

Stanisław BUJAK, Bohdan ACHREMOWICZ,
Ewa KISIELEWSKA, Eugenia PODGÓRSKA

**Wpływ dodatków kwasu tiofeno-2-karboksyowego
i tiofeno-3-karboksyowego na przyrost plonów drożdży piekarskich**

Влияние добавления тиофен-2-карбоксильной и тиофен-3-карбоксильной кислот
на рост выхода пекарских дрожжей

The Effect of the Additions of Thiopheno-2-carboxylic and Thiopheno-3-carboxylic
Acids on the Increase in Bakery Yeast Crop

WSTĘP

Problem poszukiwania tanich stymulatorów wzrostu drożdży jest wciąż aktualny, ponieważ użyte dają wyższy plon przy tych samych nakładach innych składników kosztów produkcji. Potrzeba ta wynika również z częstego występowania niedoboru substancji wzrostowych w melasie, głównym surowcu używanym w produkcji drożdży piekarskich.

Wiadomo, że biotyna w wybitnym stopniu stymuluje wzrost drożdży, lecz w wielu przypadkach jej zawartość w podstawowym surowcu jest niedostateczna (2, 5 i 6). W naszym kraju biotyna jest mało dostępna i droga, stąd powstała konieczność poszukiwania innych stymulatorów wzrostu drożdży. Zwrócono uwagę na witamery biotyny, takie jak kwas pimelinowy (1, 2 i 3) i wreszcie na tiofenową część cząsteczki biotyny.

METODY

Stymulujący wpływ kwasów tiofenokarboksyowych badano na drożdżach II generacji, pochodzących z fabryki drożdży. Drożdże przed użyciem ich do doświadczalnych hodowli pasażowano na podłożu syntetycznym pozbawionym biotyny i or-

ganicznych połączeń azotowych w celu zubożenia otrzymywanej biomasy w tę substancję wzrostową, aby później w hodowlach doświadczalnych wyraźniej reagowały na dodawany stymulator.

Hodowle doświadczalne prowadzono w podłożu składającym się z roztworu melasy buraczanej, zawierającej 6,4 μg biotyny w 100 g, wzbogaconego dodatkiem soli azotowych i fosforowych w postaci $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4OH i $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ w ilościach: 0,041 g N i 0,046 g P_2O_5 na 1 g sacharozy zawartej w podłożu.

Inna kombinacja doświadczalna podłoża zamiast melasy zawierała roztwór sacharozy handlowej wzbogaconej dodatkiem soli K, Na, Ca i Mg. Kwasowość podłoża utrzymywano na poziomie pH 4,5–5,0 przez dawkowanie siarczanu amonu lub wodorotlenku amonu. Temperaturę hodowli utrzymywano na poziomie 28°C , a czas trwania hodowli wynosił 8 godz.

Hodowle prowadzono metodą ciągłego dopływu podłoża, rozkładając dopływ tak, aby maksymalną jego dawkę godzinową, wynoszącą 20%, wprowadzić po 4 godz. hodowli i przerwać dawkowanie na godzinę przed zakończeniem procesu (2). Końcowa objętość hodowli wynosiła 6 l. Hodowle napowietrzano przy pomocy turbinowego mieszadła o 1200 do 1400 obr./min., które zasysało powietrze i emulgowało je w podłożu przy pomocy łopatek umieszczonych na wale mieszadła. Drożdże zarodowe wprowadzono w ilości 15% s. masy w stosunku do sacharozy poddawanej fermentacji.

Próbki zakończonych hodowli o objętości 500 ml odwirowywano, osad drożdży przemywano destylowaną wodą i ponownie odwirowywano. W osadzie drożdży oznaczono zawartość wody, suchej masy i biotyny. Na podstawie uzyskiwanego plonu drożdży obliczono wydajność suchej masy drożdży w stosunku do sacharozy wprowadzonej do podłoża. Zawartość biotyny oznaczano w drożdżach i w melasie przy pomocy *Neurospora crassa* (4).

Jako kontrole służyły hodowle prowadzone w podłożu bez dodatku badanych stymulatorów.

WYNIKI BADAŃ

Ogółem prowadzono 20 hodowli w 2 powtórzeniach każda, których wyniki, jako średnie, zestawiono w tab. 1 i 2. Dla każdej serii hodowli założono hodowlę kontrolną, z której wydajność suchej masy, obliczaną w stosunku do sacharozy wprowadzonej do podłoża, przyjmowano za 100; z nią porównywano wydajności hodowli doświadczalnych.

Wyniki z uzyskanych hodowli drożdży na podłożu melasowym zestawiono w tab. 1 poz. 1–6. W hodowlach tych uzyskiwano zwyżki plonów suchej masy drożdży w kombinacjach z dodatkami kwasów tiofenokarboksylowych. Najwyższą wydajność uzyskano w kombinacji z 15 mg dodatkiem kwasu tiofeno-2-karboksylowego na 1 l podłoża. Zwyżka ta w stosunku do kontroli wynosiła prawie 11%. W miarę zwiększania wielkości dawek tego połączenia wzrastało w drożdżach stężenie biotyny. Zawartość biotyny w drożdżach otrzymywanych w tej serii doświadczeń wynosiła w kontroli 0,254 μg na g s. masy drożdży i wzrosła do 0,370 $\mu\text{g/g}$ s. masy drożdży w kombinacji z 15 mg kwasu tiofeno-2-karboksylowego/l.

W drugiej serii doświadczeń, której wyniki podano w tab. 1 poz. 7—11, a która różniła się od pierwszej użyciem sacharozy w miejsce melasy jako źródła C, chodziło o usunięcie wpływu biotyny zawartej w melasie. Ogólnie uzyskiwano znacznie niższe wydajności drożdży w porównaniu do otrzymywanych na podłożu melasowym. W kombinacjach doświadczalnych tej serii badań występowały podobne przyrosty plonów w stosunku do kontroli, jak w pierwszej serii doświadczeń, lecz dawka 20 mg/l kwasu tiofeno-2-karboksylowego jeszcze dawała zwiększenie plonu drożdży, choć niewielką w stosunku do kombinacji z 15 mg dodatkiem tego kwasu.

Charakterystyczną cechą tych plonów drożdży była ponad 50% niższa zawartość biotyny w suchej masie drożdży niż w drożdżach wyrosłych na roztworze melasy, stosunkowo bogatej w biotynę. Taki wynik hodowli prowadzonej na roztworach sacharozy jest uzasadniony brakiem w podłożu N organicznego, głównie asparaginy oraz pierwiastków śladowych (7).

W tab. 2 zebrano wyniki hodowli prowadzonych z dodatkiem kwasu tiofeno-3-karboksylowego. W poz. 17—23 podano wyniki hodowli prowadzonych na podłożu melasowym. Kwas tiofeno-3-karboksylowy stymulował mniej aktywnie wzrost drożdży niż poprzednio badany kwas tiofeno-2-karboksylowy. W podłożu melasowym przy dawce stymulatorów równej 20 mg/l uzyskano tylko 4,3% przyrost wydajności drożdży w stosunku do kontroli. Nieco wyższe przyrosty plonów w stosunku do

Tab. 1. Wpływ dodatków kwasu tiofeno-2-karboksylowego na plon drożdży i zawartość biotyny

The effects of thiopheno-2-carboxylic acid additions on yeast crop and biotin content

L.p. hodowli No. of culture	Wielkość dodatku Amount of addition mg/l	Wydajność s.m. drożdży Output of yeast dry mass		Zawartość biotyny Biotin content μg/g s.m. dry mass	Rodzaj podłoża Type of medium
		w stosunku do sacharozy in respect to saccharose %	w stosunku do kontroli in respect to control %		
1.	bez dodatku (no addition)	46,2	100	0,254	melasowe (molasses)
2.	1	46,6	101,3	0,277	melasowe
3.	5	49,3	106,6	0,291	melasowe
4.	10	50,8	109,9	0,322	melasowe
5.	15	51,3	110,9	0,370	melasowe
6.	20	51,3	110,9	—	melasowe
7.	bez dodatku (no addition)	35,0	100	0,135	syntetyczne (synthetic)
8.	5	36,6	104	0,130	syntetyczne
9.	10	39,0	111,4	0,144	syntetyczne
10.	15	39,5	112,5	0,140	syntetyczne
11.	20	39,6	113,0	0,145	syntetyczne

Tab. 2. Wpływ dodatków kwasu tiofeno-3-karboksylowego na plon drożdży i zawartość biotyny

The effects of thiopheno-3-carboxylic acid additions on yeast crop and biotin content

L.p. hodowli No. of culture	Wielkość dodatku Amount of addition mg/l	Wydajność s.m. drożdży Output of yeast dry mass		Zawartość biotyny Biotin content dry mass µg/g s.m.	Rodzaj podłoża Type of medium
		w stosunku do cukru in respect to sugar %	w stosunku do kontroli in respect to control %		
13.	bez dodatku (no addition)	33,5	103,0	0,142	syntetyczne (synthetic)
14.	5	33,5	103,0	0,142	syntetyczne
15.	10	34,9	107,9	0,164	syntetyczne
16.	20	35,0	108,0	0,202	syntetyczne
17.	bez dodatku (no addition)	43,1	100	0,183	melasowe (molasses)
18.	5	43,6	101,1	—	melasowe
19.	10	44,2	102,5	0,218	melasowe
20.	15	44,5	103,2	0,258	melasowe
21.	20	45,5	104,3	—	melasowe
22.	bez dodatku	50,1	100	—	melasowe
23.	10 µg biotyny (biotin)	46,5	107,6	—	melasowe

kontroli uzyskiwano w podłożu syntetycznym, bo około 8% przy dawce 10 i 20 mg/l stymulatora (tab. 2 poz. 15 i 16). Podobnie jak w przypadku wzbogacenia podłoża dodatkami kwasu tiofeno-2-karboksylowego, drożdże hodowane na roztworze melasy były bogatsze w biotynę od uzyskiwanych na podłożu syntetycznym.

DYSKUSJA

Przedstawione wyniki badań wskazują, że użyte w doświadczeniach połączenia w postaci kwasu tiofeno-2-karboksylowego i tiofeno-3-karboksylowego stymulowały przyrost plonów drożdży, choć ten drugi w nieco mniejszym stopniu niż pierwszy. Oczywiście stopień stymulacji wywoływany przez badane połączenia był wielokrotnie słabszy od wpływu stymulującego biotyny (1, 2). Ta ostatnia w ilościach 10 i 15 µg/l dawała podobną zwyżkę plonu s. masy drożdży piekarskich, jak 10 i 15 mg dawki badanych kwasów tiofenowych. Uzyskanych wyników badań nie można porównać z wynikami innych badaczy, ponieważ nie napotkano prac na ten temat. Można jedynie stwierdzić, że nieco ustępowały w aktywności stymulacyjnej wzrostu drożdży kwasowi pimelinowemu (2).

Podobnie jak w stymulacji przyrostu plonu s. masy drożdży, badane kwasy tiofenowe wpływały na biosyntezę biotyny, lecz również w słabszym stopniu niż dodatki kwasu pimelinowego (2). Być może, że należałoby zbadać wpływ na przyrost plonu drożdży różnych innych pochodnych kwasów tiofenowych, a przede wszystkim trzeba przeprowadzić badania z kwasami tiofenowymi zawierającymi znakowane atomy węgla. Używając takich połączeń, można by śledzić mechanizm wykorzystywania tych połączeń w biosyntezie biotyny.

PIŚMIENNICTWO

1. Bartosiński B., Zagalak B.: Koenzymatyczne funkcje biotyny. *Post. Bioch.* **13**, 4 (1967).
2. Bujak S., Achremowicz B., Kisielewska E., Podgórska E.: Wpływ dodatków kwasu pimelinowego na przyrost plonu drożdży piekarskich. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio E* **34** (1980).
3. Eisenberg M. A.: Biogenesis, Transport and Their Regulation. *Adv. in Enzymology.* **38** (1973).
4. Kavanagh F.: *Analytical Microbiology.* Acad. Press, New York—London 1963, 422.
5. Malanowska J., Gluzińska W., Łabendziński S.: Wpływ niektórych składników melasy na wydajność drożdży piekarskich. *Prace Inst. i Lab. Przem. Spoż.* **19**, 2 (1969).
6. Malanowska J., Rzędowski W., Duszyk H.: Charakterystyka melas polskich z kampanii 1964/65 i 1965/66. *Prace Inst. i Lab. Bad. Przem. Spoż.* **18**, 1 (1968).
7. Zapor E. M., Nikitina L. G.: Wlijanije aminokislot na nakoplenije biomassy piekarskich drożdż pri nedostatkie biotina. *Prikladn. Bioch. Mikrob.* **3** (1967).

РЕЗЮМЕ

Исследовалась возможность замены биотина добавками кислот: тиофен-2-карбоксильной и тиофен-3-карбоксильной кислот как стимуляторов роста пекарских дрожжей. В эксперименте применены два щелочных основания: раствор мелассы, обогащенный сульфатом аммония и фосфатом 2 аммония, и раствор сахарозы, обогащенный обменными солями и микроэлементами. Продолжительность культуры — 8 часов; она происходила в шестилитровом ферментаторе, с постоянным допływом питательной среды. Допływ воздуха в питательную среду осуществлялся при помощи турбинной мешалки, сосущей воздух, с 1400 оборот./мин. В результате экспериментов установлено, что добавление 20 мг/л тиофен-2-карбоксильной кислоты увеличивало образование дрожжей на 11% при мелассовой среде и до 13% на синтетической среде по сравнению с контролем — без добавления стимуляторов (Табл. 1). Добавление тиофен-3-карбоксильной кислоты на мелассовой питательной среде увеличило производительность выхода дрожжей на 4%, а на синтетической на 9% (Табл. 2).

SUMMARY

A possibility of substituting biotin with additions of thiopheno-2-carboxylic and thiopheno-3-carboxylic acids, as stimulants of bakery yeast growth, was investigated. The experiments employed two basic media: a molasses solution enriched with additions of ammonium sulphate and diammonium phosphate, and a solution of saccharose enriched with the two salts and with microelements. The time of culture growth was 8 hours in a 6 l. fermenter with continuous medium supply. The medium aeration was performed with an air-suction turbine agitator at 1400 rotations per min. The experiments showed that a 20 mg/l addition of thiopheno-2-carboxylic acid increased the yeast crop by 11% in the molasses medium and by up to 13% in the synthetic medium as compared with a control culture without the examined stimulant (Table 1). An addition of thiopheno-3-carboxylic acid increased the yeast crop by 4% in the molasses medium and by 9% in the synthetic medium (Table 2).