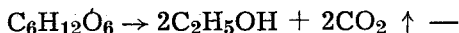


WITOLD MIZGALSKI, JAN PŁOTKOWIAK

POLAROGRAFICZNE BADANIE WPŁYWU DROŻDŻY PIWNYCH (DOLNEJ FERMENTACJI) NA ROZKŁAD NADTLENKU WODORU

Z Zakładu Chemii Fizycznej Akademii Medycznej w Poznaniu
Kierownik: doc. dr W. Mizgalski

Drożdże są bogatym źródłem wielu witamin i enzymów [1, 7]. Aktywność ich określa się na podstawie zdolności utleniania. W tym celu wykonuje się pomiar ilości wydzielonego dwutlenku węgla z glikozy (fermentacja alkoholowa) pod wpływem zawartego w drożdżach zespołu enzymatycznego.



Poza tym drożdże katalizują rozkład nadtlenu wodoru [4, 5]. Zjawisko to występuje na skutek działania enzymu katalazy. Wykorzystując tę właściwość drożdży postanowiliśmy przekonać się, czy istnieje zależność między aktywnością drożdży określoną na drodze fermentacyjnej, a zdolnością rozkładu nadtlenu wodoru. Wpływ katalazy drożdży na rozkład nadtlenu wodoru śledziliśmy na drodze analizy polarograficznej [2], uwzględniając jednocześnie wpływ temperatury przechowywania badanych próbek drożdży.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Do badań stosowaliśmy drożdże piwne fermentacji dolnej, pochodzące z Poznańskich Zakładów Przemysłu Piwowarskiego.

Przechowywaliśmy je pod warstwą wody w temperaturze: 4° (w lodówce) oraz w temperaturze pokojowej (17—20°). Przed wykonaniem oznaczeń drożdże odsączaliśmy na lejku Büchnera, celem usunięcia nadmiaru wody.

Do 5,0 g wilgotnych drożdży dodawaliśmy buforu fosforanowego o pH 6,8 (przez który uprzednio przepuszczaliśmy azot w ciągu 15 min.)

do łącznej objętości 50 ml. Płyn ten umieszczaliśmy następnie w homogenizatorze celem równomiernego wymieszania drożdży z buforem.

Równolegle prowadziliśmy oznaczenia zawartości suchej masy wilgotnych drożdży — przez suszenie ich w temperaturze 100—105°.

Badania aktywności drożdży prowadziliśmy w aparacie Warburga.

0,2 ml zawiesiny drożdży w buforze mieszaliśmy z 2 ml wody i dodawaliśmy 0,3 ml 1% roztworu glikozy. Ilość wydzielonego dwutlenku węgla oznaczaliśmy w temperaturze 37° odczytując wartość co 10 minut.

Badanie wpływu drożdży na rozkład nadtlenku wodoru prowadziliśmy na drodze analizy polarograficznej. Do tego celu użyliśmy mikropolarografu M 103. Jako anodę zastosowaliśmy nasyconą elektrodę kalomelową z mostkiem elektrolitycznym agar/KCl.

1,2 ml zawiesiny drożdży mieszaliśmy z 60 ml buforu i 3,0 ml 0,025% roztworu nadtlenku wodoru (w buforze fosforanowym). Całość umieszczaliśmy w termostacie o temperaturze 37° [3, 6]. Do badań pobieraliśmy próbki po 10,7 ml — co 9 minut.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Celem stwierdzenia faktycznej zawartości drożdży w poszczególnych analizowanych próbkach — wykonywaliśmy równolegle oznaczenia zawartości procentowej suchej masy. Wyniki zestawiliśmy w tab. 1.

Tabela 1. Ustalenie zawartości suchej masy w analizowanych drożdżach
Table 1. Determinations of dry residue in the analysed yeast

L. p.	Dzień przechowyw. 1)	Odważka 2) g	Sucha masa 3) g	Sucha masa 3) %
1	0	4,9999	1,1375	22,75
2	1	5,0003	1,0282	20,56
3	3	5,0001	1,0306	20,60
4	4	5,0004	1,1199	22,38
5	5	2,8426	0,6648	23,39
6	7	5,0002	1,0579	21,16
7	8	5,0005	1,1302	22,60
8	9	5,0004	1,0452	20,90
Średnio 4)				21,79%

Day of storage 1); Weight sample 2); Dry mass 3); Mean 4).

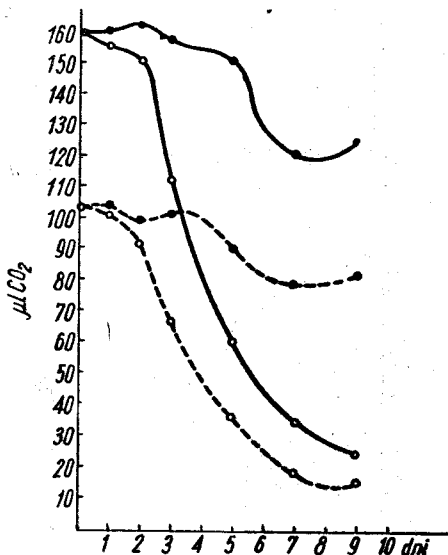
Uzyskane wyniki wykazały, że pobierane do analizy próbki zawierały prawie tę samą ilość suchej masy, bo od 20,56% do 23,39%, co daje średnio 21,79% suchej masy.

Wyniki badań wpływu drożdży na utlenienie glikozy i rozkład nadtlenku wodoru zestawiliśmy na ryc. 1—4.

Rycina 1 przedstawia krzywe aktywności drożdży w zależności od czasu i warunków przechowywania (odczyty wykonano po 20 i 30 minutach w aparacie Warburga).

Ryc. 1. Krzywe aktywności drożdży w zależności od czasu i temperatury przechowywania (wyniki z aparatu Warburga). ○ — Drożdże przechowywane w temperaturze pokojowej 30 min. ○ — — — — Drożdże przechowywane w temperaturze pokojowej 20 min. ● — — — — Drożdże przechowywane w lodówce 30 min. ● — — — — Drożdże przechowywane w lodówce 20 min.

Fig. 1. Curves of activity of yeast depending on time and temperature of storage (results with Warburg's apparatus). ○ — Yeast kept at room temperature for 30 minutes. ○ — — — — Yeast kept at room temperature for 20 minutes. ● — — — — Yeast stored in the refrigerator for 30 minutes. ● — — — — Yeast stored in the refrigerator for 20 minutes.



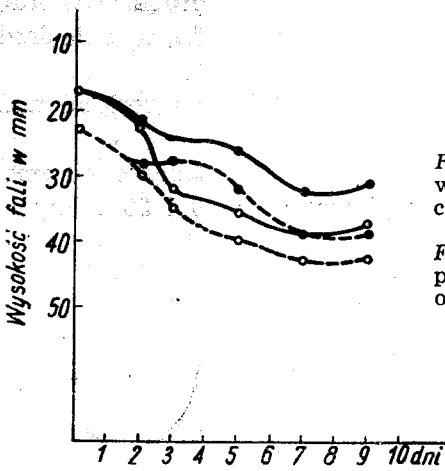
Badanie aktywności drożdży w aparacie Warburga wykazało odmienne zachowanie się prób przechowywanych w różnych warunkach temperatury. Krzywa wydzielania dwutlenku węgla przez drożdże przechowywane w temperaturze 4° → z biegiem czasu łagodnie opadała. Krzywa aktywności drożdży przechowywanych w temperaturze pokojowej wykazywała gwałtowny spadek. Po 4 dniach wykazała już tylko połowę pierwotnej aktywności.

W dalszych badaniach zaobserwowaliśmy wyraźny wpływ drożdży na rozkład nadtlenku wodoru. Zjawisko to śledziliśmy na drodze analizy polarograficznej.

W miarę upływu czasu działania drożdży na roztwór nadtlenku wodoru fala polarograficzna H₂O₂ stopniowo się zmniejsza.

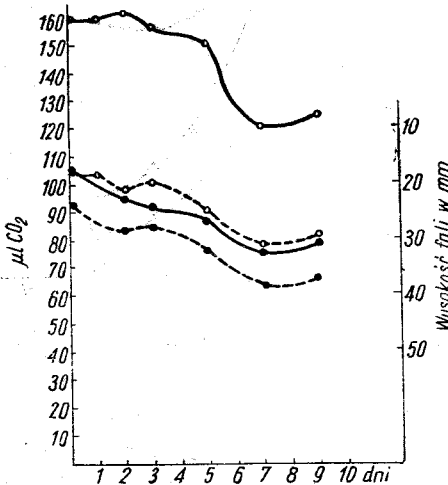
Wpływ temperatury przechowywania drożdży (4° i 17—20°) na proces rozkładu nadtlenku wodoru przedstawiliśmy na ryc. 2.

W wyniku badań stwierdziliśmy, że temperatura przechowywania drożdży na proces rozkładu nadtlenku wodoru — nie ma większego znaczenia.



Ryc. 2. Krzywe rozkładu nadtlenku wodoru w zależności od czasu i temperatury przechowywania drożdży (polarograf). Dalej, jak na ryc. 1.

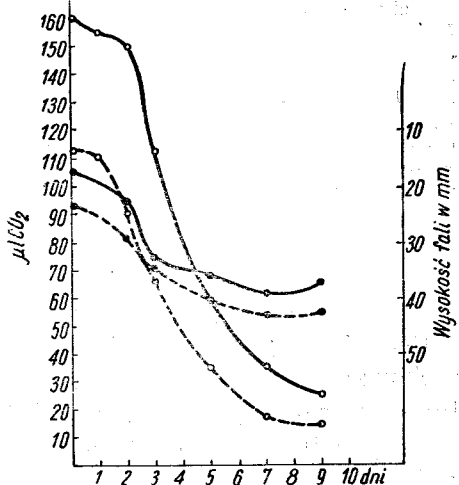
Fig. 2. Curves of decomposition of hydrogen peroxide depending on time and temperature of storage of the yeast (polarograph). Further, as in Fig. 1.



Ryc. 3

Ryc. 3. Porównanie krzywych aktywności drożdży (aparatu Warburga) i krzywych rozkładu nadtlenku wodoru (badania polarograficzne) przez drożdże przechowywane w temperaturze 4°. Dalej, jak na ryc. 1.

Fig. 3. Comparison of the curves of activity of yeast (Warburg's apparatus) and curves of decomposition of hydrogen peroxide (polarographic determinations) by yeast stored at a temperature of 4°. Further, as in Fig. 1.



Ryc. 4

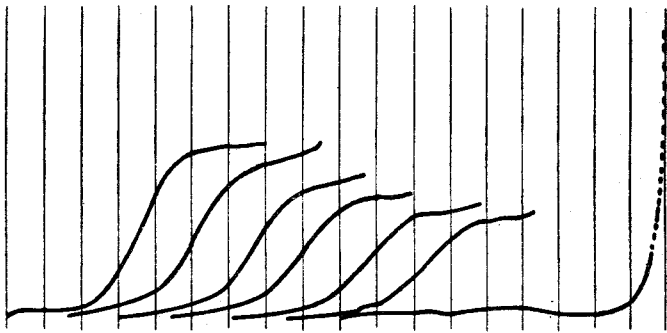
Ryc. 4. Porównanie krzywych aktywności drożdży (aparatu Warburga) i krzywych rozkładu nadtlenku wodoru (badania polarograficzne) przez drożdże przechowywane w temperaturze pokojowej. Dalej, jak na ryc. 1.

Fig. 4. Comparison of the curves of activity of yeast (Warburg's apparatus) and curves of decomposition of hydrogen peroxide (polarographic determinations) by yeast stored at room temperature. Further as in Fig. 1.

Przez pierwsze dwa dni, obie krzywe rozkładu H_2O_2 biegną blisko siebie, a w późniejszym okresie — tylko nieznacznie się odchylają, przy czym drożdże przechowywane w temperaturze pokojowej słabiej rozkładają wodę utlenioną od przechowywanych w lodówce.

Na ryc. 4 i 5 porównaliśmy wyniki analizy polarograficznej rozkładu nadtlenu wodoru z ilością wydzielonego dwutlenku węgla przez zawieszinę badanych drożdży — w zależności od temperatury i przechowywania.

W przypadku drożdży przechowywanych w lodówce — stwierdziliśmy duże podobieństwo kształtu wykreślonych krzywych rozkładu nadtlenu wodoru i wydzielania dwutlenku węgla. Natomiast w przypadku przechowywania drożdży w temperaturze pokojowej nie zaobserwowaliśmy tej zależności.



Ryc. 5. Polarogram rozkładu nadtlenu wodoru przez zawieszinę drożdży w zależności od czasu działania.
Fig. 5. Polarogram of hydrogen peroxide decomposition by yeast suspension in dependence on the time of its action.

Krzywa wydzielania dwutlenku węgla wykazała gwałtowny spadek aktywności drożdży w czasie ich przechowywania w temperaturze $17-20^\circ$, podczas gdy właściwości katalitycznego rozkładu nadtlenu wodoru przez analizowane drożdże malały stopniowo. Wykreślona krzywa — w tym przypadku — przypomina raczej swoim kształtem krzywą wydzielania CO_2 przez drożdże przechowywane w temperaturze 4° .

WNIOSKI

1. Stwierdzono podobieństwo kształtu krzywych wydzielania dwutlenku węgla i rozkładu nadtlenu wodoru przez drożdże, przechowywane w temperaturze 4° .

2. Nie stwierdzono zależności między aktywnością drożdży przechowywanych w temperaturze pokojowej ustaloną na drodze metody fermentacyjnej (w aparacie Warburga) a zdolnością rozkładu nadtlenu wodoru.

3. Aktywność drożdży przechowywanych w temperaturze 4° w ciągu 9 dni — nieznacznie maleje.

4. Aktywność drożdży przechowywanych w temperaturze pokojowej — obniża się, dochodząc po 9 dniach do około 15% pierwotnej wartości.

5. Zdolność rozkładu nadtlenu wodoru przez katalazę drożdży obniża się równolegle z czasem przechowywania i podwyższaniem temperatury.

В. Мизгальски, Я. Плотковьяк

ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ПИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ (НИЖНЕЙ ФЕРМЕНТАЦИИ) НА РАЗЛОЖЕНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА

Содержание

Исследовалось влияние каталазы дрожжей на разложение перекиси водорода (путем полярографического анализа) и установлено что оно уменьшается пропорционально сроку хранения дрожжей и повышению температуры.

Полученные результаты сравнивались с активностью дрожжей, определенной путем ферментационного метода (в аппарате Варбурга). Установлено притом совпадение формы кривых выделения углекислого газа и разложения перекиси водорода дрожжами, храненными в температуре 4°C. Эта зависимость не наблюдалась в случае дрожжей, храненных в комнатной температуре.

W. Mizgalski, J. Płotkowiak

POLAROGRAPHIC STUDY ON THE EFFECT OF BREWER'S YEAST (LOWER FERMENTATION) ON DECOMPOSITION OF HYDROGEN PEROXIDE

Summary

The effect of yeast catalase on decomposition of hydrogen peroxide was investigated by polarographic analysis, showing that it diminishes in proportion to the time of storage of the yeast and elevation of temperature.

The results were compared with the activity of yeast determined by the fermentation method in the apparatus of Warburg. A similarity was found between the shapes of the curves of carbon dioxide production and decomposition of hydrogen peroxide by yeast stored at a temperature of 4°. A similar relationship was not found in the case of yeast stored at room temperature.

PIŚMIENNICTWO

1. Barnett J. A.: Nature, 1960, 186, 449, London.
2. Brdicka R., Wiesner K., Schäferna K.: Naturwissenschaften, 1943, 31, 390.
3. Brestkin A. P., Nowikowa N. W.: Biłochimia, 1960, 25, 584.
4. Euler H., Blix R.: Z. Physiol. Chemie, 1919, 105, 82.
5. Euler H., Laurin I.: Z. Physiol. Chemie, 1919, 106, 312.
6. Iwanowa Ł. A.: Biochimia, 1955, 20, 272.
7. Roberts C., Thorne R. S. W.: Nature, 1960, 188, 872, London.

Otrzymano: 8. 5. 1961.

Adres autorów: Zakład Chemii Fizycznej AM w Poznaniu, ul. Grunwaldzka 6.