

# Štúdium biochemických rozdielov dvoch druhov pekárskeho droždia

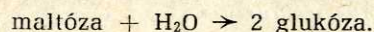
GINTEROVÁ A., STUHLÍK V., MITTERHAUSZEROVÁ L., Ústredný výskumný ústav potravinárskeho priemyslu, pobočka Bratislava

664.642/646

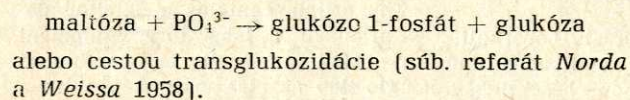
Rozdiel skvasovania disacharidov ako sú sacharóza a maltóza medzi biologicky aktívnym droždím, napr. anglickým a medzi u nás dosiaľ vyrábaným, zrejme spočíva v prvej fáze degradácie týchto disacharidov, to znamená v tom, akým spôsobom sa tieto cukry dostávajú do štádia hexózy, z ktorých sa skladajú. V tomto stupni možno hľadať rozdiely medzi jednotlivými druhmi pekárskych kvasiniek, pretože ďalší metabolizmus hexózy (glukózy, fruktózy), prebieha pravdepodobne u všetkých východných disacharidov rovnako, a to fosforyláciou cukrov na cukorné éstery a postupným štiepením a ďalšou fosforyláciou až na kyselinu pyrohroznovú, ktorá v anaerobných podmienkach kysnutia cesta, účinkom karboxylázy sa mení na kyslík uhlíčitý a acetaldehyd, ktorý sa ďalej hydroxykozymázou redukuje na etanol.

Preto pri štúdiu rozdielov medzi u nás priemyselne vyrábaným droždím a droždím s vysokou aktivitou v ceste treba predovšetkým venovať pozornosť prvým fázam štiepenia disacharidov.

V starších prácach z konca minulého a začiatku tohto storočia sa predpokladalo, že štiepenie disacharidov prebieha cestou hydrolýzy, teda napr.:



V novších prácach sa stretávame s názormi, podopretými experimentálnymi výsledkami, že štiepenie maltózy môže prebiehať cestou fosforylácie, teda:



## Metodika a materiál

Merania sme prevádzali na Warburgovom respirometri. Príprava suspenzií pre merania sa prevádzala takým spôsobom, ako v našich predchádzajúcich prácach (Ginterová a spoluprac. 1960; Stuhlík a spoluprac. 1960). Biologicky aktívne droždie sme získavali pomnožením kmeňov, izolovaných a šľachtených v našom laboratóriu. Pre porovnanie slúžili rôzne vzorky trenčianskeho droždia, získané jednak z výroby a jednak pomnožením kultúry v našom laboratóriu v tých prípadoch, kde šlo o priame porovnávanie pokusy. Sledovanie výšky koeficientov v priebehu priemyselnej fermentácie sa prevádzalo v Kvasnom priemysle, n. p., Trenčín.

## Výsledky a diskusia

Podobne ako v práci Leibowitza a Hestrina (1945) i v našich pokusoch sme v sledovaných vzorkách biologicky aktívneho droždia pozorovali vyššie koeficienty  $\text{CO}_2$  na maltóze ako na glukóze (tabuľka 1).

Tabuľka 1

$Q_{\text{CO}_2}^{\text{CO}_2}$  na maltóze a glukóze ako substrátoch u rôznych vzoriek biologicky aktívneho droždia

Vzorka č.	Maltóza	Glukóza
1	420,7	331,5
2	398,0	310,6
3	408,4	301,7
4	409,3	328,9
5	365,0	331,6

Údaje v tabuľke sú vyňaté z pokusov s výberovým šľachtením kvasiniek, preto sú koeficienty u jednotlivých vzoriek tak vysoké.

Skutočnosť, že kvasinky lepšie kvasia maltózu ako glukózu, by sa dala vysvetliť tým, že už samotným rozštiepením maltózy vzniká *Coriho* éster, glukóza 1-fosfát, podobne ako pri štiepení glykogénu, čím je pripravený substrát pre zmenu na *Robinsonov* éster a tak ďalej metabolickou cestou degradácie glycidov. Zároveň to naznačuje, že zmena vzniklého glukózo 1-fosfátu na glukózo 6-fosfát za katalytického účinku hexózo izomerázy je pre metabolický systém bunky výhodnejšia, ako priama fosforylácia glukózy systémom ATP na glukózo 6-fosfát.

Je ďalej pozoruhodné, že biologicky aktívne droždie skvasuje skoro rovnako intenzívne sacharózu i maltózu. Rozdiely možno pripísať jednak chybám merania a ďalej tomu, že pH 4,5, pri ktorom sa merania prevádzali, nie je optimálne pre skvasovanie oboch cukrov, ale len pre sacharózu, zatiaľ čo optimálne pH pre skvasovanie maltózy je o niečo vyššie. Údaje, uvedené v tabuľke 2 názorne ilustrujú, že výšky  $Q_{\text{CO}_2}^{\text{CO}_2}$  na spomínaných dvoch substrátoch sú skutočne sebe blízke.

Tabuľka 2

$Q_{\text{CO}_2}^{\text{CO}_2}$  rôznych vzoriek biologicky aktívneho droždia na maltóze a sacharóze ako substrátoch

Vzorka č.	Maltóza	Sacharóza
1	99,3	99,9
2	241,5	214,1
3	299,2	262,3
4	117,9	126,2
5	149,7	168,5

Keď si na druhej strane povšimneme výsledkov, ktoré získal Barica (1959) pri príprave koncentrátov  $\alpha$ -D-fruktozidázy, dochádzame k prekvapujúcim výsledkom. V našich pokusoch sme totiž zistili, že skvasovanie sacharózy trenčianskym droždím a biologicky aktívnym droždím je skoro rovnako intenzívne. Náhodne vybrané výsledky, zosumované v tabuľke 3 sú toho dôkazom.

Rozdiely v koeficientoch rozhodne nie sú vysoké a hodnotené štatisticky sú skoro na hraniciach preukaznosti. I keď malé rozdiely existujú, hovoria v prospech trenčianskeho droždia a nie biologicky



Tabuľka 3

$Q_{CO_2}^{CO_2}$  na sacharóze u rôznych vzoriek biologicky  
aktívneho a trenčianskeho droždia

Biol. aktívne droždie	Trenčianske droždie
269,0	271,4
169,8	182,0
233,8	250,3
290,6	275,8
145,5	199,7

aktívneho. Barica však vo svojej práci udáva neporovnateľne vyšší obsah  $\beta$ -h-fruktozidázy u droždia biologicky aktívneho ako u trenčianskeho. Vzniká tu teda otázka, ako je možné, že skvasovanie sacharózy, merané Warburgovým aparátom u týchto dvoch druhov droždia je rovnako intenzívne, prípadne trochu vyššie u trenčianskeho a pritom sa získavajú enzýmatické prípravky  $\beta$ -h-fruktozidázy s tak rozdielnou aktivitou, kde aktivita je vyššia u biologicky aktívneho droždia.

Zo všetkých uvedených skutočností vyplýva, že systém štiepenia maltózy u biologicky aktívneho droždia je iný, ako u trenčianskeho a ostatných, u nás vyrábaných vzoriek (výsledky sú podobné ako u trenčianskeho droždia, preto sme ich zvlášť neuvádzali). Je možné, čo je však nutné ešte experimentálne dokázať, že v prípade biologicky aktívneho droždia sa i maltóza i sacharóza štiepi podobným enzýmatickým systémom.

Pozoruhodná je i práca Kotyka (1959), ktorý zistil, že u anglického droždia po pridaní glukózy nedochádza k poklesu kyselinorozpustného fosforu, zatiaľ čo u našich vzoriek k tomu dochádza. V našich experimentoch sme sledovali hodnoty  $Q_{CO_2}^{N_2}$  u pekárského droždia v priebehu priemyselnej fermentácie. Je zaujímavé, že koeficienty na maltóze boli veľmi vysoké, i keď nižšie ako na glukóze a sacharóze, ako je to uvedené v tabuľke 4. Tabuľka znázorňuje priebeh polokontinuítnej fermentácie v štvorkačovom systéme. Ku koncu fermentácie koeficienty na maltóze mierne poklesli a u liberkovaného expedičného droždia už boli nezrovnateľne nízke (20 až 30 mikrolitrov za hodinu na mg sušiny). Tiež poklesli, pravda nie tak výrazne, i koeficienty na sacharóze a glukóze.

U biologicky aktívneho droždia sa nám podobný jav nepodarilo pozorovať, sledovali sme však len fermentáciu v malom, 120 l tančíku do objemu 70 až 80 litrov. V tomto prípade, na rozdiel od trenčianskeho droždia u premytých, skladovaných vzoriek vždy výška  $Q_{CO_2}^{CO_2}$  na maltóze stúpala a zachovala si stúpajúcu tendenciu po niekoľko dní. Preto sa domnievame, že rozdiely medzi droždím s vysokou biologickou aktivitou a našim priemyselným droždím nemožno pripisovať len rôznemu fyziologickému stavu, ako to uvádza Kotyk (1959).

Zaujímavý je i vplyv substrátu na jednotlivé druhy droždia. Pasážovanie vzoriek aktívneho droždia na melase i po dlhší čas prakticky nemalo vplyv na výšku  $Q_{CO_2}^{CO_2}$  pri použití maltózy ako substrátu, rovnako ako pasážovanie na sladine. U trenčianskeho droždia naopak, pasážovanie na melase znižovalo hodnoty  $Q_{CO_2}^{CO_2}$ , merané v roztoku maltózy a pasážovanie na sladine ich zvyšovalo. Tieto pokusy budú podrobnejšie rozvedené v našej ďalšej práci.

### Súhrn

Z vyššie uvedených výsledkov vyplýva, že rozdiel medzi biologicky aktívnym a našim predajným droždím je veľký a hlboko biochemicky podmienený. Charakterizuje to i výška respiračných koeficientov, ktorá sa u trenčianskeho droždia na maltóze pohybuje tesne okolo 1 a často pod 1, zatiaľ čo u biologicky aktívneho droždia sú oveľa vyššie a u niektorých našich šľachtených kmeňov presahujú hodnotu 3. To hovorí o vyslovene kvasnom type droždia biologicky aktívneho. Je zaujímavé, že pritom si toto droždie zachováva veľkú množivú schopnosť a výťažnosť biomasy pri fermentáciách sú prinajmenšom tak vysoké, ako u trenčianskeho droždia a často vyššie.

Domnievame sa, že hlavné rozdiely medzi sledovanými dvomi druhmi pekárského droždia budú spočívať:

1. V rozdielnom mechanizme štiepenia maltózy,
2. V tom, že systém, ktorý štiepi sacharózu bude u biologicky aktívneho droždia podobný (ak nie identický) so systémom, štiepiacim maltózu.

Tabuľka 4

Výsledky stanovenia  $Q_{CO_2}^{N_2}$  v priebehu priemyselnej fermentácie polokontinuítnej  
4-kačovým systémom, získané v Kvasnom priemysle, n. p., Trenčín

Odoberanie vzorky po	I. kača			II. kača			III. kača			VI. kača		
	G	S	M	G	S	M	G	S	M	G	S	M
máčanie násadného droždia vo vode	273,2	303,9	106,1									
máčanie násadného droždia v roztoku kyseliny mliečnej	338,9	311,1	110,2									
1. hodine fermentácie	332,9	335,3	165,0									
3. hodine fermentácie	300,1	316,6	234,0	296,8	251,3	161,4	313,8	322,0	189,4	316,5	346,6	258,3
6. hodine fermentácie	328,2	315,3	232,9	315,5	333,7	241,7	215,4	344,5	231,2	305,1	304,9	240,7
9. hodine fermentácie	283,9	286,8	176,5	255,9	286,8	179,2	285,3	272,9	176,2	285,2	324,4	229,7
12. hodine fermentácie	237,2	240,7	130,1	256,1	271,4	137,8	226,2	239,7	134,0	257,9	275,5	150,0

G —  $Q_{CO_2}^{N_2}$  merané v roztoku glukózy

S —  $Q_{CO_2}^{N_2}$  merané v roztoku sacharózy

M —  $Q_{CO_2}^{N_2}$  merané v roztoku maltózy

Údaje v prvých troch riadkoch sa týkajú násadného droždia (II. generácia).



## Literatúra

- [1] Barica S.: Výskum prípravy koncentrátu  $\beta$ -h-fruktozidázy pre účely cukrovinkárskeho priemyslu a pre výrobu perníkov. Záverečná zpráva na ÚVÚPP, Bratislava, 1959.
- [2] Ginterová A., Mitterhauszerová E., Polányi E.: Príspevok k štúdiu pekárskych vlastností biologicky aktívneho droždia. I. Analytické porovnanie vlastností expedičného droždia. Chem. zvesti (v tlači), 1960.
- [3] Kotyk A.: Contribution to the problem of phosphorylation in yeast. Folia microbiologica 4, 23 (1959).
- [4] Leibowitz J., Hestrin S.: Alcoholic fermentation of the oligosaccharides. Advances in Enzymology 5, 87 (1945).
- [5] Nord F. F., Weiss S.: Fermentation and respiration. Z knihy The chemistry and biology of yeasts, New York 1958.
- [6] Stuchlík V., Ginterová A., Mitterhauszerová E.: Štúdium vzťahu medzi klasickou a manometrickými metódami určovania kvality pekárskeho droždia. Technika výkupu, mlyn, a pek. (v tlači) 1960.

Došlo do redakcie 21. 6. 1960.

ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ  
РАЗЛИЧИЙ ДВУХ СОРТОВ  
ПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ

STUDIUM BIOCHEMISCHER UNTER-  
SCHIEDE ZWISCHEN ZWEI BACK-  
HEFETYPEN

COMPARISON OF BIOCHEMICAL  
PROPERTIES OF TWO SORTS  
OF BAKER'S YEAST

В статье приводятся результаты изучения способности дрожжей ферментировать дисахариды. Сравнительные испытания импортированных (британских) и отечественных дрожжей показали биохимические причины различий.

Es wurden die Unterschiede in der Fähigkeit Disaccharide zu vergären, zwischen zwei Hefetypen studiert, von denen einer ausländischer (englischer) und der zweite inländischer Herkunft war. Es wurde festgestellt, dass diese Unterschiede tief biochemisch bedingt sind.

The ability of yeast to ferment disaccharides have been studied on two samples, one of which was imported from England, the second manufactured in Czechoslovakia. Different behaviour of two sorts of yeast are due to their biochemical features.