

Из заграничной литературы.

О брожении сульфитных щелоков.

Доклад проф. Н. В. Среактапа на съезде химиков в Монреале в мае мес. 1926 г.¹⁾.

С точки зрения биолога особенно важно выяснить, какие организмы, и при каких условиях, усвояют определенные виды восстановляющих сахаристых веществ. Как известно, специальная литература изобилует указаниями на культивирование дрожжей, которые вызывают брожение, например, галактозы. Опыты показывают, что можно заставить дрожжи осуществлять такие процессы, к которым они неспособны в нормальных условиях, и я прежде всего хочу остановиться на некоторых важных фактах, установленных в последнее время в связи с вопросом о культуре дрожжей, вызывающих брожение галактозы.

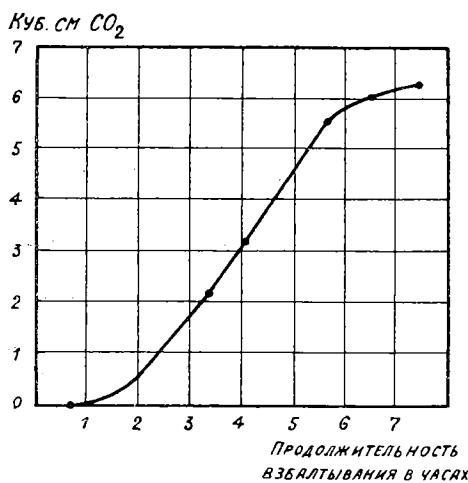
Чертежи, которые я привожу здесь, взяты из новейшей работы датских исследователей—Søhngen'a и Coolhaas'a, которые изучили культуру пород дрожжей, способных вызывать брожение галактозы. На диаграммах 1_А и 1_В изображены кривые скорости брожения, вызванного породой дрожжей, посаженных в среде, содержащей галактозу и различные соли. Они выражены в куб. см. CO₂ на каждые 6 минут при 38°С, в зависимости от продолжительности опыта (1_А) и от скорости роста (1_В). Я отмечу тот факт, что кривая скорости выделения газа вполне повторяет собой ход вегетативного роста. Не входя в дальнейшие подробности, ограничусь выводами, к которым пришли указанные исследователи, а именно, что брожение галактозы в присутствии породы дрожжей, которая в других условиях неспособна его вызывать, зависит от вегетативного роста и протекает пропорционально ему. Я думаю, что этот факт надо особенно подчеркнуть, так как в прошлом мы привыкли смотреть на приспособление, как на процесс, подобный тому, каким вы приучаете собаку делать трюки, которых она не умела делать раньше. Если говорить обыденным языком, то разбираемое нами явление аналогично тому, как если бы мы приучали собаку производить потомство, способное делать трюки, к которым были неспособны ее предки. Мне кажется, что эта аналогия наиболее ясно рисует картину²⁾.

1) «Pulp and Paper Magazine of Canada». 1926, № 25.

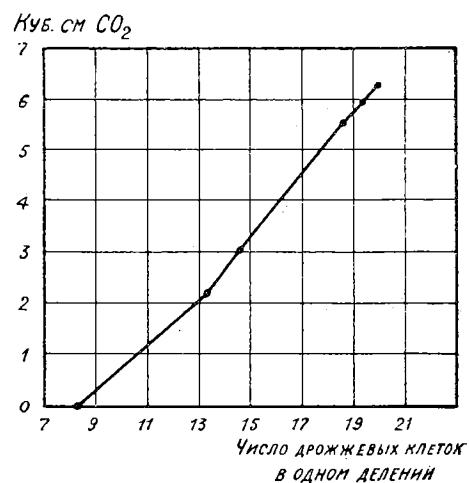
2) Автору, очевидно, неизвестны замечательные опыты нашего знаменитого ученого, академика Павлова, которому удается на животных воспитывать поколения с врожденными условными рефлексами, выработанными путем приучения и привычки и передающимися потомству. Весь естественный отбор основан на наследственной передаче приспособлений и признаков.

Прим. перев.

Диагр. 2 иллюстрирует скорость брожения глюкозы и галактозы под влиянием различных пород дрожжей при 49°С. Кривая первая (I) указывает скорость, с которой некоторое количество глюкозы бродит в присутствии обыкновенных дрожжей, (культивированных в дрожжевой вытяжке с глюкозой). Кривая II дает скорость брожения того же количества глюкозы под влиянием породы дрожжей, приученной к сбраживанию галактозы, но, как вы видите, не потерявшей способности сбраживать глюкозу. Другими словами, способность сбраживать галактозу есть некоторое дополнение к способности образовать спирт из глюкозы и возможно, что оно обусловлено выработкой вспомогательной энзимы, т.-е. «галактозной зимазы». Кривая III показывает брожение галактозы под влиянием породы дрожжей,



Диагр. 1А.



Диагр. 1В.

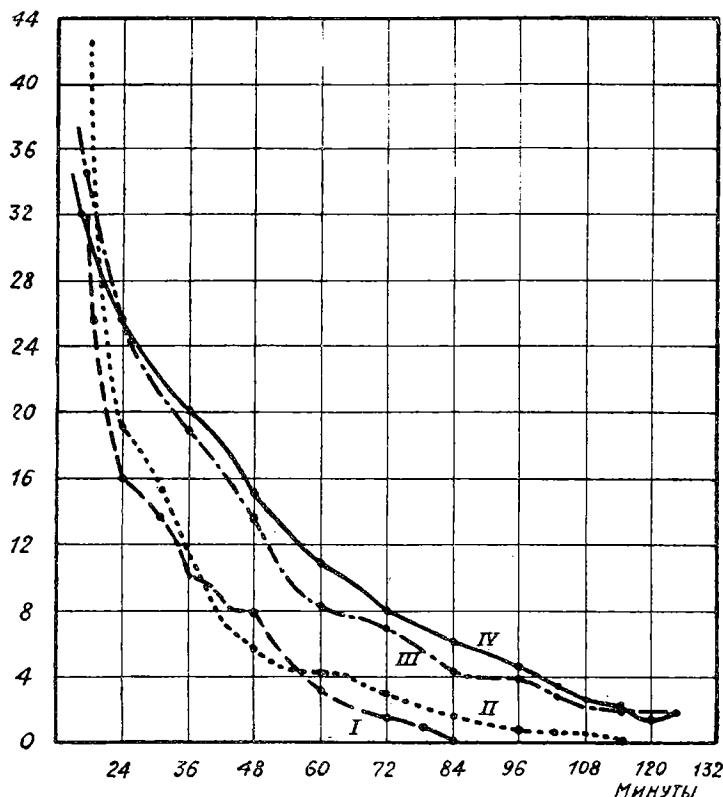
Скорость брожения галактозы в куб. см. CO₂ на каждые 6 минут при 38° С.

выращенных в среде с галактозой, т.-е. представителей другой расы дрожжей. Кривая IV дает результаты опыта брожения с тем же количеством галактозы в присутствии того же количества галактозных дрожжей, к которым прибавлено равное количество глюкозных дрожжей. Результат этого опыта почти тождественен с опытом III,—другими словами, предел эффекта в этих опытах достигнут наличием количеством галактозных дрожжей, и прибавление обыкновенных дрожжей не создает более благоприятных условий для процесса брожения.

Я обращаю внимание на этот факт, так как мы увидим дальше, что целлюлозные продукты во многих случаях оказывают чрезвычайно сильное задерживающее действие на вегетативный рост дрожжей, и поэтому, если иметь в виду биохимическое приспособление дрожжей к этим продуктам, то необходимо устраниТЬ действие веществ, вредящих росту,—иначе биохимическое приспособление станет невозможным. С точки зрения техники это возможно осуществить, пользуясь уже приученными породами дрожжей, но возникает вопрос, возможно ли экономично пользоваться на

практике дрожжами, предварительно приученными или видоизмененными культивированием в искусственных средах. На это может дать ответ только химик-практик.

Далее я обращаю ваше внимание на бутилово-спиртовое и ацетонное брожение. Мне не приходится много говорить о важности этой отрасли промышленности, уже приобретшей большое значение в Соедин. Штатах.



Диагр. 2.

Брожение при 49° С.

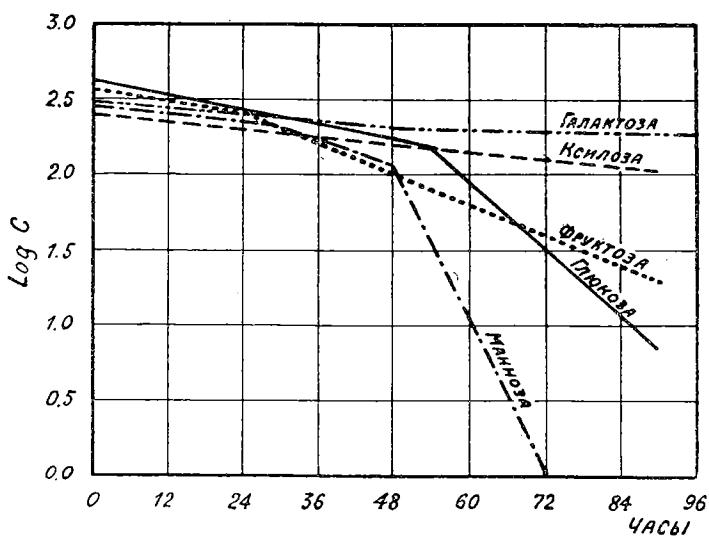
- I—Дрожжи, культивированные в дрожжевой вытяжке с глюкозой.
- II—То же с галактозой. Брожение глюкозы.
- III—То же, брожение галактозы.
- IV—То же с прибавлением одинакового количества дрожжей, культивированных в дрожжевой вытяжке с глюкозой. Брожение галактозы.

Опыты показывают, что вегетативный рост наблюдают приблизительно в течение 12 часов от начала брожения и что образование ацетона и бутилового спирта имеет место после окончания роста клеток. Таким образом, процесс брожения можно расчленить на две стадии: первую—вегетативного роста, сопровождающегося образованием кислот и вторую—образования ацетона и бутилового спирта, т.-е. брожения, сопровождающегося распадом клеток и образованием спор.

Возникает вопрос, можно ли надеяться утилизировать отбросы целлюлозного производства для ацетонного и бутилово-спиртового брожения

и будут ли дрожжи заставлять бродить сахара, содержащие галактозу, входящую в состав этих продуктов.

Диагр. 3 дает кривые, показывающие скорость потребления различных сахаров при брожении. Вы видите, что в первые 24 часа все сахара потребляются приблизительно с одинаковой скоростью и это отвечает, конечно, периоду вегетативного роста. Но когда дело доходит собственно до ацетонного брожения, то оказывается, что галактоза и ксилоза потребляются почти одинаково медленно, тогда как другие сахара быстро исчезают из среды. Другими словами, можно заключить, что эти два сахара неспособны к брожению. Скажу кстати, что ксилоза потребляется



Диагр. 3.

Скорость потребления различных моносахаридов при брожении.

нацело при концентрации 2%, при 3% она потребляется только на $\frac{2}{3}$, при 4%—ее потребляется очень мало или почти совсем не потребляется, при 5%—брожение даже и не начинается. Таким образом, потребление ксилозы дрожжами зависит от концентрации этого сахара, играющей вообще очень существенную роль в процессе брожения.

По отношению к галактозе таблица 1 дает очень интересное и важное указание. Галактоза сама по себе сбраживается в количестве 10%, но брожение должно быть признано ненормальным; продуктами являются органические кислоты, ацетона и бутилового спирта не образуется. Брожение интересно с теоретической точки зрения, но практически оно не имеет значения, и притом при нем утилизируется лишь 10% сахара. Если мы вспомним, что лактоза сбраживается нацело, то возникает интересный для биолога вопрос, почему наблюдается такая резкая разница при брожении этих двух сахаров. Мы предположили, что в клетках дрожжей происходит гидролиз лактозы, ведущей к образованию глюкозы и галактозы, и что брожение этой смеси происходит быстрее, чем брожение одной галактозы. Поэтому мы искусственно приготовили среду, содержащую равные количества

галактозы и глюкозы; оказалось, что глюкоза потребляется нацело вместе с 47% галактозы, таким образом, мы повысили почти в 5 раз утилизацию галактозы благодаря одновременному присутствию в среде также и глюкозы.

Интересно упомянуть, что Folin уже ранее наблюдал, что потребление галактозы в среде происходит пропорционально наличному количеству глюкозы. Так что я считаю возможным утверждать, что утилизация пентозы и галактозы тесно связана с вопросом концентрации и природы той смеси сахаров, которая имеется в данной среде.

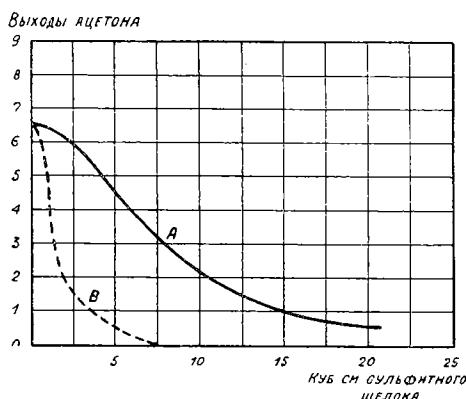
Таблица I.

Брожение глюкозы, галактозы и смеси той и другой.

Часы после посева.	0,1 норм. NaOH на 10 куб. см. среды.			Сахара на 100 куб. см. среды.		
	Глюкоза. Куб. см.	Галактоза. Куб. см.	Смесь той и другой. 1:1 куб. см.	Глюкоза. Гр.	Галактоза. Гр.	Смесь той и другой 1:1 Гр.
0	1,01	1,02	0,95	2,54	2,08	2,31
6	1,59	1,59	1,82			
11	3,45	3,36	3,72			
24	4,12	5,19	4,18			
30	3,74	5,48	3,54			
48	2,81	5,92	3,88			
72	2,53	6,02	4,92			
96	2,55	6,04	4,91	0,00	1,97	0,55
Сбродивший сахар в процентах				100	10	Глюкоза 100 Галактоза 47

Года два тому назад я получил от «Riordon Pulp and Paper Company» типичный образец сульфитного щелока. Я обращаю ваше внимание на несколько опытов, произведенных с этим образцом и остановлюсь на ацетонно-бутилово-спиртовом брожении. Мы взяли прежде всего склянки с маисовым клейстером и прибавили в двух сериях различные количества нейтрализованного и ненейтрализованного щелока. Мы сконцентрировали полученные нами жидкости на половину первоначального об'ема до концентрации сахара в 3,6%. В одном случае, как я только что сказал, мы нейтрализовали известью и углекислым кальцием, в другом—мы сохранили щелок ненейтрализованным. Затем склянки оставлялись в покое до полного прекращения брожения и обычным путем определялся выход ацетона. Я обращаю ваше внимание на два пункта полученных результатов (см. диагр. 4). Во-первых, обе кривые диаграммы показывают степень ядовитости сульфитного щелока или задерживающего его действия на брожение, при чем на оси абсцисс отложены количества сульфитного щелока, на оси ординат—

выходы ацетона. Брожение в средах с незначительным содержанием сульфитного щелока, не превышавшим 2%, и то уже не протекало нормально, и вы замечаете, как быстро оно падает при сравнительно малом повышении его содержания (кривая В). Во-вторых, вы замечаете, что ядовитость уменьшается предварительной нейтрализацией (кривая А). Поэтому, не вдаваясь в подробности, можно сказать, что во всяком случае нейтрализация жидкости отчасти помогает преодолеть те трудности, с которыми мы имеем дело на практике. Далее была поставлена серия опытов, которых я не описываю подробно и которые, в общем, показали, что при очень малых количествах сульфитного щелока брожение и потребление сахара имеет место. Я считаю возможным на основании всех своих опытов принять основное положение, что брожение, как я уже упоминал выше, состоит

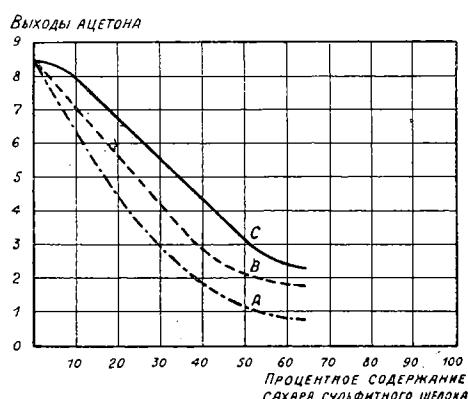


Диагр. 4.

Ядовитое действие сульфитного щелока.

А—с нейтрализацией.

В—без нейтрализации.



Диагр. 5.

Брожение маисового клейстера в присутствии сульфитного щелока.

А—прибав. сахара через 20 часов.

В— " " " 22 "

С— " " " 24 "

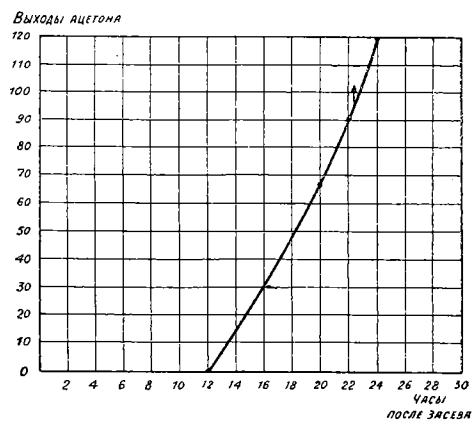
из двух различных фаз. Первая фаза—вегетативного роста—сопровождается образованием кислот. Во вторую фазу наблюдается потребление углеводов, сопровождающееся исчезновением промежуточных продуктов, этот процесс осуществляется наличными клетками и рост их при этом не имеет существенного значения. Исходя из этих соображений и считая, что ядовитость сульфитного щелока сказывается, главным образом, в период роста, мы ставили опыты с целью выяснить, нельзя ли получить лучшую утилизацию углеводов, прибавляя сульфитный щелок к среде (маисовый клейстер) в различные моменты брожения. Результаты изображены на диагр. 5. На оси абсцисс отложено процентное содержание сахара сульфитного щелока в среде, на оси ординат—выходы ацетона. Три кривых показывают результаты опытов, полученные при наличии соответствующих количеств сульфитного сахара, прибавл. через 20 (А), 22 (В) и 24 (С) часа после засева дрожжей. Опыты с меньшим промежутком в 10—20 часов мною не указаны, так как выходы ацетона были в этих случаях ничтожны. Отметим два пункта, представляющие интерес. Во-первых, ясно заметно благотворное

влияние задержки в прибавлении сульфитного щелока: выходы ацетона при одинаковых концентрациях ее тем выше, чем позднее прибавлялась жидкость. Во-вторых, на линии С заметна область в начале кривой (малое количество сульфитного щелока), для которой выход ацетона и бутилового спирта имеет нормальную величину—это наблюдалось приблизительно до 5%-%ного содержания сульфитного сахара в среде; изгиб кривой в верхней части, указывающей на этот факт, подтверждается многочисленными определениями и дальнейшими опытами.

Следующая диагр. 6 заимствована из той же серии опытов. Взяв среду с содержанием 80% маисового клейстера в 20% сульфитного сахара, я вычислил выходы ацетона, как проценты на одно только количество маисового клейстера. Вы видите, что при прибавлении сульфитного сахара через 12 часов после засева выход ацетона равен нулю,—это и есть тот промежуток времени, в который при брожении заканчивается рост клеток, так что в дальнейшем при брожении мы имеем дело уже с наличными клетками. Если прибавлять сульфитный сахар после этого срока через различные промежутки, то выход ацетона возрастает, достигая для 22 $\frac{1}{4}$ часов 100%, что на чертеже указано стрелкой. В этом месте мы имеем выход ацетона и бутилового спирта, отвечающий полному количеству одного только маисового клейстера, а выходы продолжают расти.

Я считаю это доказательством возможности сбраживания сахаров из сульфитного щелока с образованием ацетона и бутилового спирта.

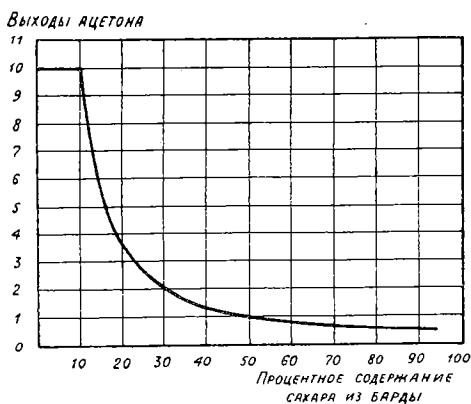
Прежде чем закончить, я хочу указать на важность установленного факта. Мы работали еще с другим возможным сырьем материалом—свекловичной бардой. Она оказывает такое же влияние на ацетонное брожение, как и сульфитный щелок. На диагр. 7 указано влияние различного процентного содержания барды на брожение маисового клейстера, когда она присутствует с самого начала брожения. До содержания в 10% выход нормальный, затем он резко падает, так что в этих условиях процесс не пригоден для техники. Но года два тому назад я и на этом примере имел случай проверить теорию двух стадий процесса брожения. На диагр. 8 указаны выходы ацетона, полученные в смеси маисового клейстера и 30% барды, когда последняя прибавлялась в различные стадии брожения. Если прибавление совпадает с началом брожения, выход ацетона не превышает 2%, при промежутках времени, протекших до прибавления, в 1—12 часов, выходы, хотя и возрастают, но остаются невелики, при промежутке же в 23 часа между началом брожения и прибавлением барды, выход ацетона становится нормальным.



Диагр. 6.

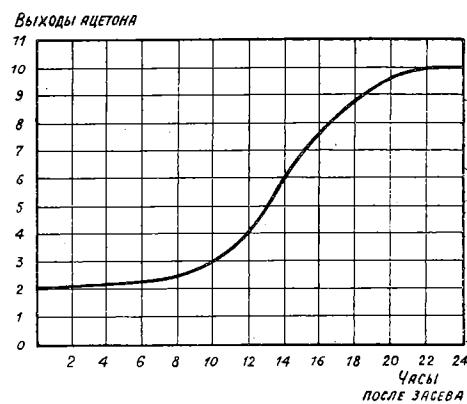
Таким образом, мне кажется, что намечен путь, которым можно устраниТЬ ядовитое и задерживающее действие на брожение сульфитного щелока. Но, конечно, многое в этом направлении еще должно быть исследовано.

В заключение я хочу заметить, что существуют организмы, которые способны сбраживать и потреблять не только продукты технической обработки целлюлозы, но и саму целлюлозу. Так, например, кишечник многих травоядных животных очень богат бактериями, образующими особую энзиму—цитазу. Возникает вопрос: нельзя ли использовать в технике эти организмы для получения полезных веществ непосредственно из целлюлозы.



Диагр. 7.

Брожение смеси майсового клейстера и свекловичной барды. Смешаны с самого начала брожения.



Диагр. 8.

30% свекловичной барды прибавленной к майсовому клейстеру через различные промежутки времени после начала брожения.

Надо однако отметить, что ядовитое действие, которое присуще, например, сульфитному щелоку или подобным ему материалам, присуще также и самому дереву. Доказано на опыте, что если поместить дерево в среду, содержащую сахар, и нейтральные минеральные соли, то само дерево оказывает ядовитое действие на брожение и задерживает рост обыкновенных дрожжей. Этот вопрос имеет большое значение для практики. Существуют однако процессы, в которых целлюлоза сбраживается возбудителями, которые содержатся в кишечнике травоядных, с образованием молочной и уксусной кислот. Остается открытым вопрос, насколько эти процессы могут быть выгодны на практике при необходимости сгущать получаемые слабые растворы кислот или их соли. Возможно также использовать в технике первые промежуточные продукты искусственного разложения клетчатки. На все эти вопросы можно получить исчерпывающие ответы только при совместной работе химика, инженера и биолога.

Н. III.