

Wpływ wielkości komórek drożdży na kinetykę ich rozrywania w homogenizatorze ultradźwiękowym

A. Kacprowicz, M. Solecki

*Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska,
Politechnika Łódzka, Łódź*

Wewnątrz komórek mikroorganizmów znajduje się wiele cennych związków, np. białka, aminokwasy, witaminy i enzymy. Ich wyodrębnienie na ogół musi być poprzedzone zniszczeniem ścian komórkowych oraz błon cytoplazmatycznych. Do przeprowadzania procesu dezintegracji drobnoustrojów w skali laboratoryjnej stosowane są homogenizatory ultradźwiękowe. Występujące w nich mechanizmy, uwalniania wewnątrzkomórkowych związków, są złożone i niepoznane całkowicie.

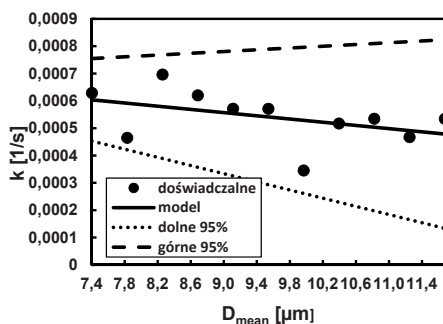
Celem pracy było zbadanie wpływu wielkości komórek drożdży na przebieg procesu dezintegracji ultradźwiękowej [Borthwick i in., 2005:207–216; Zheng i in., 2021:71–85; Nogueira i in., 2018:1–6].

Materiał badawczy stanowiły drożdże piekarskie *Saccharomyces cerevisiae*, wyprodukowane przez Lesaffre Polska S.A. w Wołczynie. Doświadczenia przeprowadzono dla stężenia zawiesiny komórek mikroorganizmów $0,05 \text{ g s.m./cm}^3$. Fazę ciągłą stanowiła sól fizjologiczna zawierająca $4 \text{ mM K}_2\text{HPO}_4$. Do przeprowadzenia procesu dezintegracji użyto ultradźwiękowy homogenizator VCX-500 (Sonics & Materials, Inc. USA). Urządzenie zostało wyposażone w kulistą komorę roboczą o objętości 100 cm^3 .

Przebieg procesu dezintegracji badano dwoma metodami: bezpośrednią i pośrednią. Kinetykę rozrywania komórek określano na podstawie liczby żywych mikroorganizmów, obecnych w pobieranych podczas procesu próbkach zawiesiny. Przeprowadzono pomiary parametrów morfologicznych komórek drożdży, takich jak: średnica minimalna – $D_{\min}$, średnia – D_{mean} i maksymalna – $D_{\max}$. Do określenia wymienionych wielkości wykorzystano mikroskop badawczy BX51TF (Olympus, Japonia), kamerę mikroskopową XC 50 (Olympus, Japonia) i komputerowy program do analizy obrazów analySIS 5 (Soft Imaging System, USA). Stopień uwolnienia związków wewnątrzkomórkowych ustalano metodą spektrofotometryczną poprzez pomiar absorpcji przy długości fali 260 nm. Jest ona charakterystyczna dla występowania maksimów widm spektralnych kwasów nukleinowych. Te badania przeprowadzono za pomocą spektrofotometru lambda 11 (Perkin Elmer, USA).

Kinetykę procesu rozrywania komórek drożdży, rozważanych jako jeden zbiór, opisano równaniem liniowym pierwszego rzędu, podobnie jak kinetykę procesu uwalniania związków wewnątrzkomórkowych. Otrzymane wartości współczynnika R^2 wynosiły odpowiednio 0,9673 i 0,9970. Wyznaczone wartości stałej szybkości uwalniania związków wewnątrzkomórkowych były nieznacznie niższe od stałej szybkości rozrywania komórek.

W zakresie badanych parametrów morfologicznych drożdży wykazano znaczne zróżnicowanie wielkości komórek. Parametr $D_{\min}$ zmieniał się w zakresie od 6,18 do 10,94 μm , D_{mean} od 7,19 do 11,89 μm , a $D_{\max}$ od 7,62 do 13,24 μm . Dla zbioru komórek mikroorganizmów zbudowano szereg rozdzielczy składający się z 11 klas rozmiarowych.



Rys. 1. Wpływ wielkości drożdży *S. cerevisiae* (opisanych wartością średnią parametru D_{mean}) na stałą szybkości rozrywania ścian komórkowych

Źródło: opracowanie własne.

Kinetykę procesu rozrywania komórek w poszczególnych klasach rozmiarowych dla D_{min} , D_{mean} i D_{max} opisano liniowym równaniem różniczkowym pierwszego rzędu. Przykładowe rezultaty otrzymane dla D_{mean} zamieszczono na rysunku 1. Wartości współczynnika R^2 na ogół zawierały się w przedziale od 0,8176 do 0,9030. Nieliczne, najniższe wartości rzędu 0,7, na ogół wiązały się z małą liczbą osobników obecnych w danej klasy rozmiarowej.

Wraz ze zwiększaniem D_{min} , D_{mean} i D_{max} wykazano nieznaczny spadek stałej szybkości rozrywania komórek (rysunek 1). Rezultat ten jest odmienny od występującego podczas dezintegracji drożdży w młynie perłkowym. Rozrywanie komórek drożdży *S. cerevisiae* za pomocą kulek dla największej klasy rozmiarowej zachodzi prawie 10 razy szybciej niż dla najniższej [Solecki i in., 2021:584–597].

Bibliografia

Borthwick K.A.J., Coakley W.T., McDonnell M.B., Nowotny H., Benes E., Grfschl M., (2005), *Development of a novel compact sonicator for cell disruption*, "Journal of Microbiological Methods", vol. 60, s. 207–216.

Nogueira D.A., da Silveira J.M., Vidal E.M., Ribeiro N.T., and Burkert C.A.V., (2018), *Cell Disruption of Chaetoceros calcitrans by Microwave and Ultrasound in Lipid Extraction*, "International Journal of Chemical Engineering", vol. 2018, s. 1–6.

Solecki M., Trawińska A., Kacprowicz A., (2021), *The effect of cell size on the kinetics of yeast disintegration in a bead mill*, "Powder Technology", vol. 380, s. 584–597.

Zheng S., Zhang G., Wang H.J., Long Z., Wei T., Li Q., (2021), *Progress in ultrasound-assisted extraction of the value-added products from microorganisms*, "World Journal of Microbiology and Biotechnology", vol. 37, s. 71–85.