

Vzťah medzi endogennou respiráciou a trvanlivosťou pekárskeho droždía

LUDMILA MITTERHAUSZEROVÁ, ANASTÁZIA GINTEROVÁ, VÁCLAV STUHLÍK, Ústredný Výskumný ústav potra-
vinárskeho priemyslu, pracovisko Bratislava 664.642/646

Najpoužívanejšou metodikou, ktorou stanovujú trvanlivosť vo väčšine nielen domácich ale i zahraničných droždiarní je termostatová skúška, ktorá sa u nás robí za podmienok, definovaných v JAM. Spočíva v tom, že sa asi 1 cm hrubý blok liberkovanej droždie, zabalený v papieri a uložený v Petriho miske ponechá v termostate pri 35° C a kontroluje sa doba, za ktorú droždie prejde v dôsledku autolýzy do tekutého stavu. Pri všetkej jednoduchosti má táto skúška veľkú nevýhodu v tom, že výsledky sa získajú iba v priebehu niekoľkých dní, keď je už droždie expedované, takže výsledky možno použiť už iba na overenie reklamácií a prípadne štatistické hodnotenie akosti droždie. Hlavný cieľ, ktorý by však skúška trvanlivosti v droždiarňach mala sledovať, t. j. poskytnúť podklady pre cieľavedomú expedáciu, z pochopteľných dôvodov v takomto usporiadaní nespĺňa. Ďalším veľkým nedostatkom tejto metódy je, že výkyvy vlhkosti vzduchu v termostate majú veľký vplyv na výsledok stanovenia, ba veľmi často sa stáva, že samotné paralelné vzorky, rezané z jednej liberky a súčasne analyzované, dávajú veľmi rozdielne výsledky. V našej práci sa nám napríklad vyskytli prípady, kde jeden z takto rezaných bločkov prešiel do tekutého stavu po 24 hodinách, jeden po 72 hodinách a jeden po 98 hodinách. Okrem toho je metodika zaťažená ešte chybou subjektívneho posudzovania.

Preto boli hľadané iné, vhodnejšie metodiky, ktoré by sa dali použiť v praxi a nemali by vyššie spomínané nedostatky. Časovo úspornejšie ale značne pracnejšie je švédsky spôsob stanovenia trvanlivosti [cit. z [13]], ktorý je založený na stanovení doby kysnutia u čerstvých kvasníc a u kvasníc, ponechaných 24 hod pri 35° C jednak vo vlhkej a jednak v suchej atmosfére termostatu. Z rozdielov takto stanovených dôb kysnutia sa usudzuje na trvanlivosť, pričom trvanlivosť droždie je tým lepšia, čím sa menej predĺži doba kysnutia po vystavení kvasníc nevhodným podmienkam. Za medznú hodnotu sa považuje predĺženie doby kysnutia o 10 minút, čo už značí droždie s trvanlivosťou len asi 6 dní.

Viac autorov sledovalo vzťah medzi trvanlivosťou droždie a jeho glycidovým zložením (Trevelyan, Forrest a Harrison [12]), Górzynska [4], trvanlivosťou a hladinou voľných aminoskupín pri predpokladanej proteolýze, alebo medzi trvanlivosťou a hladinou niektorých organických kyselín, ktoré fungujú ako medziprodukty pri glykolýze Rüffer [8], prípadne niektorými sekundárnymi zmenami, ktoré sa týmito pochodmi vyvolávajú Bergander a Bahrmann [1, 2]. Górzynska napríklad uvádza korelačné krivky medzi trvanlivosťou a hladinou glykogénu, a medzi trvanlivosťou a hladinou aminodusíka. Bergander a Bahrmann udávajú stanovenie trvanlivosti na základe zmeny pH, prípadne oxydoredukčného potenciálu, ku ktorým dochádza v ich pokusných podmienkach. Zo starších prác treba spomenúť Bermanna a Pollacka [3], ktorí uvádzali do vzťahu trvanlivosť s tlmivou schopnosťou kvasničnej šťavy, ale Stuchlík [11]

dokázal, že tento vzťah platí len veľmi približne a vplyva naň mnoho faktorov. Jonáš a spolupracovníci [6] navrhli jednoduchú metódu zisťovania trvanlivosti droždie na základe merania elektrickej vodivosti. Metóda má svoje teoretické oprávnenie, ale výsledok ňou možno získať podľa údajov autorov až na tretí deň.

Zaujímavú zmienku a naznačenie vzťahu medzi endogennou respiráciou a trvanlivosťou uvádza Rüffer [8]. Výšku endogennej respirácie u pekárskych kvasníc sledoval Schramek [9], ktorý však svoje výsledky neuvádzal do vzťahu s trvanlivosťou.

V našej práci sme sa zamerali na podrobnejšie preštudovanie tohto vzťahu. Ako každá z vyššie spomínaných prác i naša je postavená na niekoľkých zjednodušených predpokladoch, ktoré budú rozobrané v ďalšom.

Metodika

Stanovenie trvanlivosti sme prevádzali obvyklou metodikou podľa JAM. Endogennú respiráciu sme stanovovali na Warburgovom aparáte meraním spotreby kyslíka a produkcie CO₂. Meranie sa prevádzalo vo fosfátovom pufrí o pH 4,5. Do nádobiek respirometra sme pipetovali po 2 ml fosfátového pufru, 1 ml kvasničnej suspenzie o sušine 13 až 15 mg/ml a do centrálneho cylindrička nádobky 0,2 ml 40% KOH (príp. vody), do ktorého sa ponorila harmonička z filtračného papiera. Meranie sme prevádzali pri 30° C, odčítavali sme v desaťminútových intervaloch a z údajov vypočítavali Q_{O2}, Q_{CO2}, prípadne RQ.

Výsledky a diskusia

Naše pokusy zisťovania anaerobnej glykolýzy v atmosfére dusíka a v bikarbonátovom prostredí nepriniesli kladné výsledky napriek tomu, že vo vyššie spomínaných prácach (napr. Rüffer) sa udáva chromatograficky zistená tvorba kyseliny mliečnej.

Výsledky, získané s rôznymi vzorkami pekárskeho droždie (Trenčín, Krásne Březno, Olomouc, Michalovce) sú uvedené na obr. 1 a obr. 2. Volili sme jednoduchú metodiku merania vzhľadom na to, že po prípadnej modifikácii by sa mohla metodika používať v priemyselnej praxi a vychádzali sme zo zjednodušených predpokladov:

a) že trvanlivosť droždie by mala závisieť na intenzite biochemických dejov v premytých (odpočívajúcich) kvasinkách, ak sa pravda používa približne rovnaký technologický postup výroby a niet dôvodu pre to, aby bunky boli po skončení technologického postupu vyhladované a nemali dostatočné množstvo zásobných glycidov;

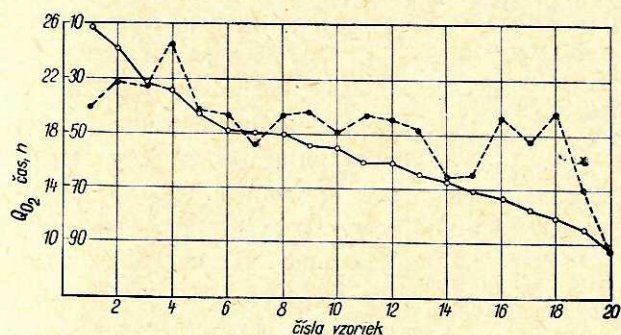
b) že mierou ustálenia týchto biochemických procesov odpočívajúcich buniek bude výška endogennej respirácie.

Ďalší faktor, ktorý v trvanlivosť droždie má dôležitú úlohu je dobré premytie kvasníc a odstránenie živín z medzibunkových priestorov. Podľa Rüffera sa tieto látky v droždi predýchajú v prie-

behu asi 10 minút, preto sa v našich výsledkoch tento faktor uplatniť nemohol. Doba, potrebná na prípravu suspenzie a temperovanie vzoriek je dlhšia a zbytky živín zo sladiny sa predýchajú skôr ako začíname merať.

Na obr. 1 sú uvedené výsledky získané s droždím odoberaným priamo od lisu v trenčianskej droždiarni. Plnou čiarou sú pospájané údaje pre hodnotu Q_{O_2} u rôznych vzoriek, usporiadaných podľa klesajúcej hodnoty koeficientu O_2 . (Závislosť s vynesiením Q_{CO_2} je úplne rovnaká, pretože RQ je v rámci možných chýb rovný skoro vždy 1. Uvádzame preto výsledky v hodnotách Q_{O_2} , pretože meranie týchto je jednoduchšie). Ku každej hodnote je na grafe vynesená trvanlivosť, stanovená podľa JAM, v hodinách. Nemožno predpokladať, že by hodnoty endogenného dýchania u droždía od lisu verne charakterizovali jeho ďalšie chovanie čo do trvanlivosti. Môže tu byť dôležitá skutočnosť, že čiastočne ešte dobiehajú kvasné pochody, že z rozdrobenému droždíu má dobrý prístup vzduch, v dôsledku čoho respirácia v závislosti na čase klesá. Tódt (cit. z [8]) udáva pokles dýchania u droždía vystaveného vzduchu pri normálnej teplote až o jednu tretinu za dve hodiny. V našej práci sme tiež pozorovali pokles dýchania vylisovaného droždía v závislosti na čase, nie však tak intenzívny. Vzorky droždía však ku nám dochádzali s určitým oneskorením, pretože boli prepravované vlakom. Pokles nebol v každom prípade rovnaký, ako to vidieť v tabuľke, preto sme museli v našich pokusoch počítať i s časovým intervalom.

Napriek všetkým týmto námietkam však údaje trvanlivosti a Q_{O_2} na obr. 1 javia určitú, i keď málo výraznú koreláciu. Trvanlivosť droždía od lisu je nižšia ako u liberkovanej a vo väčšine prípadov nedosahuje požadovanú hodnotu (rozumej požadovanú pre liberkované droždie!) Oveľa výraznejšia je korelácia medzi trvanlivosťou a endogenným dýchaním u rôznych vzoriek liberkovanej pekárského droždía, kde sa voči droždíu od lisu trvanlivosť obyčajne zlepšuje, ale v našich pokusoch bola nižšia, pretože sme nedostávali droždie čerstvé. Výsledky sú analogickým spôsobom zostavené do grafu na obr. 2. Odhliadnuc od toho, že sú to vzorky z rôznych výrobní a že pred analýzou prekonali zasielanie poštou, ktoré v niektorých prípadoch trvalo 2 až 3 dni, trvanlivosť a endogenná respirácia si dosť dobre vzájomne zodpovedajú. Samozrejme ide o závislosť nepriamu, preto je v grafe stupnica hodín opačného smeru ako stupnica spotreby kyslíka. Krivky na obr. 2 ukazujú o niečo lepšiu koreláciu ako udáva Górzynska pre vzťah



Obr. 1. Znáznornenie korelácie medzi Q_{O_2} a trvanlivosťou, stanovenou termostatovou metódou u rôznych vzoriek trenčianskeho droždía, odoberaného priamo od lisu



Obr. 2. Znáznornenie korelácie medzi Q_{O_2} a trvanlivosťou, stanovenou termostatovou metódou u rôznych vzoriek predajného droždía (z rôznych výrobní)

glykogénu, prípadne aminodusíku a trvanlivosti, preto sa domnievame, že by tento postup tak svojím princípom, ako i metodickou jednoduchosťou mohol slúžiť aj pre rutinné stanovenie trvanlivosti. Čo sa týka zásobných polysacharidov je dnes už jasné, že u pekárského droždía je v oveľa vyššej miere zastúpená trehalóza ako glykogén (Myrbäck a Örtengren [7]). Ťažko by sa dalo vysvetliť, prečo práve tých okolo 5 % glykogénu je smerodajné pre trvanlivosť, keď sa na tom podieľa aspoň alikvotným podielom i trehalóza, ktorá sa podľa údajov Stewarta a spoluprac. [10] predýchá pri 20° C za 6 dní. Treba však podotknúť, že i o výške hladiny glykogénu a trehalózy sa v literatúre vyskytujú rozličné a niekedy protichodné údaje.

Čo sa týka aminodusíku, sa domnievame, že by jeho hladina mohla byť vodičkom pre určovanie trvanlivosti droždía, avšak až v neskorších fázach skladovania, pretože čerstvé droždie pravdepodobne odbúrava najskôr svoje glycidové zásoby a až potom nastupuje proteolýza v značnejšom rozsahu. Preto metódy, založené na odbúravaní glycidov by pre tieto účely mohli lepšie vyhovovať. Pokusy Bergandera a Bahrmana i Rüffera boli založené na podobnom princípe ako naše. Zatiaľ čo Rüfferal spotrebu kyslíka, Bergander a Bahrman stanovovali vlastne produkciu kysličníka uhličitého jeho sekundárnym prejavom, t. j. znížením pH vo vodnej suspenzii. Okrem toho, že takýmto spôsobom merajú Bergander a Bahrman aspoň 3 hodiny, čo je značne dlhšie ako meranie endogennej respirácie, majú pre vyjadrovanie výsledkov pomerne úzku škálu od pH 3,7 po 5,5. V našich pokusoch sa vyjadrujú výsledky v mikrolitroch a máme k dispozícii rozsah 20 μ l/mg sušiny, t. j. ak pracujeme pri náplni nádoby 15 mg sušiny škálu až do 300 μ l. Z toho dôvodu vyjadrovanie trvanlivosti bude v našom prípade presnejšie. Vlastné trvanie pokusu je 1 hodina, naraz sa dá hodnotiť vo Warburgovom aparáte asi 5 vzoriek (po 2 paralelky) a prípravné práce, rovnako ako výpočet by sa dali značne zjednodušiť.

Ako vyplýva z tabuľky 1, droždie po vylisovaní sa nie celkom hodí pre hodnotenie trvanlivosti, založené na popísanom princípe, pretože endogenná respirácia v závislosti na čase u jednotlivých vzoriek nerovnomerne klesá. Použiteľnejšia by bola táto metóda pre liberkované droždie. Na obr. 3 je vynesená výška Q_{O_2} u jednotlivých vzoriek liberkovanej droždía proti zistenej trvanlivosti týchto vzoriek. Ako vidieť z obrázku, údaje ukazujú peknú závislosť lineárnej povahy. Domnievame sa, že ak by sa získalo viac údajov pre droždie z jednej výroby, variabilita by sa zúžila a

Tabuľka 1

Spotreba O_2 a produkcia CO_2 u rôznych vzoriek lisovaneho droždí v rozličných časových intervaloch

Vzorka číslo	Q_{O_2}			Q_{CO_2}		
	1*	2*	3*	1*	2*	3*
1	11,86	11,73	10,24	12,19	11,44	10,56
2	19,50	13,85	11,40	19,29	15,36	12,42
3	18,05	11,20	8,54	17,08	12,88	8,97
4	12,52	8,97	8,52	12,51	8,95	9,20
5	24,10	21,63	16,46	26,75	23,85	16,83
6	14,61	11,38	8,37	14,46	11,32	8,23

1* — Vzorka, analyzovaná hneď po získaní, t. j. po príchode z trenčianskej droždiarne do Bratislavy.

2* — Vzorka, analyzovaná po 24hodinovom uskladnení v chladničke.

3* — Vzorka, analyzovaná po 48hodinovom uskladnení v chladničke.

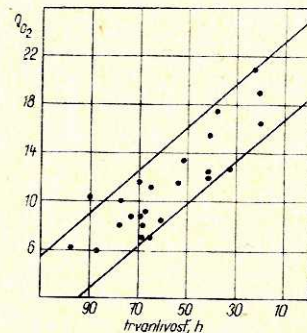
určenie trvanlivosti podľa výšky Q_{O_2} by mohlo byť dosť presné. Metóda by mohla poslúžiť na stanovenie trvanlivosti na závodoch a expedíciách droždí, by sa mohla prevádzať už na základe známej trvanlivosti.

Nové smery v droždiarenstve ako je uskladňovanie droždí v suspenzii prináša mnoho ďalších problémov v súvislosti s trvanlivosťou. Práve takáto jednoduchá metóda by mohla značne prispieť k osvetleniu úlohy premývania (trojstupňová separácia) a iných vážnych problémov, na ktoré sa zameriame v ďalšej práci.

Návrh na rutinné stanovenie trvanlivosti

Navážka 1 g liberovaného droždí (zo stredu liberky) sa suspenduje v 25 ml destilovanej vody. Z dobre rozmiešanej suspenzie sa pipetuje 1 ml do odváženej vysušenej nádoby na stanovenie sušiny*) a 1 ml do hlavného priestoru Warburgovej nádoby, kde sme predtým napipetovali: 2 ml fosfátového pufru (1,021 g KH_2PO_4 na 100 ml roztoku) do hlavného priestoru nádoby, 0,2 ml 40% roztoku KOH do centrálneho cylindrička. Do centrálneho cylindrička vsunieme ešte harmoničku z filtračného papiera pre lepšiu absorpciu CO_2 . Meriame 60 min. pri teplote kúpeľa $30^\circ C$, rýchlosti kývania asi 110 kyvov za min. a odčítame v desaťminútových intervaloch. Vyčíslime spotrebu kyslíka za hodinu a prepočítame na mg zistenej sušiny vzorky. Každú vzorku meriame aspoň v dvoch nádobkách, aby sme získali priemerný výsledok. Z rozličných vzoriek si takto stanovíme spotrebu kyslíka a trvan-

Pre stanovenie sušiny používame malých sklenených valčekovitých nádobiek, ktoré zhotovíme zarovnaním dna a urezaním skúmavky vo výške asi 2 cm od dna, takže váha nádoby je max. 1,7 g a sušina suspenzie sa dá pomerne presne odvážiť.

Obr. 3. Vzťah medzi trvanlivosťou a Q_{O_2}

livosť obvyklou termostatovou metódou. Výsledky vyneseme do grafu ako je uvedené na obr. 3, čím získame „kalibračnú krivku“, z ktorej potom odčítavame trvanlivosť len podľa zistenej spotreby kyslíka. Pre vzájomný vzťah dýchania a trvanlivosti nemožno podať obecnú „kalibračnú krivku“, pretože hodnoty dýchania budú značne závisieť na type droždí.

Súhrn

Navrhujeme novú metódu na stanovenie trvanlivosti pekárskoho droždí. Princíp metódy spočíva v meraní endogénnej respirácie, presnejšie v meraní spotreby kyslíka. Takto získané výsledky dosť dobre korelujú s výsledkami získanými uznanou metódou podľa JAM. Naviac metóda nie je zaťažovaná subjektívnymi chybami a poskytuje veľmi rýchlo výsledky. V práci sú rozoberané ďalšie metódy popísané v literatúre a diskutuje sa o vhodnosti týchto metód.

Literatúra

- [1] Bergander E., Bahrman K.: Die Nahrung 1, 74 (1957).
- [2] Bergander E., Bahrman K.: Die Nahrung 2, 500 (1958).
- [3] Bermann V., Pollack W.: Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 51, 12 (1927).
- [4] Görzynska J.: Prace inst. i lab. bad. przem. rol. spoživ. 6, 24 (1956).
- [5] JAM č. 22, Droždí, Praha 1958.
- [6] Jonáš V., Briess R., Kmínek M.: Chem. obzor 14, 169 (1939).
- [7] Myrböck K., Ortenblad B.: Biochem. Z. 288, 329 (1936).
- [8] Rüffer H.: Anwendungsmöglichkeit der elektrochemischen Sauerstoffmessung in der Hefeindustrie und ein Beitrag zur Altersphysiologie von Hefe. Diplomarbeit, Universität Berlin, 1958.
- [9] Schramek Š.: Hľadanie biochemických kritérií pre hodnotenie kvality droždí, Dipl. práca na SVŠT, Bratislava, 1960.
- [10] Stewart L. C., Richtmeyer N. K., Hudson C.: J. Am. Chem. Soc. 72, 2059 (1950).
- [11] Stuchlík V.: Chem. listy 32, 415 (1938).
- [12] Trevelyn, Forest, Hartison: 1952.
- [13] Vintika K., Stuchlík V.: Cestovná zpráva z cesty do Švédska a Dánska v r. 1957 (Knihovnica ÚVÚPP, Bratislava).

Došlo do redakcie 9. 2. 1961.

ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ЭНДОГЕННЫМ ДЫХАНИЕМ И СТОЙКОСТЬЮ ХЛЕБОПЕКАР- НЫХ ДРОЖЖЕЙ

В статье предлагается новый метод определения стойкости хлебопекарных дрожжей, основанный на принципе измерения эндогенного дыхания. Дыхание в свою очередь определяется при помощи аппарата Варбурга измеряющего расход кислорода. В статье даются подробные указания по методике определения. Диаграммы разработанные на основании результатов изучения проб дрожжей разного происхождения показывают точность описываемого способа.

BEZIEHUNG ZWISCHEN DER ENDO- GENEN RESPIRATION UND DER HALT- BARKEIT DER BACKHEFE

Es wird eine neue Methode zur Bestimmung der Hefehaltbarkeit vorgeschlagen auf Grund der Messung der endogenen Respiration, welche bis auf die Ermittlung des Sauerstoffs mittels Warburg-Apparatur reduziert wird. Die vorgeschlagene Bestimmungsmethode wird ausführlich beschrieben. Aus den beigefügten Graphen ist die Übereinstimmung der Methode bei mehreren geprüften Hefeproben verschiedener Provenienz ersichtlich.

RELATION BETWEEN ENDOGENIC RESPIRATION AND DURABILITY OF BAKER'S YEAST

A new method is suggested for determining the durability of yeast by measuring the intensity of endogenic respiration. The respiration process is reflected in the oxygen consumption measured with the Warburg apparatus. Several samples of yeast have been tested and the results presented in the form of diagrams show a remarkable accuracy of the described method.