

FTB 47 (1) 96-100.

(FTB-2007)

Procjena aktivnosti piruvat dekarboksilaze različitih sojeva industrijskoga kvasca *in situ*

Sažetak

Piruvat dekarboksilaza (EC 4.1.1.1) jedan je od ključnih enzima u fermentativnom metabolizmu kvasca. To je prvi enzim koji u anaerobnim uvjetima dovodi do dekarboksilacije piruvata i nastanka acetaldehida. Svrha je ovog istraživanja bila razviti prikladnu metodu procjene aktivnosti piruvat dekarboksilaze različitih sojeva industrijskoga kvasca *in situ*. Sojevi vrsta *Saccharomyces* i *Debaryomyces* uzgojeni su u fermentacijskom mediju s 12 % glukoze. Procijenjena je aktivnost enzima u otopini stanica obrađenih digitoninom (koji povećava propusnost stanične membrane), uz dodatak natrijeva piruvata, pri temperaturi od 30 °C. Razgradni metaboliti piruvata određeni su plinskom kromatografijom. Za procjenu optimalne aktivnosti piruvat dekarboksilaze *in situ* praćeni su razni parametri: tip i koncentracija supstrata, minimalna efektivna koncentracija digitonina, gustoća stanica, vrijeme reakcije i učinak pirazola (inhibitora alkohol dehidrogenaze). U rasponu koncentracije stanica kvasca od $1 \cdot 10^7$ do $1 \cdot 10^8$ /mL zamijećena je linearna korelacija proizvedenog acetaldehida i gustoće stanica. Ustanovljeno je da je piruvat jedini specifični supstrat za enzim piruvat dekarboksilazu, te da je u prisutnosti 0,05 M natrijeva piruvata i 0,05 % digitonina enzimska reakcija imala linearni tijek prvih 20 minuta inkubacije. Tijekom inkubacije nije nastao etanol, pa je zaključeno da pirazol nije potreban u procjeni aktivnosti piruvat dekarboksilaze.

Ključne riječi: procjena enzimske aktivnosti *in situ*, piruvat dekarboksilaza, kvasci