

Chemiczne metody izolacji białek z komórek drożdży spożywczych

Bożena Stasińska

Katedra Biochemii i Analizy Żywności
Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego
Poznań

1. Wstęp

Problem izolacji białek z organizmów jednokomórkowych (SCP) pojawił się w literaturze w latach siedemdziesiątych, jako odpowiedź na apel Światowej Komisji Zdrowia ONZ w sprawie poszukiwania nowych, wydajnych i tanich źródeł białka. Dużym zainteresowaniem naukowców cieszyły się drożdże m.in. ze względu na to, że stosowano je jako dodatek witaminowo-białkowy do wzbogacania żywności na dość dużą skalę już podczas II wojny światowej.

Drożdże zawierają 45-70% białka z czego 80% stanowi azot białkowy, a 12% azot kwasów nukleinowych. Drożdże charakteryzują się wysoką zawartością wielu aminokwasów egzogennych, a szczególnie dużą ilością lizyny, która przewyższa poziom tego aminokwasu w białku jaja. W stosunkowo małych ilościach występują w drożdżach aminokwasy siarkowe. Skład aminokwasowy białka drożdży zależy głównie od doboru szczepu i podłoża do ich produkcji, czyli może być w znacznym stopniu regulowany.

Istnieją jednak substancje o charakterze antyżywniowym, limitujące zastosowanie tych mikroorganizmów do celów żywieniowych, z których ilościowo najważniejsze są kwasy nukleinowe, występujące w połączeniu z białkami jako nukleoproteiny (8-15% w s.m.). Kwasy nukleinowe stanowią zagrożenie dla zdrowia człowieka z powodu odkładania się kryształów kwasu moczowego w nerkach lub stawach, prowadząc do powstania bolesnych stanów chorobowych (dna moczanowa). Przyczyną jest brak w organizmie człowieka enzymu urikazy i dlatego spożycie kwasów nukleinowych powinno być ograniczone do ok. 2 g na dobę. Stwarza to dodatkową potrzebę redukcji tych związków w preparatach drożdżowych.

Do produkcji biomasy drożdżowej używa się najczęściej drożdży z rodzaju *Candida* (*C. utilis*, *C. tropicalis*, *C. lipolytica*) (1-4) oraz *Saccharomyces* (*S. carlsbergensis*, *S. cerevisiae*, *S. fragilis*) (5-10).

Do namnażania drożdży jako podłoża mogą służyć różne produkty odpadowe, takie jak: wywary melasowe, ługi posulfitowe z fabryk celulozy, hydrolizaty odpadów z przemysłu drzewnego, ścieki z zakładów przemysłu ziemniaczanego, węglowodory parafinowe z ropy naftowej, a także serwatka, metanol i inne.

Na skalę przemysłową od wielu lat produkuje się ekstrakty drożdżowe, głównie na podłożu melasowym. Uzyskiwanie ekstraktów drożdżowych polega na wydobyciu zawartości komórki głównie pod wpływem enzymów wewnątrzkomórkowych (autolizaty) lub przy użyciu chlorku sodu w podwyższonej temperaturze (plazmolizaty). Ekstrakty zawierają przede wszystkim rozpuszczalne białka drożdżowe, witaminy z grupy B oraz sole mineralne.

W tabeli 1 przedstawiono skład aminokwasowy wybranych preparatów białkowych z drożdży w porównaniu z białkiem jaja kurzego.

TABELA 1

SKŁAD AMINOKWASOWY BIAŁEK PREPARATÓW DROŹDŻOWYCH W PORÓWNIANIU DO BIAŁKA JAJA KURZEGO [g/16 g N]

Aminokwasy egzogenne	Białko jaja (wzorzec) (11)	Koncentrat białka z drożdży <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (10)	Autolizat z drożdży <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (12)	Drożdże spożywcze <i>Candida utilis</i> (13)	Koncentrat białka z drożdży <i>Candida utilis</i> (14)
izoleucyna	6,6	1,9	5,5	9,1	5,4
leucyna	8,8	1,2	7,6	6,0	8,0
lizyna	6,4	5,0	8,0	7,1	7,1
fenyloalanina	5,8	1,7	3,7	5,3	4,9
tyrozyna	4,2	5,8	2,4	4,3	3,9
metionina	2,4	1,9	1,4	1,6	1,5
cystyna	3,1	1,2	0,9	0,4	0,9
treonina	5,1	5,0	4,3	6,1	4,8
tryptofan	1,6	1,7	1,3	1,5	1,7
walina	7,3	5,8	5,9	7,3	5,9
aminokwasy ograniczające	siarkowe				

Z danych zawartych w tabeli 1 wynika, że stosując preparaty drożdżowe w żywności należy łączyć je z produktami bogatymi w aminokwasy siarkowe lub dodawać syntetycznej metioniny. Preparaty te charakteryzuje stosunkowo wysoka zawartość lizyny — aminokwasu deficytowego w białku roślinnym, dlatego dodatek preparatu białkowego z drożdży do produktów zbożowych daje znaczny efekt uzupełniania się składu aminokwasowego. W niektórych drożdżach notuje się również wysoki poziom tryptofanu i waliny —

aminokwasów ograniczających wartość żywnościową białka ryb i niektórych gatunków mięsa (15).

W podstawowych pozycjach literaturowych z lat siedemdziesiątych i osiemdziesiątych, dotyczących problemu izolacji białek z komórek drożdżowych, skupiano się nad opracowaniem metod otrzymywania preparatów o dobrych właściwościach funkcjonalnych, wysokiej strawności i wartości odżywczej nie budzących zastrzeżeń higieniczno-toksykologicznych (16-20).

Literatura ta, dotycząca problemu wykorzystania białka drożdżowego, nadal stanowi główne źródło wiedzy o podstawowych metodach wyodrębniania białek komórkowych i ich izolacji z materiału pochodzenia mikrobiologicznego.

2. Ekstrakcja chemiczna

Do otrzymywania preparatów białkowych z organizmów jednokomórkowych, w tym z drożdży, wg Kinselli i Shetty (21) stosuje się dwie grupy metod:

- w których wyjściowa biomasa w postaci zawiesiny jest poddawana destrukcji w celu rozbicia ścian komórkowych, którą prowadzi się przez zastosowanie autolizy, plazmolizy, hydrolizy kwasowej, lizy enzymatycznej z udziałem odczynników tiolowych, metod chemicznych lub mechanicznych;
- bez zastosowania etapu dezintegracji komórek.

Następne etapy otrzymywania preparatów białkowych sprowadzają się do ekstrakcji białka, rozpuszczenia go w alkaliach i wytrącenia w punkcie izoelektrycznym lub w temperaturze 80°C, względnie inkubacja w środowisku słabo alkalicznym połączona z użyciem endogennych lub egzogennych rybonukleaz (9).

Ekstrakcję chemiczną, obniżającą zawartość kwasów nukleinowych, można prowadzić także przy użyciu 2M NaOH, 10% NaCl, 10% octanu sodu, 0,5M HCl lub metanolu (18). Wysokie stężenia związków alkalicznych inaktywują jednak enzymy proteolityczne drożdży, co ogranicza zakres proteolizy, wywołując jednocześnie częściową degradację i denaturację wyizolowanych białek. W warunkach umiarkowanych zmiany te zachodzą w mniejszym stopniu (9).

Efektywność tych metod jest zróżnicowana, ale zdecydowanie lepsze rezultaty, mierzone wydajnością odzyskanego białka i stopniem redukcji kwasów nukleinowych, osiąga się po uprzedniej destrukcji ścian komórkowych. Wydajność białka w tej grupie sięga 90%, a poziom kwasów nukleinowych obniża się do ok. 2%, podczas gdy w drugiej — odpowiednio tylko ok. 15 i 4% (9,10,22,23). Z literatury wynika, że najbardziej efektywne wyniki dla białek drożdżowych uzyskuje się przy kwasowości czynnej pH 11-12, w 5% zawieszynie i temperaturze 50-70°C po uprzedniej mechanicznej destrukcji komórek (1,9,10,22-25).

Prowadzone na szeroką skalę przez Gierharta i Pottera (1,26) badania nad pozyskiwaniem preparatów białkowych z drożdży *Candida utilis* (ATCC 9950)

obejmowały ich ocenę organoleptyczną, badanie składu chemicznego i właściwości funkcjonalnych (rozpuszczalność, absorpcja wody i tłuszczu, właściwości emulgujące i pianotwórcze, lepkość, zdolność do tworzenia żelu). Większość metod izolacji białek, opisanych przez tych autorów, opierała się na ekstrakcji alkalicznej. W warunkach zasadowych uzyskiwano redukcję poziomu kwasów nukleinowych o 40-85%, w zależności od zastosowanej metody. Stwierdzano przy tym niewielkie zmiany w składzie aminokwasowym, sięgające ok. 5% ubytku aminokwasów egzogennych w porównaniu z poziomem tych aminokwasów w komórkach drożdżowych. Stopień przyswajalności lizyny z całych komórek w stosunku do jej przyswajalności z uzyskanych preparatów ulegał tylko niewielkiemu obniżeniu (z 92 do 88%). Większość właściwości funkcjonalnych, w przypadku opisanych metod była porównywalna z odpowiednimi właściwościami mąki sojowej i koncentratu serwatkowego. Okazało się jednak, że alkaliczna ekstrakcja białka, prowadząca do uzyskania izolatów białkowych (powyżej 92% białka), obniżała zawartość kwasów nukleinowych w znacznie niższym zakresie niż w koncentraty (72-92% białka). Poziom tych związków wynosił odpowiednio ok. 50 i 25% ilości wyjściowej.

Głównym problemem izolacji białek przy użyciu ekstrakcji alkalicznej jest możliwość zaistnienia w białkach szeregu niekorzystnych dla zdrowia reakcji, w tym tworzenie się związków typu lizyloalaniny, produktów racemizacji i β -eliminacji aminokwasów, powstawanie wiązań poprzecznych i inne. W rezultacie tych zmian następuje pogorszenie niektórych właściwości funkcjonalnych uzyskanych preparatów białkowych oraz destrukcja kilku niezbędnych aminokwasów (27). Damodaran (16) przypuszcza, że ze względu na dość powszechne występowanie usieciowania białek kompleksami typu lizyloalanina w wielu produktach żywnościowych, umiarkowana ilość tych połączeń nie stanowi istotnego zagrożenia w żywieniu człowieka. W doniesieniach z ostatnich lat wskazuje się na nieco bardziej liberalne podejście do zagadnienia stosowania alkaliów w celu uzyskania koncentratów i izolatów białkowych z biomasy jednokomórkowców, co niewątpliwie wiąże się z aktualnie większymi możliwościami ograniczenia zawartości tych niekorzystnych substancji w intermediatach oraz produktach końcowych prowadzonych procesów (23,28,29).

Szczegółowe metody oparte na ekstrakcji alkalicznej oraz analizę zalet i wad metod pozyskiwania białek z komórek drożdżowych znaleźć można w podstawowych pracach z tego zakresu Kinselli i Shetty (18,22) oraz innych autorów (1,16,24,25,27).

Poza ekstrakcją alkaliczną do izolacji białek z drożdży, połączonej z redukcją kwasów nukleinowych, stosuje się modyfikacje chemiczne. Mają one na celu przede wszystkim uzyskanie preparatów o wysokiej zawartości białka i korzystnych właściwościach funkcjonalnych, zredukowanym poziomie substancji antyżywnościowych i szkodliwych dla zdrowia, przy zachowaniu jego wartości odżywczej. Modyfikacje chemiczne prowadzi się głównie przez kowalencyjne przyłączenie określonego czynnika modyfikującego do grupy funkcyjnej aminokwasu, co może również mieć znaczenie dla ochrony reaktywnych grup funkcyjnych aminokwasów przed uczestnictwem w niepożąda-

nych, z żywieniowego punktu widzenia, reakcjach zachodzących podczas procesów technologicznych.

Modyfikacje białek przeznaczonych do różnych celów, w tym również żywieniowych, przeprowadza się najczęściej wykorzystując reakcje:

- acylowania bezwodnikami kwasowymi (np. kwasem bursztynowym — metoda bursztynylacji),
- kompleksowania z polifosforanami (np. z fosforanem m-trisodowym lub tlenochlorkiem fosforu — metoda fosforylacji),
- rozerwania w wyniku redukcji, a następnie utlenienia wiązań disulfidowych (metoda utleniającej siarczynolizy-sulfonolizy).

Wymienione modyfikacje różnią się warunkami przebiegu, udziałem w nich różnych aminokwasów, a także uzyskanymi efektami.

3. Metoda bursztynylacji

Metodę bursztynylacji po raz pierwszy zastosowano do modyfikacji białek drożdżowych w końcu lat siedemdziesiątych (19). Najczęściej używanymi odczynnikami w procesie acylacji są bezwodniki kwasu octowego, propionowego, bursztynowego, maleinowego czy glutarowego. Acylowanie bezwodnikami kwasów monokarboksylowych zmniejsza liczbę kationowych grup reszt aminokwasowych, natomiast użycie bezwodników kwasów polikarboksylowych zwiększa bezwzględną liczbę ujemnych ładunków w cząsteczce białka i wprowadza dodatkowe grupy zdolne do modyfikacji. Proces prowadzony przy kwasowości czynnej pH 8,5 powoduje zwiększenie ładunku ujemnego cząsteczek białkowych na skutek zablokowania resztami bezwodników kwasowych wolnych grup aminowych. Następuje blokowanie głównie 6-aminowej lizyny i 2-aminowych większości pozostałych aminokwasów, a w dalszej kolejności hydrosulfidowej cysteiny, hydroksylowych — seryny i treoniny, a także fenolowej tyrozyny. Wysoki stopień zablokowania (ok. 80%) grup aminowych ma istotne znaczenie w zapobieganiu tworzenia się lizyloalaniny w białkach w środowisku alkalicznym.

W wyniku reakcji acylacji uwydatniają się różnice w ładunku białek i kwasów nukleinowych, co pozwala na przesunięcie punktu izoelektrycznego białka i umożliwia wytrącenie go w środowisku kwaśnym (pH 4,0-4,2). Modyfikacja ta pozwala na uzyskanie preparatów o zawartości ponad 90% białka i obniżonym do ok. 2% poziomie kwasów nukleinowych.

Bursztynylacja ze względu na zmiany w charakterze reszt aminokwasowych, wiąże się ze zmianą konformacji cząsteczek białkowych, której stopień zależy zarówno od właściwości białka, jak i od rodzaju bezwodnika kwasowego oraz stopnia acylacji.

Izolaty białkowe z drożdży otrzymane tą metodą uzyskują korzystniejsze właściwości funkcjonalne, takie jak: rozpuszczalność, lepkość, zdolności pianotwórcze i wyraźniejsza barwa (18). Zasadniczą wadą tej modyfikacji jest biologiczna inaktywacja lizyny, a tym samym obniżenie wartości odżywczej bursztynylowanego białka (30).

4. Metoda fosforylacji

Efektywną chemiczną fosforylację, w celu polepszenia właściwości funkcjonalnych białka, zastosowano po raz pierwszy w połowie lat osiemdziesiątych w USA (31). Wprowadza ona niewielkie zmiany strukturalne w cząsteczce białka, ograniczone do zwiększenia ilości ładunków ujemnych. Do fosforylacji białek żywności polecane są fosforan m-trisodowy (ang. STMP) (32,33) i tlenochlorek fosforu (POCl_3) (34,35). Reakcja fosforylacji przebiega w środowisku alkalicznym (pH 10,5-12,5) z grupami 6-aminowymi lizyny oraz hydroksylowymi seryny lub treoniny i w tych warunkach jest nieodwracalna. Po zmianie środowiska reakcji na kwaśne (pH 5,0) w przypadku lizyny następuje odblokowanie jej grupy aminowej, co jest ważne dla czasowej ochrony grupy funkcyjnej lizyny przed niekorzystnymi reakcjami (np. Mailarda), które powodują obniżenie wartości odżywczej białka, wynikające z nie przyswajalności tego aminokwasu w formie zablokowanej. Dodatkowo czasowa fosforoamidacja lizyny ma istotne znaczenie dla obniżenia poziomu kwasów nukleinowych w białku drożdżowym.

Cykliczny STMP uznawany jest za najmniej niebezpieczny fizjologicznie w porównaniu z innymi polifosforanami o prostych łańcuchach. Usunięcie ewentualnego nadmiaru odczynnika wymaga tylko dwustopniowej dializy wobec chlorku potasowego i wody.

Fosforylacja białka przy użyciu fosforanu m-trisodowego powoduje w przypadku białka drożdżowego, wzrost rozpuszczalności i zdolności wiązania wody, a także poprawę właściwości emulgujących i pianotwórczych (34-36).

W pierwszej połowie lat osiemdziesiątych ukazały się publikacje, w których do fosforylacji różnych białek drożdży stosowano tlenochlorek fosforu (POCl_3) w środowisku wodnym przy kwasowości czynnej pH 2,0-3,0 (35,37). W tych warunkach następuje jednak denaturacja białka, której można zapobiec stosując środowisko rozpuszczalników organicznych w niskich temperaturach i przy pH 5,0-9,0.

Fosforylacja grup funkcyjnych aminokwasów, głównie hydroksylowych seryny i treoniny, 6-aminowej lizyny oraz imidazolowej histydyny, a także w nieznacznym stopniu fenolowej fenyloalaniny i tyrozyny oraz grupy karboksylowej kwasu asparaginowego i glutaminowego, zachodzi dzięki dużej reaktywności POCl_3 i dwóch związków pośrednich, które stanowią produkt reakcji (31).

W wyniku działania tlenochlorku fosforu powstają w białku również wiązania poprzeczne, na które składają się prawdopodobnie mostki fosfodiesterowe, fosfodiamidowe i izopeptydowe. Jednocześnie w przypadku białek drożdżowych następuje wzrost rozpuszczalności, szczególnie w środowisku zbliżonym do obojętnego (pH 6,0-8,0) oraz polepszenie zdolności wiązania wody i zwiększenie możliwości emulgacyjnych (32,37).

Ze względu, na omówione niewielkie zmiany strukturalne w cząsteczce białka, proces fosforylacji, bez względu na stosowany odczynnik, nie wpływa w zasadniczy sposób na strawność fosforylowanych białek, a niektórzy autorzy wskazują nawet na niewielki (ok. 5%) jej wzrost (38).

5. Metoda sulfonolizy

Metoda sulfonolizy (utlenienie po siarczynolizie) została opracowana i zaproponowana do modyfikacji białek drożdżowych w drugiej połowie lat osiemdziesiątych (17). Podstawowy mechanizm tego procesu polega na redukcji wiązań disulfidowych, a następnie przekształceniu uwolnionych grup hydro-sulfidowych w pochodne sulfonowe. Do redukcji wiązań najczęściej stosuje się siarczan sodowy (IV), a utlenianie prowadzić można przy użyciu wielu czynników utleniających, takich jak np. kwas nadmanganowy, jony miedziowe, tlen cząsteczkowy, czterotioian sodowy i inne.

W świetle kontrowersji dotyczących stosowania siarczanów (IV) w żywności, stwierdzono doświadczalnie (16,17), że dodane podczas tego procesu siarczan i czterotioian sodowy można całkowicie usunąć w trakcie wytrącania białek i płukania lub dializy.

W badaniach wpływu sulfonolizy na właściwości funkcjonalne białek drożdżowych wykazano, że bez względu na zastosowany czynnik utleniający, następuje znaczna ich poprawa. Izolaty białkowe z drożdży charakteryzuje zwiększona pojemność absorpcji wody i tłuszczu oraz poprawa właściwości emulgacyjnych i pianotwórczych. Metoda ta nie wywiera jednocześnie niekorzystnego wpływu na strawność enzymatyczną uzyskanych izolatów, a w niektórych przypadkach następuje nawet niewielki jej wzrost (38,39).

Przewaga sulfonolizy nad innymi metodami chemicznej modyfikacji białek, w tym zakresie, polega, jak się wydaje, na tym, że wprowadzając tylko zamianę wiązań disulfidowych w pochodne sulfonowe, powoduje jedynie zmianę konformacji białek, czyniąc je bardziej podatnymi na hydrolizę enzymatyczną. Jednocześnie pochodne sulfonowe aminokwasów uważa się za żywieniowo bezpieczne. W następstwie sulfonolizy nie następuje obniżenie bioprzyswajalności aminokwasów egzogennych, a ewentualną desulfonację cząsteczek białkowych można przeprowadzić w środowisku kwaśnym.

Sulfonolizę obok fosforylacji można zatem traktować jako metody możliwe do zastosowania w procesach pozyskiwania preparatów białkowych z drożdży. Obydwie, nie powodują obniżenia strawności i wartości odżywczej białek, a jednocześnie nadają im pożądane, z technologicznego punktu widzenia, cechy funkcjonalne. Jednakże ostrożność w proponowaniu nowych, modyfikowanych białkowych preparatów drożdżowych, która musi cechować technologa żywności, skłania do zintensyfikowania długofalowych, niezbędnych doświadczeń żywieniowych i toksykologicznych w celu zapewnienia pełnej gwarancji co do braku jakichkolwiek przeciwwskazań w szerokim stosowaniu chemicznie modyfikowanych preparatów białkowych w żywieniu.

W tabeli 2 przedstawiono wpływ omówionych modyfikacji chemicznych na właściwości funkcjonalne i wartość odżywczą białek drożdżowych.

TABELA 2
WPLYW MODYFIKACJI CHEMICZNYCH NA WŁAŚCIWOŚCI FUNKCJONALNE
I WARTOŚĆ ODŻYWCZĄ BIAŁEK DROŻDŻOWYCH (40)

Modyfikacja chemiczna	Modyfikowany aminokwas	Zmiany spowodowane modyfikacją	
		właściwości funkcjonalne	wartość odżywcza
bursztynylacja (bezwodnik kwasu bursztynowego)	lizyna cysteina treonina seryna tyrozyna	rozpuszczalność wodochłonność zdolności emulgacyjne stabilność emulsji zdolności pianotwórcze	obniżenie (zablokowanie lizyny)
fosforylacja fosforan m-trisodowy — (STMP)	lizyna seryna treonina	rozpuszczalność wodochłonność zdolności emulgacyjne zdolności pianotwórcze	bez zmian (reakcja blokowania lizyny jest odwracalna)
tlenochlorek sodu — POCl_3	seryna treonina histydyna	zdolności emulgacyjne zdolności żelujące	bez zmian, niewielki wzrost strawności
sulfonoliza (Na_2SO_3 , związek utleniający)	cysteina	wodochłonność zdolność wiązania tłuszczu zdolności emulgacyjne zdolności pianotwórcze	bez zmian, niewielki wzrost strawności

Ostatnio nastąpił powrót zainteresowania stosowaniem tych metod w związku z potrzebą coraz szerszego wprowadzania do obrotu handlowego tzw. żywności funkcjonalnej lub specjalnego przeznaczenia (41), mimo że badania pozyskiwania preparatów białkowych z drożdży swój renesans przeżywały w latach osiemdziesiątych. Wiąże się to z występowaniem całego szeregu alergii na różne składniki żywności, w tym białka, a także potrzebą uzupełniania diety łatwo przyswajalnymi jej składnikami, głównie aminokwasami. Jest to szczególnie istotne w przypadku osób z upośledzonym wchłanianiem białek oraz wyczynowo uprawiających sporty siłowe (4,42,43). Cechą preparatów stanowiących odżywki wysokobiałkowe jest bardzo wysoka zawartość białka o dużej wartości odżywczej oraz ich dobra przyswajalność, którą poprawia się przez dodatek hydrolizatów białkowych oraz niektórych wolnych aminokwasów (44). Do pozyskiwania tych hydrolizatów często służą białka wyizolowane z komórek drożdżowych (21).

W ostatnich latach nie publikuje się w Stanach Zjednoczonych i krajach Europy Zachodniej prac dotyczących szczegółów metodycznych uzyskiwania preparatów białkowych, w tym hydrolizatów, co związane jest z zachowaniem tajemnicy producenta. Takie koncerny, jak Gist Brocades, Provesta Co., czy Red Star nie podają nawet na opakowaniach swoich wyrobów bliższych danych na temat pochodzenia produktu, np. rodzaju drożdży.

W badawczych ośrodkach amerykańskich i brytyjskich skupia się obecnie uwagę głównie na technikach modyfikacji genetycznej surowców różnego pochodzenia, przeznaczonych do produkcji nowej żywności i napojów o właściwościach odpowiednich dla danego celu (45,46). Wzbudza to jednak stałe kontrowersje szczególnie wśród konsumentów i wymaga osobnego omówienia.

Prace metodyczne dotyczące preparatów białkowych, publikowane w latach dziewięćdziesiątych, pochodzą zatem głównie z byłych krajów bloku wschodniego i dotyczą w mniejszym stopniu badań laboratoryjnych nad pozyskiwaniem odpowiednich preparatów z drożdży (47-49), a raczej wykorzystania biomasy drożdżowej jako potencjalnego źródła składników żywności (23,28,29,50,51).

Doświadczenia badawcze autorki, w dziedzinie niekonwencjonalnych źródeł białka, a szczególnie w zakresie otrzymywania preparatów białkowych z drożdży *Candida utilis* na drodze modyfikacji chemicznych (39,52,53) dotyczą głównie strawności enzymatycznej (54-58) i wartości odżywczej (59,60) oraz właściwości funkcjonalnych (61) koncentratów i izolatów białkowych.

W ostatnich latach, szczególnie w Stanach Zjednoczonych, dąży się do jak najszerszego wykorzystania, otrzymywanych różnymi metodami preparatów białkowych, w celu przygotowania produktów żywnościowych o specyficznych zastosowaniach, służących jako suplement zrównoważonej i urozmaiconej diety (62). Przeznaczone są one m.in. dla osób wymagających specjalnego żywienia, ułatwienia żywienia ludzi z upośledzonym wchłanianiem lub przebywających w warunkach wymagających dużego wysiłku. Często tego typu preparaty określa się jako „nutraceutyki”, które oznaczają produkt żywnościowy lub jego składnik o działaniu profilaktycznym lub leczniczym (6,63). Jednocześnie prowadzona jest tam szeroka akcja edukacyjna i promocyjna. Prawdopodobnie w niedalekiej przyszłości nastąpi również w naszym kraju wzrost zainteresowania i zapotrzebowania na tego typu preparaty.

Literatura

1. Gierhart D. L., Potter N. N., (1978), *Food Sci.*, 43, 1705-1713.
2. Lee C. H., Tsang S. K., Urakabe R., Rha C. K., (1979), *Biotech. Bioeng.*, 21, 1-6.
3. Mogren H., Hedenskog G., Enebel L., (1974), *Chem. Eng. Progr.*, 65, 93-98.
4. Schmidl M. K., Taylor S. L., Nordlee J. A., (1994), *Food Technol.*, 10, 77-85.
5. Hedenskog G., Mogreen H., (1973), *Biotech. Bioeng.*, 15, 501-508.
6. Hetherington P. J., Follows M., Dunnill P., Lilly M.C., (1973), *Trans. Inst. Chem. Engrs.*, 49, 142-145.
7. Linnane A., Vitols E., (1962), *Biochem. Biophys. Acta*, 59, 231-236.
8. Newell J. A., Robbins E. A., Seeley R. D., (1975), U.S. Patent 3 867 555.
9. Vananuvat P., Kinsella J. E., (1975), *J. Agric. Food Chem.*, 23, 613-616.
10. Wronowski S., (1978), *Przem. Spoż.*, 8, 89-92.
11. Gawęcki J., Jeszka J., (1995), *Żywnienie człowieka — ćwiczenia*, Skrypt AR, PWN, Poznań.
12. Informacja producenta Drożdży autolizowanych, Bio Springer, Francja.
13. Giec A., Skupin J., Stasińska B., (1987), Sprawozdanie z tematu OPBR 10-16/2.26., Poznań.
14. Kuzela L., Ruzickowa J., Masek J., Kejmar J., Frankowa S., (1978), *J. Nutr.*, 5, 25-32.
15. Prończuk A., Roszkowski W., (1977), *Żyw. Człow.*, 4, 4-8.

16. Damodaran S., (1986), *Am. Chem. Soc.*, 34, 26-31.
17. Damodaran S., (1986), *J. Agric. Food Chem.*, 34, 26-30.
18. Kinsella J. E., Shetty K. J., (1978), *Yeast proteins*, Ed. M. Friedman, Plenum, Publ. Co, Washington.
19. Shetty J., Kinsella J. E., (1979), *J. Food Sci.*, 44, 633-640.
20. Shetty J. K., Kinsella J. E., (1982), *J. Agric. Food Chem.*, 30, 1166-1171.
21. Mahmoud M. J., (1994), *Food Technol.*, 10, 89-95.
22. Kinsella J. E., Shetty K. J., (1979), *Advances in Biology*, 105, 38-58.
23. Lisztity R., (1991), *Intern. Food Ingred.*, 3, 4-7.
24. Hedenskog G., Ebbinghaus L. E., (1972), *Biotech. Bioeng.*, 14, 447-451.
25. Lindblom M., Mogreen H., (1974), *Biotechnol. Bioeng.*, 16, 1123-1124.
26. Gierhart D. L., Potter N. N., (1979), *Food Sci.*, 44, 2-10.
27. Matheis G., Penner M. N., Feeney R. E., Whitaker J. R., (1983), *Agric. Food Chem.*, 31, 379-387.
28. Nevolnichenko A. F., Pritulskaya N. V., Kravchenko M. F., Pavlyuchenko V. P., (1990), *Tovarovedenie*, 23, 39-41.
29. Toelle E., Toelle M., (1990), Patent DE 39 04 962 A1.
30. Siu M., Thompson L., (1982), *J. Agric. Food Chem.*, 30, 1179-1183.
31. Matheis G., (1991), *Food Chem.*, 39, 13-26.
32. Huang Y. T., Kinsella J. E., (1986), *Biotech. Bioeng.*, 28, 1690-1698.
33. Sung H., Chen H., Lin T., Siu J., (1983), *J. Food Sci.*, 48, 716-719.
34. Damodaran S., Kinsella J. E., (1984), *J. Agric. Food Chem.*, 32, 1030-1032.
35. Huang Y. T., Kinsella J. E., (1987), *J. Food Sci.*, 6, 1684-1688.
36. Giec A., Stasińska B., Skupin J., (1989), *Food Chem.*, 31, 279-288.
37. Huang Y. T., Kinsella J. E., (1986), *J. Agric. Food Chem.*, 34, 670-674.
38. Giec A., Stasińska S., Lampart-Szczapa E., Skupin J., (1989), *Acta Alim. Pol.*, 15, 63-66.
39. Stasińska B., (1993), *Przem Spoż.*, 3, 78-80.
40. Stasińska B., (1998), *Białka niekonwencjonalne i białka modyfikowane*, w: *Białka w żywności i żywieniu*, red. Gawecki J., Wyd. Danone-Fundacja Promocji Zdrowego Żywienia, Warszawa, 51-72.
41. Reilly C., (1994), *Trends Food Sci. Technol.*, 5, 121-123.
42. Cordle Ch.T., (1994), *Food. Techn.*, 11, 72-76.
43. Frokjaer S., (1994), *Food Technol.*, 10, 86-94.
44. Giese J., (1994), *Food Technol.*, 10, 50-60.
45. Aldhous P., (1990), *Nature*, 344, 186-188.
46. Buckholz R. G., Gleeson M. A. G., (1991), *Biotechnology*, 9, 1067-1072.
47. Einhorn-Stoll U., Kretschmar U., Lippert E., (1994), *Acta Biotechnol.*, 14, 379-385.
48. Lippert E., Krausse T., Kretschmar U., (1990), Patent DD 281 906.
49. Rajcheva-Roshkova Z. G., Djukiandje V. S. V., Pavlova K., (1989), *Nahrung*, 33, 319-325.
50. Baras J., Turubatovic L., Dobrosavljevic M., (1990), *Techn. Mesa*, 31, 222-225.
51. Stasińska B., (1994), *Chemiczne modyfikacje białek niekonwencjonalnych przeznaczonych do celów żywieniowych*, PTTŻ, Oddz. Wlkp., Poznań.
52. Stasińska B., (1992), *Streszczenia XXIII Sesji KTiCHŻ PAN*, Poznań, 223-224.
53. Stasińska B., (1993), *Streszczenia XXIX Zjazdu PT Bioch.*, Wrocław, 467.
54. Stasińska B., (1991), *Streszczenia XXII Sesji KTiCHŻ PAN*, Olsztyn, 66.
55. Stasińska B., (1994), *Streszczenia XXX Zjazdu PT Bioch.*, Szczecin, 287.
56. Stasińska B., Domoń A., (1995), *Materiały V Polskiej Konf. Chemii Analit.*, Gdańsk, 423.
57. Stasińska B., Iżemska M., (1993), *Streszczenia XXIV Sesji KTiCHŻ PAN*, Wrocław, 280.
58. Stasińska B., Mróz J., (1994), *Materiały V Środ. Konf. Nauk. Chemików*, Poznań, 210.
59. Stasińska B., (1996), *Streszczenia XXXII Zjazdu P.T. Bioch.*, Kraków, 327.
60. Stasińska B., Rączka A., (1996), *Streszczenia XXVII Sesji KTiCHŻ PAN*, Szczecin, 152.
61. Stasińska B., (1994), *Streszczenia XXV Sesji KTiCHŻ PAN*, Lublin, 27.
62. de Felice L., (1995), *Trends Food Sci. Technol.*, 6, 59-61.
63. Komorowska A. D., Stecka K. M., (1998), *Przem. Spoż.*, 3, 26-28.

Chemical methods of protein isolation from yeasts cells

Summary

The paper presents the problem of protein isolation from yeasts cells using alkaline extraction and chemical modification of protein. The influence of these procedures on functional properties, amino acids level, nutritional value and enzyme digestibility is discussed.

Key words:

yeast, alkaline extraction, succinylation, phosphorylation, sulfitolysis, functional properties, amino acids, nutritional value, enzyme digestibility.

Adres do korespondencji:

Bożena Stasińska, Katedra Biochemii i Analizy Żywności, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, ul. Mazowiecka 48, 60-623 Poznań.