

УДК 577.15.063

БИОХИМИЯ

Член-корреспондент АН СССР В. Л. КРЕТОВИЧ, М. П. ПОПОВ,
С. С. ЩЕРБАКОВ

ВЫДЕЛЕНИЕ СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ДРОЖЖАМИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* В ПРОЦЕССЕ БРОЖЕНИЯ

Настоящее сообщение посвящено эффекту выделения сульфидрильных соединений пекарскими дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* в процессе брожения. Выделение сульфидрильных соединений изучали как в условиях голодания дрожжевой клетки (при инкубации в воде), так и в условиях интенсивного брожения в присутствии различных сахаров.

Объектом исследования служили заводские прессованные пекарские дрожжи с подъемной силой 57 мин. Навеску дрожжей суспендировали в воде или в растворе сахара в соотношении 1 : 10 при 30° до получения однородной массы. Суспензию дрожжей термостатировали при 30° и через каждый час, предварительно перемешав, отбирали пробы для анализа. Отобранную пробу центрифугировали в течение 15 мин. при 4000 об/мин. В надосадочной жидкости, не содержащей дрожжевых клеток («дрожжевая вода»), определяли сульфидрильные соединения методом амперометрического титрования ⁽¹⁾ и выражали их количество в эквивалентах глутатиона (в γ/мл). Параллельно в присутствии восстановителя (насыщенный раствор Na₂SO₃) определяли суммарное содержание —S—S—+—SH-соединений.

При кратковременном настаивании прессованных дрожжей в условиях голодания извлекается небольшое количество SH-соединений, но даже 6-часовое настаивание почти не дает прироста их, что соответствует литературным данным ⁽²⁾. В условиях интенсивного брожения дрожжевые клетки активно выделяют в окружающую среду SH-соединения (табл. 1). Природа добавляемого сахара оказывает большое влияние на этот процесс. Арабиноза не сбраживается дрожжами, и в ее присутствии клетки не выделяют сульфидрильных соединений. Мальтоза сбраживается слабее

Таблица 1

Влияние сахаров на выделение сульфидрильных соединений дрожжами, μг/мл

Продолжительность инкубации, часы	Арабиноза		Глюкоза		Фруктоза		Сахароза		Мальтоза	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Без дополнительного азотного питания										
1	0	0	9,8	9,3	12,8	12,4	10,7	10,8	0,3	0,6
2	0	0	11,8	15,1	17,5	16,9	15,3	15,4	0,3	1,6
4	0	0	15,6	18,1	21,7	21,8	19,0	20,9	1,8	3,1
6	0	0	16,6	20,0	18,7	23,0	19,0	21,5	3,7	6,1
С дополнительным азотным питанием										
1	0	0	9,8	9,3	12,8	13,0	12,3	12,0	2,7	2,8
2	0	0	18,7	19,6	26,1	25,6	23,0	22,4	3,7	3,7
4	0	0	27,0	30,2	33,5	37,2	31,3	33,8	4,9	6,2
6	0	0	30,0	32,2	38,0	38,4	34,3	36,9	6,7	9,5

Примечание. 1 — без восстановителя, 2 — с восстановителем.

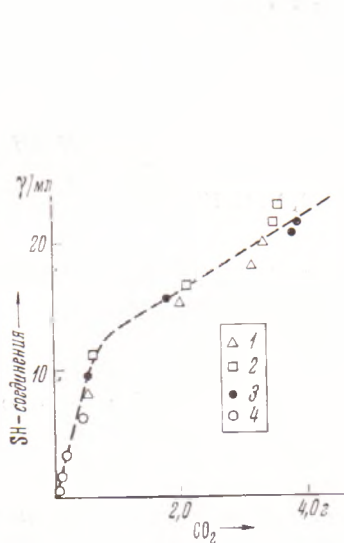


Рис. 1. Зависимость выделения SH-соединений от интенсивности брожения. 1 — глюкоза, 2 — фруктоза, 3 — сахароза, 4 — мальтоза

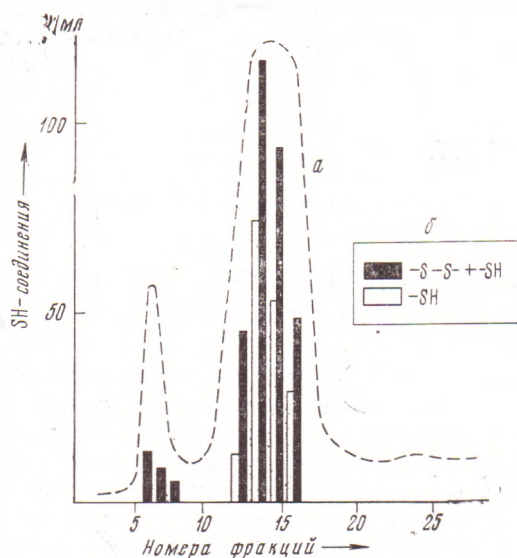


Рис. 2. Фракционирование лиофилизированной «дрожжевой воды» на сефадексе G-50. а — D_{280} , б — содержание SH-соединений

других сахаров, и интенсивность выделения SH-соединений значительно уступает вариантам опыта с использованием глюкозы, сахарозы и особенно фруктозы. На последних этапах брожения часть сульфгидрильных соединений окисляется, поэтому титрование SH-групп в присутствии восстановителя, как видно из полученных данных, более точно отражает процесс

Таблица 2

Влияние ПХМБ и мерсалила на количество определяемых SH-соединений, $\mu\text{г/мл}$

Продолжительность инкубации, часы	До прибавления SH-блокирующих агентов	После прибавления SH-блокирующих агентов	
		расчетные данные	экспериментальные данные
0	0	0	0
1	4,9	0	0
	6,1	0	0
2	10,1	2,5	2,5
	15,1	7,5	7,7
4	13,5	5,9	5,8
	19,6	12,0	12,3

Примечание. Числа над чертой — данные для ПХМБ, числа под чертой — для мерсалила.

выделения дрожжами SH-соединений. Как видно из рис. 1, выделение сульфгидрильных соединений тесно связано с интенсивностью брожения. Контроль исследуемых дрожжей методом окрашивания метиленовой синью выявил только единичные мертвые клетки, и их количество в процессе брожения не увеличивалось. Таким образом, прирост сульфгидрильных соединений в процессе брожения нельзя объяснить увеличением числа мертвых клеток.

При добавлении азотного питания (0,1% сульфата аммония) значительно усиливается выделение SH-соединений (табл. 1). Так, например, после 6 час. брожения в опыте с сахарозой дополнительное азотное питание увеличивает содержание сульфгидрильных соединений «в дрожжевой воде» почти вдвое. Применение SH-блокирующих агентов, таких как ПХМБ и мерсалил, показало, что амперометрическим титрованием действительно определялись сульфгидрильные соединения. Вводя строго определенные количества SH-блокирующего агента, мы рассчитывали теоретический эффект блокировки и сопоставляли его с полученными экспериментальными данными. Как видно из табл. 2, расчетные и опытные данные хорошо совпадают. Выделяющиеся сульфгидрильные соединения являются низкомолекулярными. Об этом свидетельствует фракционирование лиофилизированной «дрожжевой воды» на сефадексе G-50 (рис. 2). Почти все определяемые сульфгидрильные соединения находятся в низкомолекулярной фракции. В белковой фракции выявлено небольшое количество SH-групп только в присутствии восстановителя.

Полученные данные показывают, что выделение дрожжами сульфгидрильных соединений в процессе брожения — физиологический процесс, теснейшим образом связанный с обменом бродящей дрожжевой клетки.

Технологический институт
пищевой промышленности
Москва

Поступило
11 VI 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ E. Ruth Benesch, H. A. Lardy, R. Benesch, J. Biol. Chem., **216**, 663 (1955). ² Н. И. Проскуряков, Хлебопекарная промышленность, № 1, 3 (1940).