

А. М. МАЛКОВ

ОБ УПРАВЛЕНИИ ПРОЦЕССОМ АВТОЛИТИЧЕСКОЙ ПОРЧИ ДРОЖЖЕЙ

(Представлено академиком А. И. Опарином 21 II 1950)

А. И. Опарин и Е. М. Попова ⁽¹⁾ установили, что добавление броматов к прессованным лекарским дрожжам предохраняет их в известной степени от автолитической порчи при хранении и транспортировке.

В соответствии с существующими ⁽²⁾ взглядами по вопросу о природе папаиназных ферментов, являющихся ведущими при автолизе дрожжей, следовало полагать, что добавление броматов способствует повышению внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала и приводит к смещению равновесного состояния фермента и переходу его из сульфидрильной формы (PaSH) в дисульфидную ($\text{PaS} - \text{SPa}$).

В результате этого гидролитическое действие в некоторой степени инактивируется, что приводит к повышению устойчивости дрожжей против автолитической порчи.

Из сказанного следует, что низкий окислительно-восстановительный потенциал, наоборот, должен способствовать активированию гидролитического действия папаиназы.

Рассматривая процесс активирования и инактивирования дрожжевой протеиназы в свете теории А. И. Опарина ⁽³⁾, следует принять, что снижение внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала должно способствовать освобождению протеиназы с поверхностей, на которых она до этого была адсорбирована; повышение потенциала, наоборот, способствует закреплению папаиназы на клеточных структурах.

Приступив к дальнейшему изучению вопроса, мы поставили перед собой задачу — изыскать технологически доступные пути, с помощью которых можно было бы управлять процессом автолиза дрожжей. Изучение вопроса мы начали с исследования смещения внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала.

В 1940 г. мы высказали предположение ⁽⁴⁾, что конечные продукты анаэробного распада гликогена — этиловый спирт и незначительное количество альдегида, будучи легко атакуемыми донаторами водорода, могут принять участие в превращении дисульфида в сульфидрил. Таким образом, они могут являться одним из основных факторов, активирующих гидролитическое действие внутриклеточной протеиназы и усиливающих процесс автолиза дрожжей.

Приводимые ниже экспериментальные данные в известной степени это подтвердили.

В опытах в качестве легко атакуемого донатора водорода применялся 0,02% раствор нейтрального формальдегида, не являющегося в этой концентрации ядовитым для дрожжей.

Навески прессованных дрожжей по 20 г: 1) растирались с 0,5 мл изоамилового спирта в течение 5 мин.; 2) то же, но с добавлением 20 мл 0,02% раствора формальдегида; 3) помещены в термостат при 55° на 4 часа; 4) то же, но предварительно растирались с 20 мл 0,02% раствора формальдегида.

Найдено (по Барнштейну) растворимого азота в % на сухое вещество: 1) 0,97; 2) 1,08; 3) 2,80; 4) 3,40.

Из этих данных следует, что в присутствии легко атакуемого дегидразами донатора водорода протеолиз усиливается. Происходит это, вероятно, в результате восстановления дегидразами дисульфидной формы протеиназы.

Приведенные данные позволяют сделать также вывод, представляющий интерес для дрожжевого производства. При производстве дрожжей следует их тщательно отмывать от сбраженного сусла, так как последнее, как правило, содержит различные, легко атакуемые дегидразами донаторы водорода, поникающие устойчивость дрожжей против автолитической порчи.

При дальнейшем изучении вопроса нами было обнаружено, что дрожжи, обогащенные при выращивании железом, обладают большей устойчивостью против автолитической порчи, чем дрожжи с меньшим содержанием железа. Это видно из экспериментальных данных, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

Влияние железа на устойчивость дрожжей к автолизу

Особенности питательной среды	Fe в полученных в опыте дрожжах в мг % на сух. вещ.	Стойкость полученных дрожжей в часах
Fe добавлено	162	78
Fe не добавлено	65	53

Обогащение дрожжей внутриклеточным железом производилось путем выращивания их в полузаводских условиях на мелассовом сусле с добавлением сернокислой соли железа из расчета содержания в среде 4 мг % Fe. К суслу, служившему для контрольного опыта, Fe не добавлялось.

После проведения процесса по технологическому режиму, принятому на дрожжевых заводах, дрожжи сепарировались, тщательно промывались водой, сгущались и прессовались на фильтрпрессе.

Таблица 2

Влияние добавления железа в сусло на стойкость дрожжей к автолизу (условия те же, что в предыдущем опыте)

Особенности питательной среды	Растворимого азота в полученных после опыта дрожжах (по Барнштейну) в % на сух. вещ.	Стойкость полученных дрожжей в часах	Подъемная сила полученных дрожжей в мин.
Fe добавлено	1,60	63	87
Fe не добавлено	2,00	43	88

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что интенсивность протеолиза в случае обогащения дрожжей железом в процессе их размножения снижается.

Из данных табл. 1 и 2 следует, что путем добавления железа к питательной среде, применяемой для выращивания дрожжей, можно повысить их устойчивость против автолитической порчи. Этот технологический прием (5) не требует никаких изменений в производственном процессе и, что весьма важно, не снижает выхода дрожжей на единицу сахара.

Приведенные опыты показывают, что в результате обогащения дрожжей железом, откладываемым в клетках в виде недиализируемых высокомолекулярных соединений, происходит частичное инактивирование гидролитической активности протеиназы. Последнее обозначает, что с обогащением клетки железом повышается внутриклеточный окислительно-восстановительный потенциал, что способствует переходу сульфгидрильных групп протеиназы в дисульфидные.

Что введенное в клетку железо действительно способствует повышению ее окислительно-восстановительного потенциала, усиливая дыхание дрожжей, следует из результатов опыта, сведенных в табл. 3.

Таблица 3

Влияние железа на дыхание дрожжей (опыт проведен в лабораторных условиях)

Особенности питательной среды	Fe в полученных в опыте дрожжах в мг% на сух. взв.	Дыхание дрожжей по поглощенному кислороду в мл на 100 г сырого веш.
Fe добавлено	169	307
Fe не добавлено	120	213

Мы рассматриваем данные с точки зрения теории А. И. Опарина, согласно которой гидролитическая активность фермента усиливается при его растворении и ослабляется при адсорбции на клеточных структурах. Можно высказать мысль, что адсорбция или элюция протеиназы, а следовательно, и интенсивность ее гидролитического действия зависят от внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала.

Как показали приведенные экспериментальные данные, повышение внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала снижает гидролитическую активность протеиназы. Наоборот, понижение внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала способствует гидролитическому действию протеиназы. Эти явления, повидимому, зависят от перехода фермента из адсорбированного состояния в растворенное.

Таким образом, можно предположить, что между высотой внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала, состоянием фермента в клетке и направленностью его действия существует тесная взаимосвязь.

Более или менее полный аэробиоз или анаэробиоз, определяющие в первую очередь состояние внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала, являются теми «раздражителями», которые направляют действие протеиназы в ту или иную сторону, изменяя состояние фермента путем обратимой адсорбции его на поверхностях клеточных структур.

В результате проведенных опытов установлено, что, выращивая дрожжи в присутствии солей железа, можно вырабатывать на дрожжевых заводах прессованные дрожжи, обладающие сравнительно высокой устойчивостью против автолитической порчи при их хранении и транспортировании.

Московский дрожжевой завод и
Ленинградский технологический институт
пищевой промышленности

Поступило
22 X 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. И. Опарин и Е. М. Попова, Биохимия, **2**, 1, 90 (1937). ² А. В. Благовещенский, Ферменты. Под ред. А. Н. Баха и В. А. Энгельгардта, 1940; Th. Bergin, Ergeb. d. Enzymf., **4**, 68 (1935). ³ А. И. Опарин, Ergeb. d. Enzymf., **3**, 57 (1934); А. И. Опарин и А. Л. Курсанов, Bioch. Zs., **209**, 181 (1929); А. Л. Курсанов, Ферменты. Под ред. А. Н. Баха и В. А. Энгельгардта, 1940. ⁴ А. М. Малков, Консультация по бродильной промышленности, в. 18—19, 69 (1940). ⁵ А. М. Малков, Украин. химич. журн., **2**, 75 (1932).