstu. Další kultivace byly prováděny pomocí tzv. fyziologického řízení, které spočívá v určování okamžitého fyziologického stavu kultury (metabolického stavu) a volby řídicí strategie podle tohoto stavu a podle fáze, v níž se proces momentálně nachází. Vybraná řídicí strategie pak vypočítává okamžité akční zásahy (v našem případě přítok živin). Pokud dochází ke snížení měrné růstové rychlosti v první fázi, lze pozorovat nárůst množství sterolů v sušině buněk (až do 2,7 % sterolů v sušině buněk). S tímto nárůstem souvisí i pokles čistoty ergosterolu (obsah kontaminujících sterolů dosáhl až 23,3% ve sterolovém podílu). Jestliže byla zachována konstantní hodnota RQ (okolo 1,1), neměnilo se množství sterolů v sušině buněk ani čistota ergosterolu. Při změně hodnoty RQ v růstové a v koncové fázi kultivace došlo ke vzrůstu množství sterolů v sušině buněk až do 2,83 %, ale zároveň klesla čistota ergosterolu (obsah kontaminujících sterolů dosáhl až 21,2 % ve sterolovém podílu).

**Klíčová slova:** steroly; *Saccharomyces cerevisiae*; vliv na růstovou rychlost; přítokovaná vsádková kultivace; řízení přítoku

Mikrobiální biomasa je bohatým zdrojem cenných látek, k nimž se řadí i steroly. U kvasinek je nejdůležitějším steroidem ergosterol, který lze po izolaci z kvasničné biomasy použít pro výrobu vitamínu D<sub>2</sub> (VANDAME 1989; VEDLICHOVÁ *et al.* 1998).

Steroly se vyskytují jednak jako volné steroly, jednak jako estery mastných kyselin. Obě formy mohou volně přecházet jedna ve druhou. Volné steroly mají vliv na funkci membrán. Estery mohou být meziprodukty biosyntézy sterolů nebo sterolovou rezervou (RATLEDGE & EVANS 1989).

Faktorem ovlivňujícím akumulaci ergosterolu v kvasinkových buňkách je považována měrná růstová rychlost. Při poklesu měrné růstové rychlosti dochází k vyšší tvorbě sterolů (ARNEZEDER & HAMPEL 1990), což je provázeno poklesem podílu ergosterolu ve sterolové frakci. Zároveň se však zvyšuje množství 24(28)-dehydroergosterolu (prekurzor ergosterolu) (BĚHALOVÁ *et al.* 1994). Kromě 24(28)-dehydroergosterolu se hromadí i jiné prekurzory ergosterolové biosyntézy.

S velikostí růstové rychlosti souvisí i fáze růstu buněk. Nejvíce ergosterolu se tvoří na konci lag fáze (BAILEY & PARKS 1975). K vyšší tvorbě sterolů často dochází na konci exponenciální fáze a ve fázi stacionární. Přitom jsou steroly esterifikovány mastnými kyselinami a ukládány do lipidické frakce (BĚHALOVÁ *et al.* 1994; BAILEY & PARKS 1975).

Vedle růstové rychlosti ovlivňují tvorbu sterolů u kvasinek i vyšší poměr mezi uhlíkem a dusíkem v médiu (NOVOTNÝ *et al.* 1992; ČERMÁK 1996), přítomnost ethanolu v médiu (CASEY & INGLEDEW 1986) a kyslíku (RATLEDGE & EVANS 1989; CASEY & INGLEDEW 1986) a další.

Cílem naší práce bylo ověřit chování sterolů při změně růstové rychlosti. Součástí řešení bylo i ověřování a úprava matematického modelu. Dále byl z fyziologických parametrů sledován respirační kvocient jako odezva na změnu vnějších podmínek kultivace.

## MATERIÁLY A METODY

**Mikroorganismus:** *Saccharomyces cerevisiae* D7 (sbírka mikroorganismů ústavu kvasné chemie a bioinženýr-

ství VŠCHT Praha). Zásobní kultura byla uchovávána na šikmém sladidlovém agaru při teplotě asi 5 °C.

**Inokulační médium:** Inokulační médium obsahovalo tyto složky (v g/l): glukosa – 20,00, kvasničný autolyzát (Imuna n. p. Šarišské Michalany) – 5,00, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 5,00, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,60, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 1,02 a CaCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O – 0,10.

**Produkční médium I:** Produkční médium se skládalo ze dvou roztoků (A a B), které se před kultivací smíchaly v poměru 1 : 1. Roztok A obsahoval 500 g glukosy v 1 litru. Složení roztoku B (v g/l): kvasničný autolyzát – 62,5, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 15,6, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 7,5, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 6,30 a CaCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O – 2,5.

**Produkční médium II:** Médium bylo stejné jako pro kultivace č. 1 a 2 s tím rozdílem, že všechny koncentrace byly poloviční.

**Inokulum:** Bylo tvořeno kvasinkami narostlými za 24 h ve 100 ml inokulačního média na rotační třepačce při teplotě 30 °C (frekvence třepání 90 min<sup>-1</sup>, poloměr rotačního pohybu 4 cm). Poté byly kvasinky odstředěny, promyty destilovanou vodou a použity jako hustá suspenze k zaočkování produkčního média.

**Bioreaktor a vybavení:** Bioreaktor NEW-MBR (Švýcarsko) má pracovní objem 5 l (celkový objem je 7 l) a je vybaven šestilopátkovým násobným turbínovým míchadlem a čtyřmi narážkami. Vzduch je přiváděn přes filtr (Sartorius MIDISART 2000) a do bioreaktoru je vháněn přes aerační věnec.

Součástí bioreaktoru je řídicí panel IMCS 2000 (MBR-Bioreactor), z něhož jsou regulovány hodnoty teploty (udržována duplikátorem s topnou spirálou a přívodem chladicí vody), pH (udržováno pomocí 10% NaOH a 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), frekvence otáčení míchadla a přítok odpěňovacího prostředku. K panelu je připojena pH elektroda (Ingold) a konduktometrická sonda (MBR-Bioreactor). Konduktometrická sonda reguluje hladinu kapaliny na základě vodivosti.

Regulace oxidu uhličitěho a fyziologické řízení byly realizovány řídicím systémem Biogenes (ÚPŘT VŠCHT Praha). Fyziologické řízení spočívá v tzv. matici šesti metabolických stavů (oxidační růst na glukose, oxidačně-redukční růst na glukose, hraniční stav mezi oxidačním



a oxidačně-redukčním růstem na glukose, oxidační růst na ethanolu, oxidační růst na glukose i ethanolu současně, hladovění).

**Analytické metody:** Steroly byly analyzovány metodou HPLC na koloně s reverzní fází C18 (250 × 4 mm). Před analýzou předcházela tříhodinová hydrolýza buněk (k odstředěné biomase přidány 3 ml vody a 3 g KOH a za mírného varu buňky hydrolyzovány), extrakce diethyletherem, odpaření extrakčního činidla a rozpuštění v mobilní fázi (methanol a voda v poměru 95 : 5). Porovnáním ploch píků vzorků a ploch píku standardu ergosterolu byl vypočten obsah sterolů v sušině buněk (Synthesia Pardubice 1990).

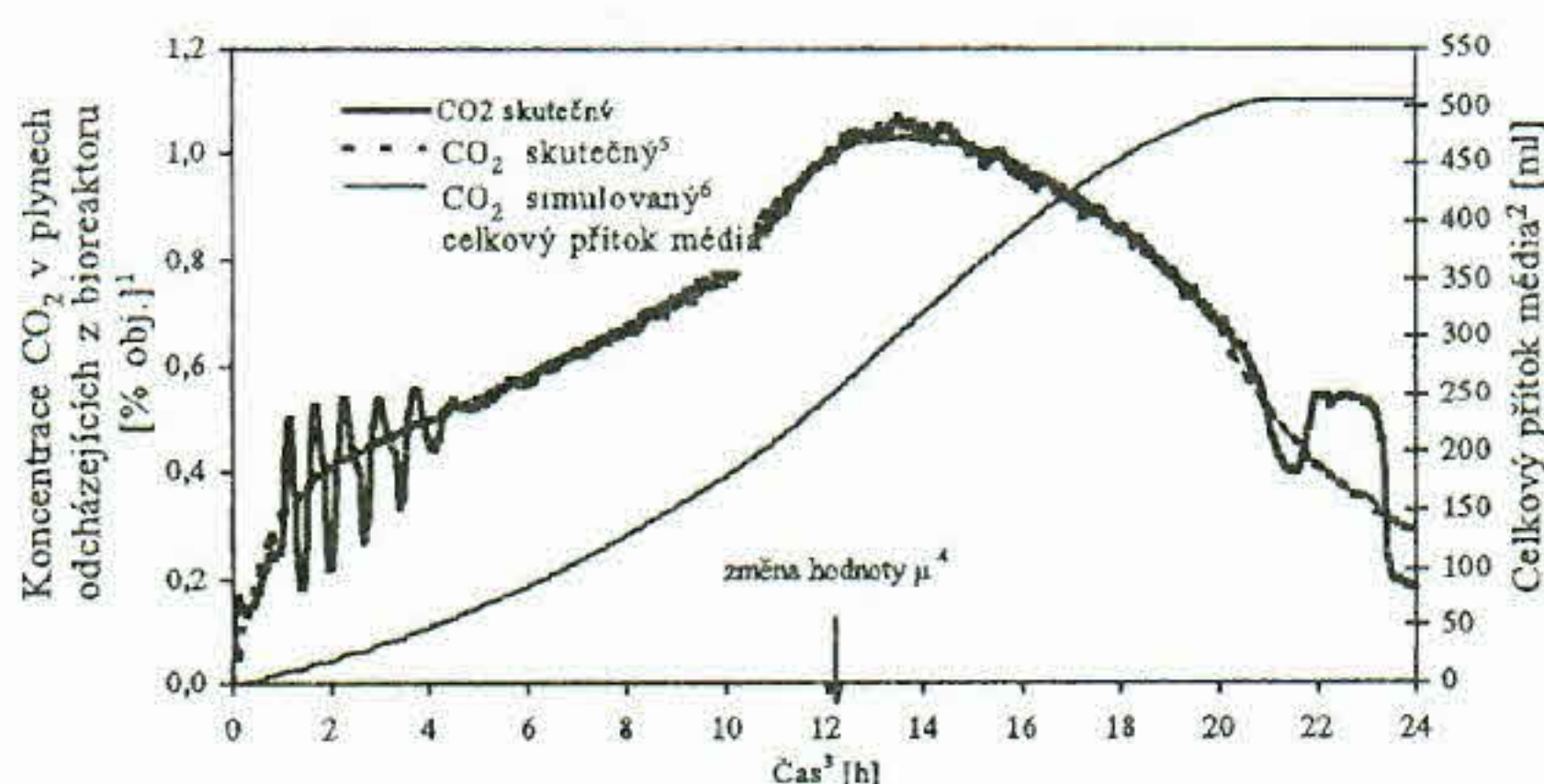
Glukosa a ethanol byly stanoveny v supernatantu vzorku pomocí HPLC na koloně s ionexem OSTION 0800 v  $H^+$  cyklu. Jako mobilní fáze zde byla použita  $H_2SO_4$  ( $c = 0,005 \text{ mol/l}$ ) (ONDROUŠEK & BASAŘOVÁ 1986). Výpočet koncentrace glukosy a ethanolu byl proveden podobně jako u sterolů.

Odstředěná (10 min při frekvenci  $3\,000 \text{ min}^{-1}$ ) a jednou promytá biomasa z 5 ml odebraného vzorku byla použita ke stanovení sušiny (vážkově a vyjádřena v g/l).

Koncentrace oxidu uhličitého v plynech odcházejících z bioreaktoru byla sledována pomocí přístroje Servomex 1400 (měří koncentraci na základě absorpce infračerveného záření) a koncentrace kyslíku přístrojem Servomex 1100 (měří na základě jeho paramagnetických vlastností, oba přístroje Servomex, U. K.)

**Podmínky kultivace:** Doba kultivace byla 24 h při teplotě  $30^\circ\text{C}$ , frekvenci otáčení míchadla  $600 \text{ min}^{-1}$ , průtoku vzduchu  $3 \text{ l/min}$  a hodnotě pH 5,00.

**Program PS1c:** Simulační program PS1c byl použit k simulaci kultivace podle matematického modelu. Jde o blokově orientovaný program, v němž každý blok realizuje určitou funkci. Program PS1c je vhodný pro simulaci modelů tvořených soustavou diferenciálních rovnic a je vytvořen v jazyce C++ a pracuje pod operačním systémem DOS (MELZUCH *et al.* 1998).



<sup>1</sup>CO<sub>2</sub> concentration in outlet gases from bioreactor [% vol]; <sup>2</sup>total inflow of medium; <sup>3</sup>time; <sup>4</sup>change of value  $\mu$ ; <sup>5</sup>CO<sub>2</sub> actual; <sup>6</sup>CO<sub>2</sub> simulated; <sup>7</sup>total inflow of medium

Obr. 1. Porovnání skutečného a simulovaného průběhu oxidu uhličitého a profil časového průběhu přítokovaného média při kultivaci 3 – Comparison of the actual and simulated profile of carbon dioxide concentration and the profile of the time concentration of inflow medium at cultivation 3

**Matematický model pro sledování růstu kvasinek:** Model byl vytvořen na základě diferenciálních rovnic popisujících hlavní vztahy mezi parametry kultivace (spotřeba glukosy, růst biomasy, tvorba ethanolu, spotřeba kyslíku, tvorba oxidu uhličitého, přítok média do bioreaktoru, tvorba sterolů a ergosterolu) (VOTRUBA *et al.* 1986; BĚHALOVÁ *et al.* 1986; RYCHTERA *et al.* 1998a, b). Model dále umožňuje vypočítat měrnou růstovou rychlost, respirační kvocient a rychlost tvorby ethanolu.

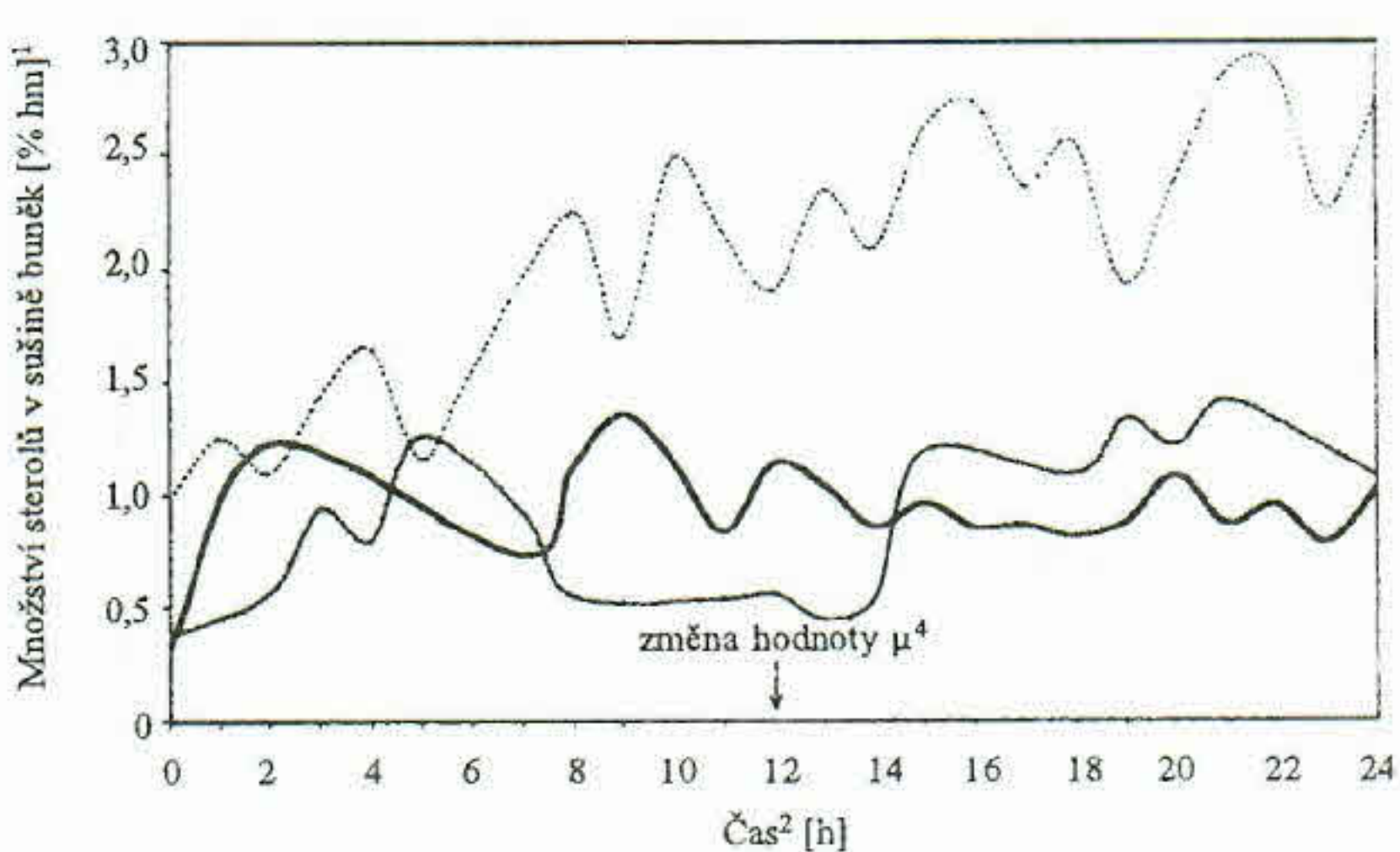
V modelu byl nejprve simulován průběh kultivace. Na základě předpokládaného profilu měrné rychlosti růstu byl vypočten profil CO<sub>2</sub> a profil živení. Podle profilu CO<sub>2</sub> byla kultivace řízena.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

U kultivací 1–3 byl sledován vliv růstové rychlosti na tvorbu sterolů v kvasinkových buňkách, kdy nastavená hodnota růstové rychlosti nebo její pokles byl udržován pomocí profilu koncentrace oxidu uhličitého v plynech odcházejících z bioreaktoru. Tento profil byl udržován PID regulátorem určujícím přítok média do bioreaktoru (obr. 1). Určení charakteristického průběhu koncentrace oxidu uhličitého při přítokované kultivaci předcházelo několik měření dříve prováděných na našem pracovišti (ČERMÁK 1996; PAULOVÁ 1995).

Profil koncentrace oxidu uhličitého v plynech odcházejících z bioreaktoru byl získán pomocí simulace matematického modelu kultivace s předem nastavenými parametry. Kultivace byly rozděleny na dvě fáze. Fáze 1 (0. až 12. h) je růstovou fází (konstantní hodnota  $\mu$ ). Fáze 2 (12.–24. h) je realizována při plynule klesající hodnotě  $\mu$  a jde o fázi zpomaleného růstu.

Hodnoty měrné růstové rychlosti, koncentrace sušiny na počátku, ve 12. hodině a na konci kultivace a k tomu příslušné množství sterolů v sušině buněk a čistota ergosterolu jsou uvedeny v tab. 1.



— kultivace 1 – cultivation 1; ——— kultivace 2 – cultivation 2; ..... kultivace 3 – cultivation 3

<sup>1</sup>sterol amount in cell dry biomass (% w); <sup>2</sup>time; <sup>4</sup>change of value  $\mu$

Obr. 2. Tvorba sterolů v sušině buněk při kultivacích 1–3 – Sterol production in cell dry biomass at cultivations 1–3



Tab. 1. Srovnání množství sterolů v sušině buněk při různých růstových rychlostech – Comparison of sterol amounts in cell dry biomass at different growth rates cultivation

Kultivace <sup>1</sup>	$\mu$ [h <sup>-1</sup> ] v 1. fázi <sup>2</sup>	Sušina [g/l] v sušině buněk <sup>3</sup>				Celkové množství sterolů [% hm. v sušině] <sup>4</sup>			Čistota ergosterolu (% ve sterolovém podílu) <sup>5</sup>			
		0. h	10. h	12. h	24. h	0. h	12. h	24. h	0. h	10. h	12. h	24. h
1	0,125	1,17	4,41	5,69	10,25	0,37	0,55	1,06	93,05	93,53	93,29	91,59
2	0,150	1,34	5,24	7,00	13,10	0,33	1,13	1,00	89,71	91,42	91,99	92,70
3	0,075	1,34	3,04	3,38	6,26	0,98	1,89	2,70	97,30	86,60	85,43	76,71

<sup>1</sup>cultivation; <sup>2</sup>in the 1<sup>st</sup> phase; <sup>3</sup>dry biomass (g/l); <sup>4</sup>total sterol amount in cell dry biomass (% weight in dry biomass); <sup>5</sup>ergosterol purity (% in sterol fraction)

Celkem byly provedeny tři 24hod. kultivace. S výjimkou kultivace 2 dochází k výraznějšímu nárůstu množství sterolů v sušině buněk ve druhé fázi. Při kultivaci 2 se ve druhé fázi množství sterolů v sušině buněk v podstatě ustálilo na hodnotě okolo 0,9 % hm (obr. 2). Tento jev patrně souvisí s vyšší měrnou růstovou rychlostí. Nejvyšší nárůst množství sterolů v sušině buněk byl zaznamenán u kultivace 3 (tab. 1, obr. 2).

Vysoká tvorba sterolů v sušině buněk je způsobena pomalejším růstem (nízká měrná růstová rychlost) v první fázi kultivace a je zcela v souladu s výsledky, které získali ARNEZEDER a HAMPEL (1990). Vysoký obsah sterolů však souvisí s poklesem čistoty ergosterolu. Z tab. 1 plyne, že ergosterol má vyšší čistotu, pokud je množství sterolů v sušině buněk menší.

Protože docházelo k velkým úbytkům média z bioreaktoru při odběru vzorku, bylo nutné pro kultivace 3–6 použít zředěnější médium – médium II.

Vliv fyziologického řízení na tvorbu sterolů v kvasinkových buňkách byl sledován u kultivací 4–6.

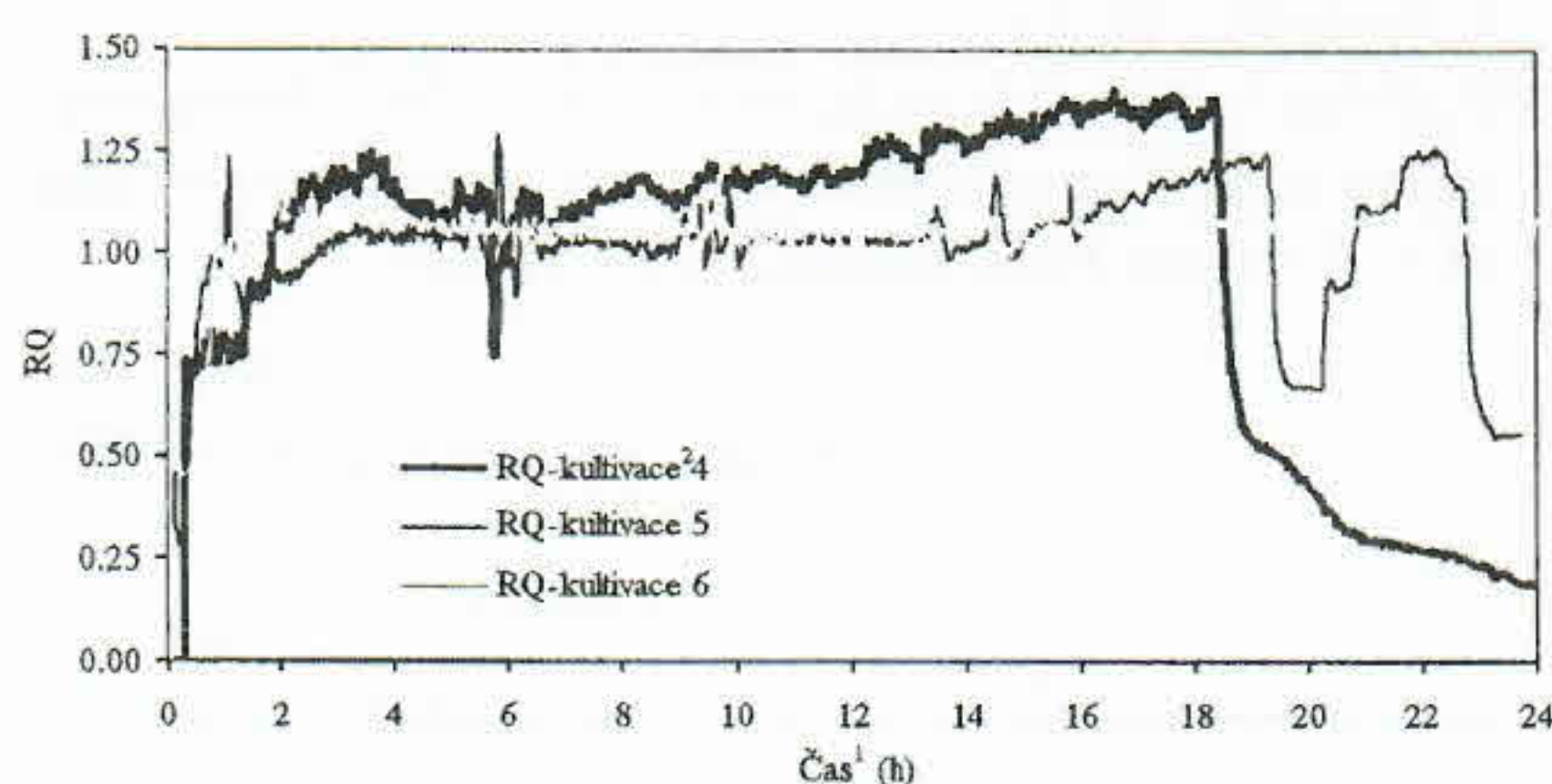
Hodnoty respiračního kvocientu, tj. poměru mezi objemovým množstvím oxidu uhličitého, který byl vyprodukovan za určitou dobu, a objemovým množstvím kyslíku, který byl za tuto dobu spotřebován, jsou patrné na obr. 3. Tento parametr byl vybrán jako jedno z důležitých kritérií fyziologického stavu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*.

Systém pro danou kultivaci byl schopen rozlišit šest různých metabolických stavů: oxidační růst na glukose, oxidačně-redukční růst na glukose, hraniční stav mezi oxi-

dačním a oxidačně-redukčním růstem na glukose, oxidační růst na ethanolu, oxidační růst na glukose i ethanolu současně a hladovění. Kultivace byla rozdělena do tří fází: počáteční (0.–1. h), růstová (do 18. h) a koncová fáze. V počáteční fázi bylo médium přítokováno ručně. V růstové fázi bylo prováděno řízení přítoku podle fyziologického stavu kultury (fyziologické řízení). V této fázi došlo v podstatě k udržení téměř konstantní hodnoty respiračního kvocientu (obr. 3). Přítokování média bylo v růstové fázi uskutečněno pomocí změn ve směrnici profilu oxidu uhličitého. Profil oxidu uhličitého byl měněn z důvodu zachování téměř konstantní hodnoty respiračního kvocientu. V koncové fázi byl přítok média zastaven. V této fázi došlo při kultivaci 4 a 5 k poklesu respiračního kvocientu a k nárůstu sterolů v sušině buněk (obr. 3 a 4).

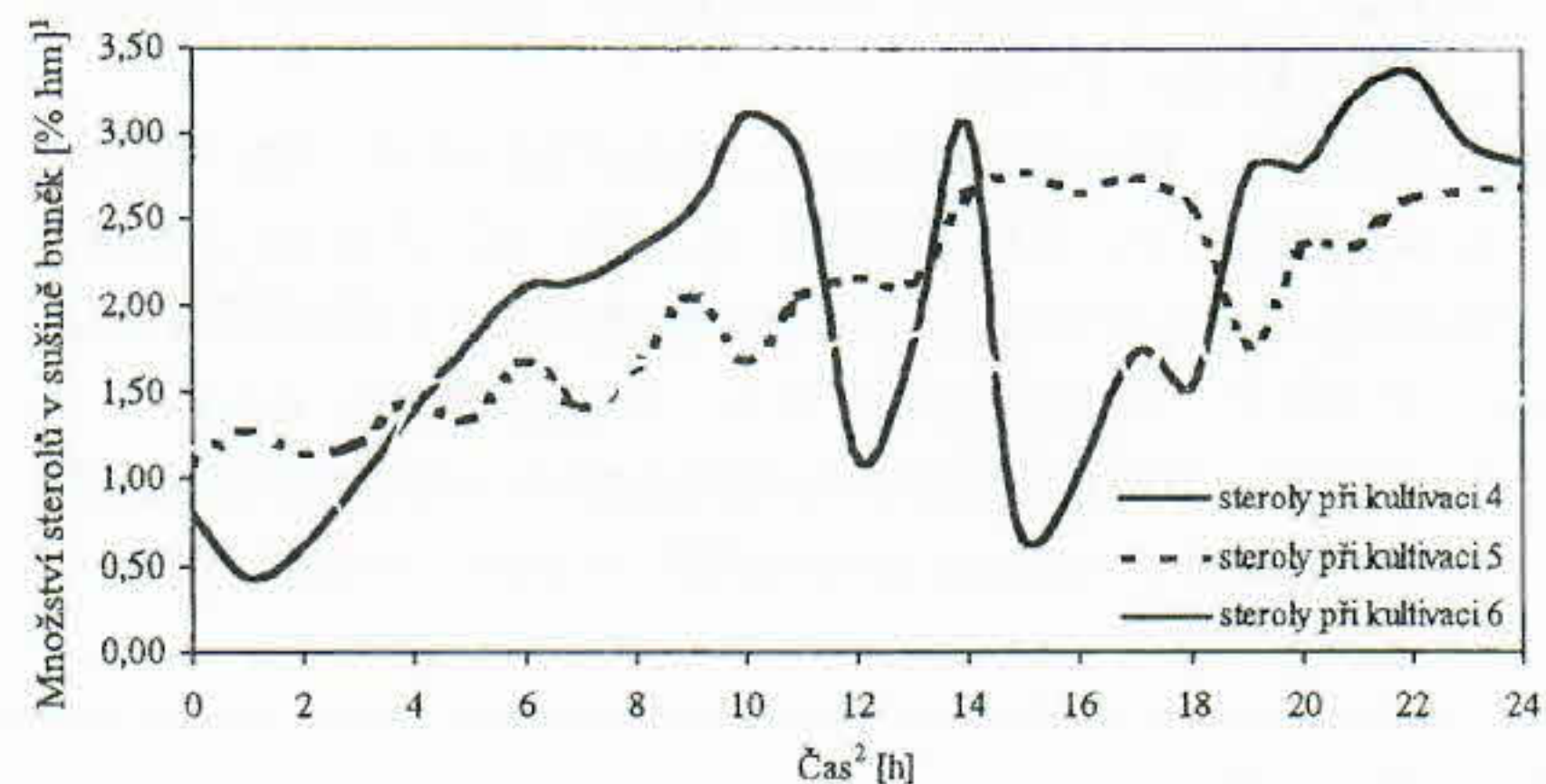
Z obr. 2 a 4 je patrné, že oba způsoby řízení se vyznačují podobnými vlastnostmi, tj. pracuje se při nižších rychlostech růstu. U fyziologického řízení nešlo o hodnoty konstantní, ale o změny v růstových rychlostech (za 1 hod) 0,01 až 0,14 při kultivaci 4, 0,01–0,11 při kultivaci 5 a 0,01 až 0,12 při kultivaci 6. Změny v obsahu sterolů jsou zvlášť velké při kultivaci 4 (0,42 a 3,35% sterolů v sušině buněk).

Z uvedených výsledků vyplývá, že z hlediska množství a čistoty ergosterolu je způsob vedení kultivace při nízké specifické růstové rychlosti v první fázi nejvhodnější. Kultivaci by bylo vhodné vést maximálně 10 hodin. V tomto čase je v sušině buněk již nad 1,5 % hm ergosterolu a jeho čistota je okolo 90 %. Množství biomasy je však v tomto čase ještě příliš nízké, a proto by zkrácení kultivace na 10 hodin nebylo výhodné (tab. 1 a 2).



<sup>1</sup>time; <sup>2</sup>cultivation

Obr. 3. Průběh respiračního kvocientu (RQ) při kultivacích 4–6 – The values of respiration quotient (RQ) at cultivations 4–6



<sup>1</sup>sterol amount in cell dry biomass (%); <sup>2</sup>time; <sup>3</sup>sterols at cultivation

Obr. 4. Porovnání množství sterolů v sušině buněk při kultivacích 4–6 – Comparison of sterol amounts in cell dry biomass at cultivations 4–6



Tab. 2. Srovnání množství sterolů v sušině buněk při různých průbězích respiračního kvocientu (viz obr. 3) – Comparison of sterol amounts in cell dry biomass at different values of respiration quotient (Fig. 3)

Kultivace <sup>1</sup>	Sušina <sup>2</sup> (g/l)				Celkové množství sterolů v sušině buněk (% hm. v sušině) <sup>3</sup>		Čistota ergosterolu (% ve sterolovém podílu) <sup>4</sup>				RQ		
	0. h	10. h	12. h	24. h	0. h	24. h	0. h	10. h	12. h	24. h	0. h	12. h	24. h
4	1,20	2,72	2,96	5,78	0,81	2,83	90,86	88,11	87,56	78,78	0,00	1,19	0,19
5	4,14	7,56	8,56	13,42	1,06	2,70	95,17	77,38	71,31	66,25	0,00	1,03	0,56
6	4,54	7,60	8,44	12,34	1,19	1,44	94,58	86,81	81,40	64,15	0,00	1,04	1,07

<sup>1</sup>cultivation; <sup>2</sup>dry biomass; <sup>3</sup>total sterol amount in cell dry biomass (% weight in dry biomass); <sup>4</sup>ergosterol purity (% in sterol fraction)

### Závěr

Výsledky získané při řešení této problematiky ukazují na dosti významné chování sterolů jako odpověď na změny měrné růstové rychlosti buněk produkčního mikroorganismu. Změnami přítoku živního média je možno růst buněk a produkci sterolů ovlivnit a to především v růstové fázi kultury. V této fázi se ukazuje hledaný vliv snížení růstové rychlosti na tvorbu sterolů. Snížení obsahu nežádoucích sterolů přispívá však spíše vyšší rychlost růstu, při níž je ale nižší celkový obsah sterolů v buňkách.

### Literatura

- ARNEZEDER C., HAMPEL W. A. (1990): Influence of growth rate on the accumulation of ergosterol in Yeasts cells. *Biotechnol. Letters*, 4: 277–282.
- BAILEY R. B., PARKS L. W. (1975): Yeast sterol esters and their relationship to the growth of yeast. *J. Bacteriol.*, 2: 606–612.
- BĚHALOVÁ B., BLÁHOVÁ M., BĚHAL V. (1994): Regulation of sterol biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Folia Microbiol.*, 4: 287–290.
- BĚHALOVÁ B., VOTRUBA J., PICHOVÁ A., BERAN K. (1986): Fed-batch cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* with increased content of D5,7-sterols. *Folia Microbiol.*, 31: 129–137.
- CASEY G. P., INGLEDEW W. M. (1986): Ethanol tolerance in Yeast. *CRC Rev. Microbiol.*: 219–280.
- ČERMÁK J. (1996): Vliv kultivačních podmínek na tvorbu sterolů produkovaných kvasinkami. [Diplomová práce.] VŠCHT Praha: 25–66.
- MELZUCH K., DEMNEROVÁ K., DOSTÁLEK P., FINKEOVÁ J., KMÍNEK M., PALATOVÁ M., RYCHTERA M. (1998): Modelování bioproců. [Interní učební text.] VŠCHT Praha.
- NOVOTNÝ Č., DOLEŽALOVÁ L., FLIEGER M., PANOŠ J., KARST F. (1992): Ethanol-induced death and lipid composition of *Saccharomyces cerevisiae*: A comparative study of the role of sterols. *Folia Microbiol.*, 4: 286–288.
- ONDROUŠEK S., BASAŘOVÁ G. (1986): Využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie na iontoměničích při stanovení alkoholu ve fermentačních médiích. *Potrav. Vědy*, 4: 91–98.
- PAULOVÁ L. (1995): Výběr a hodnocení kritérií fyziologického stavu mikroorganismů pro řízení fermentačních procesů. [Disertační práce.] VŠCHT Praha: 73–164.
- RATLEDGE C., EVANS C. T. (1989): Lipids and their metabolism. In: ROSE A. H., HARRISON J. S. (Ed.): *The Yeasts*. Vol. 3. Acad. Press Ltd., London: 394–398.
- RYCHTERA M., VOTRUBA J., ČERMÁK J., MELZUCH K., FIALA J., NÁHLÍK J., VEDLICHOVÁ Z., NECHVÍLE P., PATÁKOVÁ P., KENT C. A., MISKIEWICZ T., AL-RUBEAI M. (1998a): Optimization of feeding profiles for sterol biosynthesis by yeasts *Saccharomyces cerevisiae*. In: 2<sup>nd</sup> Eur. Symp. Biochem. Engng Sci. 16.–19. 9. 1998.
- RYCHTERA M., VOTRUBA J., MELZUCH K., FIALA J., ČERMÁK J., VEDLICHOVÁ Z., PATÁKOVÁ P. (1998b): Knowledge based control strategies of sterol biosynthesis in yeast cells. In: 13<sup>th</sup> Int. Congr. Chem. Process Engng CHISA 1998. 23.–28. 8. 1998, Prague.
- Synthesia Pardubice (1990): Stanovení obsahu ergosterolu v kvasničném mléce. Podniková norma.
- VANDAME J. E. (1989): Vitamin D: The biotechnology of ergosterol. In: *Biotechnology of Vitamins, Pigments and Growth Factors*. Elsevier Sci. Publ.: 81–92.
- VEDLICHOVÁ Z., DUBOVÁ R., ČERMÁK J., PATÁKOVÁ P., RYCHTERA M., MELZUCH K. (1998): Production of sterols by *Saccharomyces cerevisiae* in fed-batch culture. *Czech J. Food Sci.*, 16: 9–13.
- VOTRUBA J., BĚHALOVÁ B., BERAN K. (1986): Batch cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* with increased content of Δ5,7-sterols. *Folia Microbiol.*, 31: 69–78.

Došlo 8. 3. 1999

Přijato k publikování 11. 5. 1999

### Kontaktní adresa:

Prof. Ing. MOJMÍR RYCHTERA, CSc., Vysoká škola chemicko-technologická, Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika, tel.: + 420 2 24 35 41 24, fax: + 420 2 24 35 50 51, e-mail: mojmir.rychtera@vscht.cz