

VIZSGÁLATOK AZ ÉLESZTŐK AERÓB ERJESZTÉSÉRŐL

ZSOLT JÁNOS

(Érkezett: 1954. június 30-án)

Sokszor előfordul, hogy meg kell határoznunk az élesztők erjesztésének sebességét aerób körülmények között. A mérés kivitele általában nem jelent különösebb nehézséget a Warburg-technika alkalmazásával. Ha azonban az aerób körülmények között folyó erjesztés sebességét kis mennyiségű cukor mellett mérjük (pl. azért, mert összefüggés van valamely alkalmazott hatóanyag és a jelenlevő cukor mennyisége között) komoly komplikációk lépnek fel, melyek közelebbi vizsgálatra szorulnak.

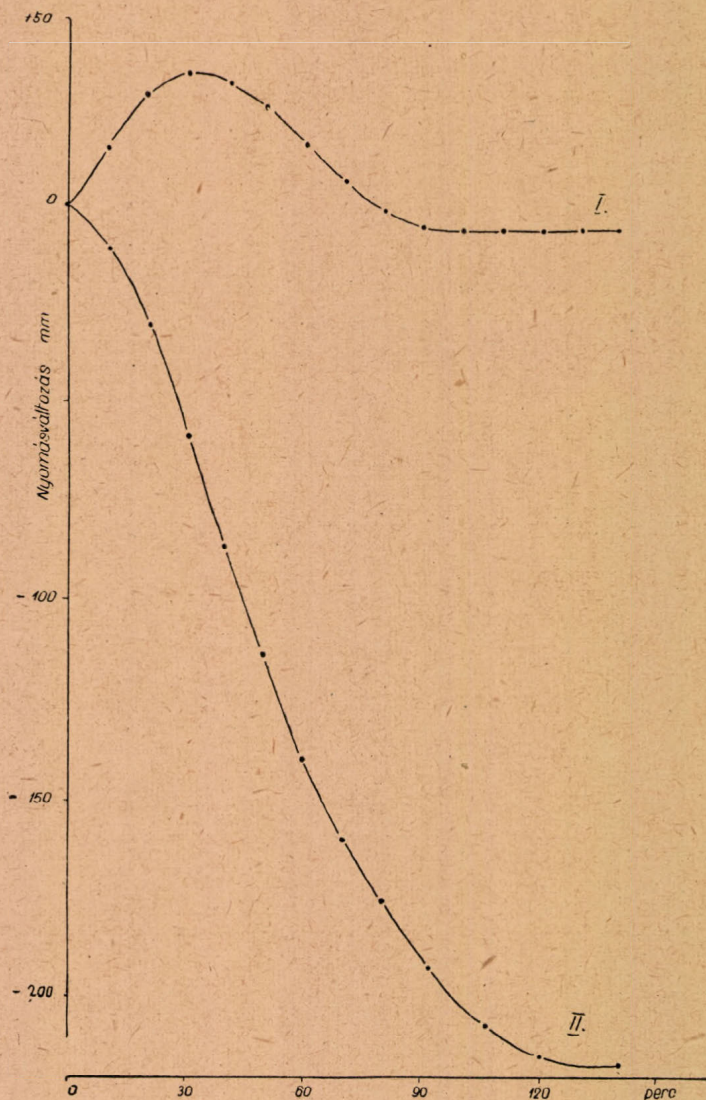
Kísérleti anyag és módszer

Vizsgálataimhoz kereskedésbeli pékélesztőt használtam. 0,5 g-ot szuszpendáltam belőle 100 ml M/15 KH_2PO_4 -oldatban és a szuszpenzióból 2—2 ml-t mértem a Warburg-edényekbe. Az oldalkörtékbe 0,2—0,2 ml szubsztrátum-oldat került. Légzés (oxigénfogyás) mérés esetén az edénykék középterébe 0,1 ml 5%-os KOH oldatot is tettem. Az edénykék a manométerekre szerelve a készülék vízfürdőjébe kerültek, a hőfok átvétele után a szubsztrátumot a szuszpenzióhoz buktattam és megkezdtém a mérést.

Kísérleti eredmények és megbeszélésük

A fenti körülmények között 0,2% glukóz jelenlétében 140 percen át 10 percenként végzett leolvasások eredményét az *I. ábra* tünteti fel. Az abszcissza az időt, az ordináta a leolvasott nyomásváltozást tünteti fel mm-ekben.

Mint látjuk, aerób körülmények között a nyomás a várakozásnak megfelelően először emelkedik, majd csökken és valamivel a kiindulási érték alatt állandóvá válik (*I. görbe*). Ez utóbbi jelenség is várható: aerób körülményekről lévén szó, a glukóz végül is széndioxiddá és vízzé oxidálódik. Ennek a folyamatnak respirációs kvóciense 1, tehát nyomásváltozás csak a széndioxid és az oxigén közötti oldékonyság-különbség miatt jelentkezhethet. Valóban jelentkezik is az eredetihez képest kis mértékben csökkent nyomásban. A középtérben KOH-t tartalmazó edénykékben egyidejűleg végzett oxigénfogyás-mérés azonban azt mutatja, hogy a nyomás csökken még oxigénfogyasztás következtében azután is, hogy a KOH nélküli edénykékben állandóvá vált (*II. görbe*). Ez azt jelenti, hogy ilyenkor egy olyan anyag oxidációja folyik, melynek a respirációs kvóciense 1.



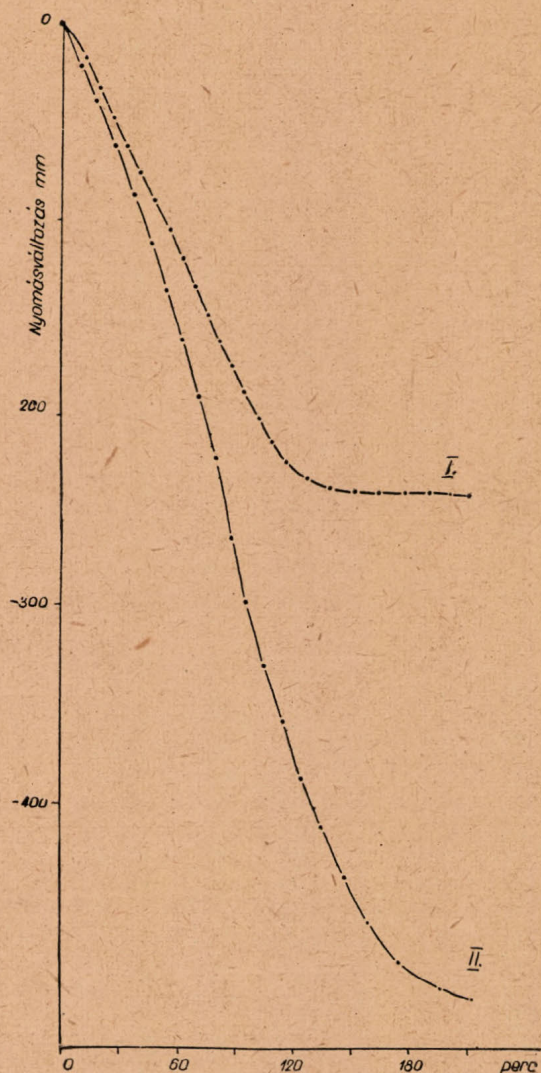
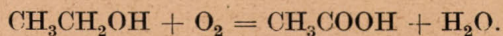
I. ábra. Péklesztő anyagszerje következtében létrejövő nyomásváltozás Warburg-technikával mérve aerób körülmények között, 30 fokon, 0,2% kezdeti glukóz-koncentráció esetén. I.: »erjedés« (az edényke középterében lúg nincs). II.: légzés (oxigénfogyás; az edényke középterében lúggal)

Рис. 1. Изменение давления вследствие обмена веществ (хлебопекарных) дрожжей, измеряемое с техникой Варбурга, при аэробных условиях, и при 30°, в случае 0,2%-ной исходной концентрации глюкозы. I: „брожение“ в (середине чашки нет щелочи), II: дыхание (убывание кислорода; в середине чашки есть щелочь)

Figure 1. Change in pressure caused by metabolism of baker's yeast, measured by the Warburg method, under aerobic conditions at 30° C, with 0,2% initial glucose concentration. I: »fermentation« (there is no alkali in the central part of the vessel). II: Respiration (oxygen consumption, with alkali in the central part of the vessel).

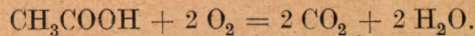
Hogy nem az élesztősejt saját anyagáról van szó, mutatja, hogy szubsztrátum nélküli edényekben a nyomás nem változik lényegesen.

A jelenség magyarázatára feltételezem, hogy az erjedéssel keletkezett etanol oxidálódik először ecetsavvá, mégpedig elég gyorsan. Ez okozza a nyomáscsökkenést :

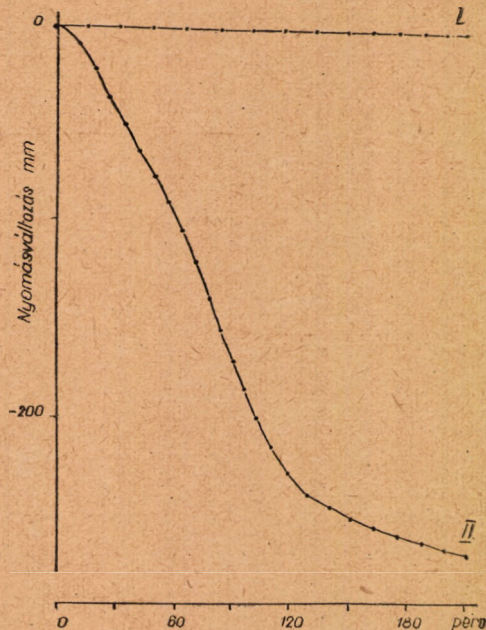


2. ábra. Mint az 1. ábra, de glukóz helyett 0,1% etanol
 Рис. 2. Как рис. 1., однако вместо глюкозы 0,1%-ный этанол
 Figure 2. As Figure 1 but 0,1% ethanol instead of glucose

A keletkezett ecetsav jóval lassabban tovább oxidálódik vízzé és széndioxiddá. A nyomás állandóvá válása után már csak ez a folyamat megy végbe. A lúgos edénykében egyidejűleg észlelt nyomáscsökkenés jelzi, hogy oxigénfogyás még van. A lejátszódó folyamat :



0,1% etanol, ill. ugyanannyi ecetsav mint szubsztrátum jelenlétében végzett méréseim mindenben támogatják a fenti elképzelést (2. és 3. ábra). A döntő bizonyítékot persze csak a folyamat kémiai követése fogja megadni.



3. ábra. Mint az 1. ábra, de glukóz helyett 0,1% ecetsav

Рис. 3. Как рис. 1, однако вместо глюкозы 1%-ная уксусная кислота

Figure 3. As Figure 1 but 0,1% acetic acid instead of glucose

Az etanol oxidációja minden valószínűség szerint akkor is lefolyik, ha több cukor van jelen, de az erjedés következtében egyre emelkedő nyomás nem engedi ilyen kifejezetten érvényre jutni. Az általa okozott hibát legegyszerűbben a szubsztrátum hozzáadása után azonnal elkezdett méréssel lehet csökkenteni.

Összefoglalás

Az élesztőkön Warburg-készülékben aerób körülmények között végzett erjedés-méréseket zavarja a keletkezett etanol további oxidációja. Ez a folyamat jól szétválasztható két részre :

1. az etanol aránylag gyors oxidációja ecetsavvá, mely térfogatcsökkenéssel jár ;

2. az ecetsav oxidálása széndioxidá és vízzé, mely jóval lassabban megy végbe térfogatváltozás nélkül.

Ecetsav, ill. alkohol használata szubsztrátumként támogatja ezt a magyarázatot.

Az oxidáció okozta hiba csökkentésére célszerű a mérést a szubsztrátum hozzáadása után azonnal elkezdni.

ИССЛЕДОВАНИЯ АЭРОБНОГО БРОЖЕНИЯ ДРОЖЖЕЙ

Я. Жольт

Резюме

Дальнейшее выяснение полученного этанола мешает измерению брожения дрожжей, проведенному при аэробных условиях с помощью аппарата Варбурга. Этот процесс хорошо можно разделить на две фазы:

1. Сравнительно быстрое окисление этанола в уксусную кислоту, что сопровождается уменьшением объема.

2. Окисление уксусной кислоты в двуокись углерода и воду, что происходит медленнее, без уменьшения объема.

Такое объяснение подтверждается применением уксусной кислоты или же спирта в качестве субстрата.

Для уменьшения вызванной окислением ошибки, целесообразно приступить к измерению тотчас же после добавления субстрата.

INVESTIGATIONS ON THE AEROBIC FERMENTATION OF YEASTS

JÁNOS ZSOLT

Summary

Fermentation measurements made on yeasts under aerobic conditions in a Warburg apparatus are deranged by the further oxidation of engendered ethanol. This process is easily separated into two parts:

1. The relatively rapid oxidation of ethanol into acetic acid, which is accompanied by a decrease in volume.

2. The oxidation of acetic acid into carbon dioxide and water, which takes place much more slowly, without loss in volume.

The use of acetic acid or alcohol as substratum supports this explanation.

To reduce error caused by oxidation it is advisable to begin measurements immediately after applying the substratum.