



157-033223

УНИВ. БИБЛИОТЕКА

И. Бр. 49893

A

## Зимаза и алкохолно вреће.

Од Ивана Ђаје.

Од како је Buchner открио зимазу сматра се обично да се делаће жива кваса, т. ј. његова моћ претварања шећера у алкохол и угљену киселину, своди на делаће тога фермента. Зимаза је издвајана из кваса на више начина, њене су особине биле предмет многих изучавања, и њену ферментску природу не пориче готово нико више. Било да је представљена или не колоидалним честицама протопласне, она у сваком случају има особине које служе на дефиницију фермената: таложи се алкохолом, етером и ацетоном, не губећи своју моћ делања; може се сачувати дуже времена у осушену стању, али губи своју моћ делања грејањем изнад извесне температуре; најзад, многи антисептици без утицаја су на њену активност.

Ако је ферментска природа зимазе коначно утврђена, с друге стране пак није никако доказано да зимаза у живу квасу узима на себе целокупну појаву алкохолнога врећа, подразумевајући под тим именом ишчезавање гликозе и неких других моносахарида уз производњу алкохола и  $\text{CO}_2$ . Јер је познато да активност зимазе представља само врло мали део моћи превирања жива кваса из којег је зимаза добивена. Тако, по самоме Buchneru<sup>1)</sup>, 20 к. ц. кваснога сока добивена његовом методом, дају у додиру 8 гр. сахарозе (шећерни раствор од 40%) на темп. од 22°, до 1,87 гр.  $\text{CO}_2$ ; то је делаће довршено од прилике за 72 часа. По истоме истраживаоцу 20 к. ц. сока представљају 40 гр. пресована кваса. Међутим, један једини грам тога кваса, у додиру сахарозе на 8%, производи већ у року од 6 часова 1,5 гр.  $\text{CO}_2$  на темп. 30°. Премда та два огледа нису строго упоредљива, они нам ипак дају представу о огромној разлици која постоји између моћи делања жива кваса и зимазе која се из њега добива.

У одбрану своје хипотезе о квасу активну једино својом зимазом, против приговора које садржи горња чињеница, Buchner позива у помоћ три фактора, чија је стварност експериментално утврђена. Пре свега, извесно је да се ни једном употребљеном методом не издваја из кваса сва зимаза коју он садржи: на пример, кад се по Buchner-овој методи из 1000 гр. кваса добије 500 к. ц. сока, квас је далеко од тога да не садржи више зимазе, као што се можемо уверити испирањем масе кваса и песка која је остала у преси; затим, жив квас је кадар за време свога делања производити нове количине зимазе, док издвојени квасни сок није, разуме се, у стању

<sup>1)</sup> Buchner, A. Buchner und W. Hahn. Die Zymasegärung. München 1903, стр. 86.

УНИВЕРЗИТЕТСКА БИБЛИОТЕКА

ОД

Др. Ђе Високић С. Урошевић



то учинити; најзад, сок садржи један чинилац разоравања зимазе, ендотрипсин, чије деловање може бити надокнађено само у живу квасу производњом нове зимазе.

Сви ти фактори играју, без сумње, извесну улогу у појави о којој је реч. Али је питање да ли они сами могу дати објашњење несразмерности која постоји између моћи превирања жива кваса и његове издвојене зимазе. Истраживаоци који су се позабавили у последње доба тим питањем, нарочито Rubner и Euler, мишљења су да се целокупна моћ превирања жива кваса не може ставити на рачун зимазе, какву је Buchner схвата. Овај сам рад предузео у циљу разјашњења тога питања.

### І. Квас и толуол.

Квас можемо усмртити оставивши му при томе извесну моћ превирања. Тај се циљ постизава сушењем кваса на ваздуху или у празнини, таложењем алкохолом, етером, ацетоном, и т. д. Квасови добивени на те разне начине имају обично јачу моћ превирања од сока који се може добити из свежа кваса. На пример, R. Albert<sup>1)</sup> је успео да са једним таквим квасом разори 5 пута више шећера него ли са одговарајућим соком. Али ипак моћ делања тих мртвих квасова представља само мали разломак активности свежа кваса. Тако је, на пример, Rubner<sup>2)</sup> нашао својом калориметријском методом, да „зимин“ (квас убијен ацетоном) има моћ превирања која представља само 3% моћи превирања жива кваса. Исти писац даје још следеће бројеве, које је добио рачунањем из Buchner-ових података, а који представљају моћ превирања „зимине“ и кваснога сока у проценту моћи превирања одговарајуће количине свежа кваса:

сок добивен пресовањем	1,6%
зимин . . . . .	4,6%

Што се тиче „зимине“, не може бити говора о смањивању моћи превирања губитком зимазе, као у случају сока, јер се овде убијени квас употребљује у целини. Овде се можемо позивати само на рушилачко дејство ендотрипсине и употребљеног ацетона на зимазу. Ова друга могућност може се потпуно избећи употребом толуола, за који се поуздано зна да нема никаква знатна утицаја на зимазу. Међутим, убије ли се квас толуолом, његова моћ превирања, као што ћемо даље видети, спада на необично ниску вредност. То смањивање моћи превирања не може се дакле приписати утицају толуола на зимазу, а ни некоме губитку зимазе као кад се ова извлачи из кваса пресовањем. О толуолизовану квасу Buchner<sup>3)</sup> се изражава овако: „Огледи показују да жив квас под утицајем толуола укида од једном своје ферментативно делање; стварају се још трагови CO<sub>2</sub>, који одговарају резерви зимазе која се налази у ћелији. Исти је квас производио у истим погодбама, али без додатка толуола, бујно превирање; значи да се нова зимаза непрекидно стварала“.

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Gesell. 33, 3777, 1901.

<sup>2)</sup> Die Ernährungsphysiologie der Hefezelle bei alkoholischer Gärung. Leipzig 1913, стр. 59.

<sup>3)</sup> op. cit. стр. 180.

Vuchner замишља дакле да квас садржи само трагове зимазе, а да би објаснио моћно делање жива кваса, које се не би могло ставити на рачун тих трагова зимазе које налазимо у толуолизовану квасу, он претпоставља да се у активну квасу зимаза брзо и непрекидно ствара. Али та се зимаза мора разоравати готово чим се појави, јер иначе не може се разумети зашто се не налази зимаза у изобиљу у квасу који тренутно убијамо док је у бујноме превирању, помоћу толуола, који је без штетнога утицаја на зимазу. Дакле, хипотеза која би хтела да жив квас делује једино својом зимазом, може се оправдати само ако је доказано да је количина зимазе у квасној ћелији једна врло нестална ствар, т. ј. да квас који у одмору садржи само трагове зимазе, садржаваће је у изобиљу чим буде био у додиру са шећером који превире под његовим утицајем, а да ће опет садржавати само трагове зимазе чим се квас усмрти толуолом. У следећим редовима испитиваћемо вероватност те хипотезе.

## II. Огледна техника.

У следећим огледима јачина алкохолнога врења мерена је произведеном угљеном киселином, а количина ове одређивана је притиском што га развија у затвореноме суду. У томе циљу удесио сам овај прости апарат: два купаца суда за филтровање ваздушном празнином (запремина 140 к. ц.) везана су један за други својим бочним отвором, помоћу једне јаке цеви од каучука, од 12 цм дужине; један од та два суда, кроз чији чеп од каучука пролази крак једне мале стаклене славине, садржи течност која превире; други суд, кроз чији чеп пролази једна стаклена цев од 70 цм. висине а 4 мм. унутрашњег пречника, и која силази до дна суда, игра улогу манометра; у томе циљу садржи слану воду (50 гр. NaCl на 1000) или течност коју Brodie препоручује за течне манометре (500 к. ц. H<sub>2</sub>O, 23 гр. NaCl, 5 гр. холеината натриума).

Пошто се у следећим огледима није тичало мерења апсолутне моћи превирања, већ односне, или у функцији времена или упоредно, то је висина течности у манометру њена непосредна мера.

Пре сваког мерења неопходно је потребно истерати мућкањем течности која превире, гас којим је презасићена. Не учини ли се то, тада казивања манометра дају лажну представу о току појаве превирања. Међутим, изгледа да неки истраживаоци нису држали рачуна о тој основној опрезности (H. Schulz,<sup>1</sup>) L. Iwanoff<sup>2</sup>) док Slator<sup>3</sup>) и Hägglund<sup>4</sup>) нису учинили ту погрешку.

У упоредним огледима, два истоветна апарата стајала су један поред другога.

Пример осетљивости апарата: 50 мгр. сахарозе у 50 к. ц. воде дају под утицајем кваса на темп. од 13° количину CO<sub>2</sub> која уздиже течност у манометру на висину од 22 цм.

<sup>1</sup>) Pflüger's Arch. 120, 51. 1907.

<sup>2</sup>) Centralbl. f. Bacter. (II) 24, 429, 1909.

<sup>3</sup>) Trans. of the chem. Soc. 89, 128, 1906.

<sup>4</sup>) Hägglund. Hefe und Gärung. Stuttgart 1914.

Да би се искључила могућа компликовања проузрокована дисањем кваса док у апарату има још кисеоника, у неким огледима сам претходно истиснуо атмосферу апарата угљеном киселином, и овом заситио течност која је намењена превирању.

### III. Ток превирања.

Толуол, рекосмо, нема утицаја на моћ превирања зимазе кваснога сока. Убијемо ли квас толуолом, моћ превирања која му преостаје биће дакле мера присутне зимазе у квасовој ћелији. Толуолизовањем, моћ превирања жива кваса необично се смањује. Следећи оглед то показује:

#### I. оглед.

I. 5 гр. пресована пивскога кваса натопљено је са 1, 5 к. ц. толуола, па размућено са 25 к. ц. воде; томе се дода 25 к. ц. раствора сахарозе, који садржи 5 гр. тога шећера.

II. Као и I. али без толуола.

Температура 19°.

Време	H (Висина манометра)	
	I	II
првих 30'	27	$8 \times 65 = 520$
следећих 30'	26,5	$8 \times 65 = 520$

Према томе, моћ превирања толуолизована кваса представља у овоме огледу мање од 5% моћи превирања жива кваса. Како објаснити тај штетљиви утицај толуола? Истина је да се у последње доба показало да толуол није сасвим без утицаја на зимазу: Buchner и Skraup<sup>1)</sup> нашли су да смањује моћ превирања кваснога сока, добивена методом Лебедева, за 10—20% у почетку, а незнатно после 320—340' делања тог сока на шећерни раствор. Али тај се утицај не може упоредити са утицајем толуола на жив квас, који губи тиме, као што видесмо у горњем огледу, више од 95% своје моћи. Највећи удео у том разоравању ферментативне моћи извесно је да се не може приписати утицају толуола на зимазу, каква се налази у квасову соку; јер би тешко било наћи оправдања хипотези, да толуол разорава много већом жестином исти фермент кад се овај налази у квасном организму, него ли када је издвојен из њега; затим, требало би објаснити зашто моћ превирања жива кваса, спавши толуолизовањем нагло на врло ниску вредност, остаје на том ниском степену подуже времена (видети огл. VI. и VII.), ако је целокупна моћ превирања жива кваса припадала једноме јединоме чиниоцу.

<sup>1)</sup> Buchner und Skraup. Wirkung von Toluol auf die Gärungsvorgänge. Biochem. Zeitschr. 82, 134, 1917.

Видели смо да Buchner мисли да квас у одмору, а у томе је стању био квас који сам толуолизовао, садржи само трагове зимазе, и да се ова појављује у озобиљу чим квас ступа у ферментативну активност. Према томе, слаба моћ превирања толуолизована кваса објаснила би се просто тиме, што тај квас није садржавао више зимазе у тренутку када је толуолизован, а куд и камо већа моћ жива кваса нашла би објашњења у наглој и изобилној производњи зимазе кад се квас налази у шећерној средини. Да видимо да ли се та хипотеза може оправдати.

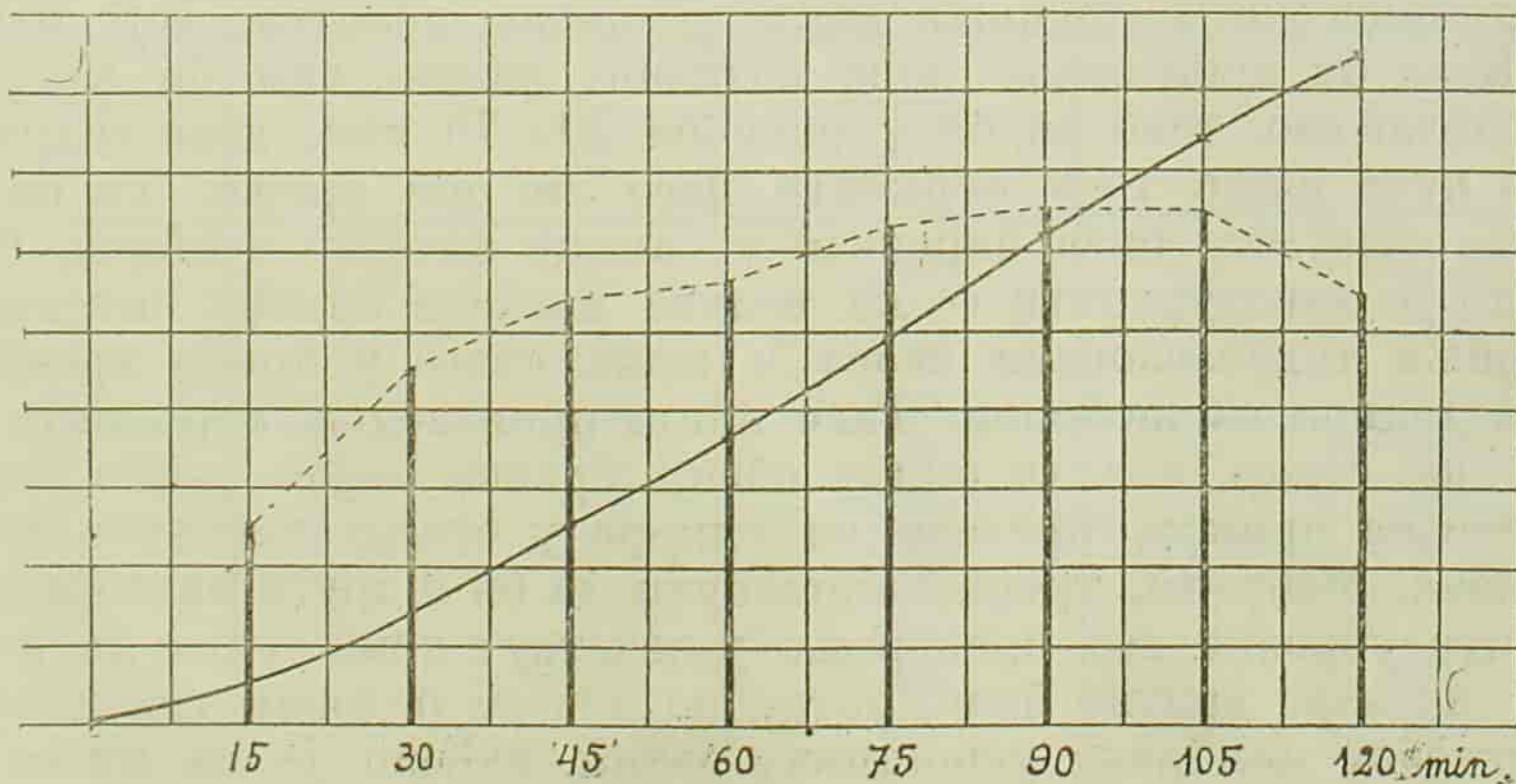
Ако се зимаза већим делом појављује тек пошто се квас налази у средини у којој може проузроковати врење, тада морамо наћи одјека те чињенице, пратећи брзину врења од његова почетка. У следећем огледу праћена је производња угљене киселине, у размацима од 15 минута, од тренутка када је квас ступио у додир са раствореним шећером. Да би се искључило дисање кваса, ваздух је био претходно истиснут из апарата угљеном киселином, којом је и течност са квасом била засићена; шећерни раствор се налазио у једној малој епрувети, затвореној у суду за превирање: пошто је ваздух био истиснут, као што рекох, и апарат затворен, тада су квас и шећерни раствор измешани нагињањем суда што их садржи. Течност је била слабо закисељена ацетном киселином, да не би случајно у почетку угљена киселина остала везана у течности.

## II. оглед.

4 гр. хлебарскога кваса + 50 к. ц.  $H_2O$  + 3 гр. сахарозе.  
темп.  $23^{\circ}$ .

Време	H <sup>1)</sup>	Време	H <sup>1)</sup>
15'	25	75'	63
30'	45	90'	65
45'	54	105'	65
60'	56	120'	54.

Резултати тога огледа представљени су графички сликом 1. Кривуља представља ток развијања  $CO_2$  у функцији времена; а



Сл. 1.

<sup>1)</sup> При свакоме мерењу полази се од нуле, тако да бројеви назначују количине  $CO_2$  развијене у назначеним размацима (15'), а не збир целокупног  $CO_2$  од почетка огледа.

усправне дебље црте, количине  $\text{CO}_2$  развијане у размацама од 15'. Лако је опазити да квас није достигао одмах у почетку на максимум своје моћи превирања, него тек после 60 минута; али је већ после 30' моћ превирања била близу врхунца.

У једноме другоме огледу, на темп.  $22^\circ$ , моћ превирања достигла је на максимум после 45 мин., а у следећем огледу, у коме је на место сахарозе употребљена гликоза, да би се искључило дејство инвертива, максимум је готово постигнут већ после 30 мин.

### III. оглед.

3 гр. хлебарскога кваса + 50 к. ц.  $\text{H}_2\text{O}$  + 5 гр. инвертована шећера.

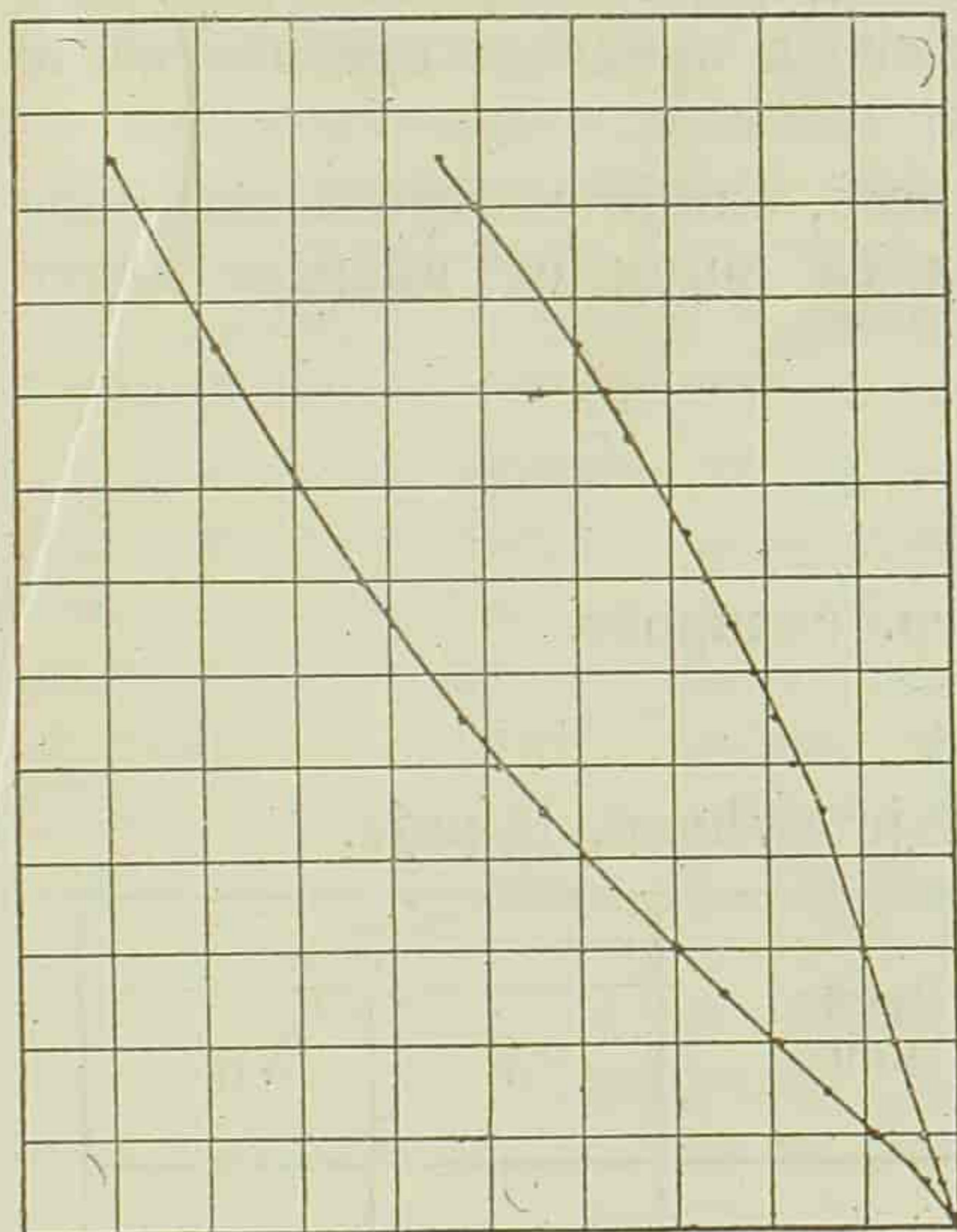
Темп.  $24^\circ$ .

Размаци времена од 10'	Н	Размаци времена од 10'	Н
I	27	VIII	46,5
II	35	IX	46,5
III	37,5	X	46
IV	44	XII	40
V	44	XIII	36
VI	47	XIV	33
VII	48	XV	36,5

Са пивским квасом добивају се слични резултати. У једноме огледу максимум је био достигнут после 45 мин.

Сви ти огледи казују да алкохолно врење достиже тек после извесна времена на врхунац своје јачине. Та би чињеница могла говорити дакле у прилог хипотезе коју изнесмо горе. Квас би производио нове количине зимазе чим би алкохолно врење отпочело, тако да би у року од 30—75 мин. квас садржавао око 20 пута више тога фермента пего ли пре врења. Та би производња фермента била нарочито у самоме почетку необично бујна, као што је лако уверити се из велике разлике између интенситета превирања толуолизована кваса и жива кваса у првим тренуцима његова додира са шећером. Тако нагла производња фермената није немогућна ствар, кад се има у обзир брзина којом разне жлезде, панкреас на пример, прелазе из одмора у стање активног лучења фермената. Међутим, треба напоменути да би и други фактори могли објаснити убрзани ход превирања у почетку: нема сумње да је неко време, ма како кратко било, потребно док се редован ток дифузије кроз квасову мембрану успостави; затим, нађено је за многе ферментске реакције да су у самоме почетку нешто спорије него у даљем току, а и за неке чисто каталитичне реакције (на пр. растављање метилацетата киселинама) исти је случај.

Недавно је Е. Abderhalden<sup>1)</sup> објавио један рад који се бави изучавањем тока алкохолнога врења живим квасом. У тим огледима Abderhalden се служио својим кантаром који аутоматски записује промене тежине предмета који је на њему, у функцији времена. У случају алкохолнога врења, на тај се начин записују промене тежине због испуштања угљене киселине из суда у коме се врши превирање.



Сл. 2.

Том методом Abderhalden је нашао да треба подуже времена док врење достигне максимум интензитета; у његову огледу представљеном сл. 2 поменутога рада, врхунац превирања достигнут је тек након 7 часова. Али је лако опазити да испуштени гас из непомичнога суда на кантару не представља сав произведени  $\text{CO}_2$ ; нарочито у почетку превирања, највећи део овога задржан је у течности, која се њиме презасићује, и тек после тога, испуштани гас одговара произведеноме у истом размаку времена. У следећем огледу пратио сам упоредо мојим апаратом алкохолно врење, с једне стране не држећи рачуна о презасићености, а с друге стране избегавајући ову мућкањем течности пре сваког мерења притиска.

## IV. о г л е д.

1 гр. кваса + 250 к. ц.  $\text{H}_2\text{O}$  + 10 гр. сахарозе.

У два апарата стави се по 50 к. ц. горње мешавине. У апарату I мерење се врши сваких 20 мин., пошто је гас који презасићује претходно истеран из течности; у апарату II, напротив, не држи се рачуна о томе гасу.

Време мин.	S <sup>2)</sup>		Време мин.	S <sup>2)</sup>	
	I	II		I	II
20	7,5	3,5	260	—	47,8
40	18	7	280	125,8	52,9
60	28,5	10,3	300	—	57,8
80	39	13,3	320	—	—
100	49,3	16,5	340	—	68,5
120	59,8	19,8	360	—	74,0
184	87,7	27,7	380	156,9	80,4
200	97,3	34,8	400	—	—
220	105,3	38,8	420	—	—
240	—	43,3	440	—	100,6
			460	188,3	109,3

<sup>1)</sup> Е. Abderhalden. Die Verwendung der Gewichtszu- und -abnahme automatisch registrierender Wage zu Studien über Fermentwirkungen etc. Fermentforschung, 155 u. 229, 1915.

<sup>2)</sup> У овоме огледу, као што се види, S назначује целокупну количину (релативну)  $\text{CO}_2$  која је произведена од почетка огледа.



Вредности под I. дају нам стварни ток превирања у року од 7,5 часова; он је представљен горњом кривуљом слике 2. Као што се види, почетни успорени део превирања једва је приметљив (максимум је већ постигнут после 20 мин.), док за II. кривуљу има супротан изглед, и на крају огледа има много нижу вредност од I., тако да би се могло закључити да је у превирању II. произведено мање  $\text{CO}_2$ ; али то није случај, јер истеравши на крају огледа  $\text{CO}_2$  из презасићене течности, његова вредност прелази нагло од 109,3 на 221,8.

Следећи оглед сличан је пређашњему, али је употребљено више кваса, т. ј. од прилике она количина са којом су вршени други огледи у овоме раду.

#### V. оглед.

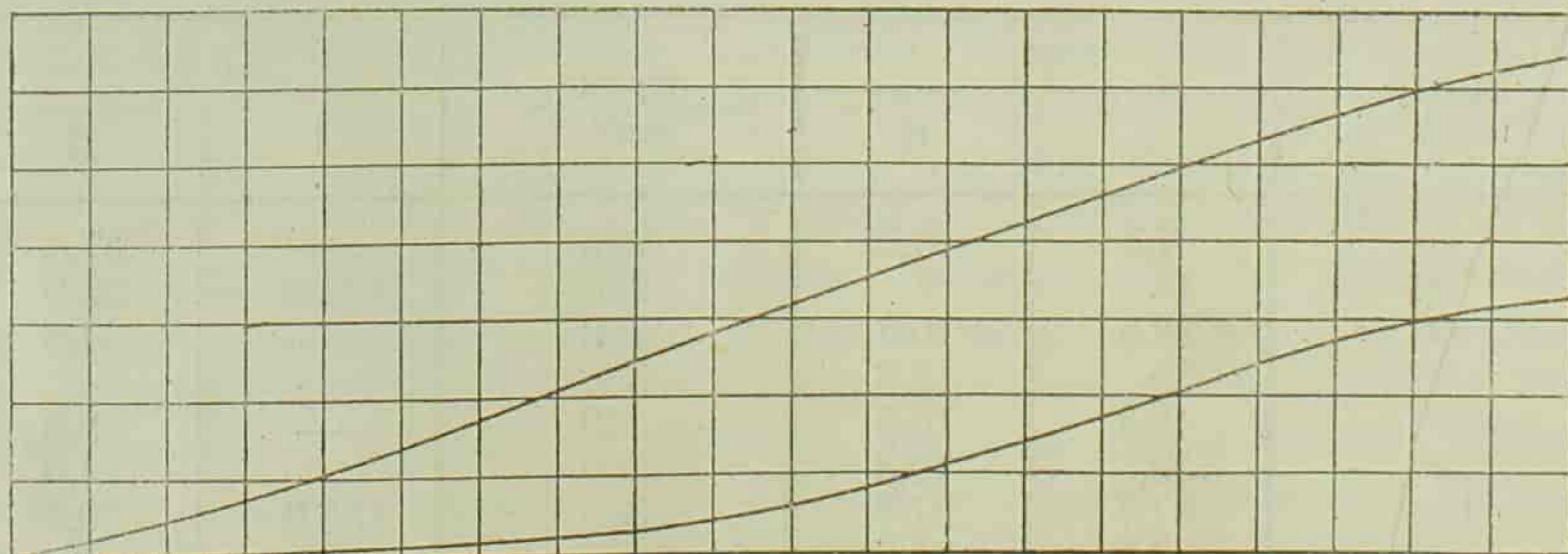
5 гр. кваса + 50 к. ц.  $\text{H}_2\text{O}$  + 5 гр. сахарозе.

Темп.  $24^\circ$ .

I и II садрже горњу мешавину. I је мућкан, II није.

Време мин.	S		Време мин.	S	
	I	II		I	II
20	108	9	80	534	243,5
40	249	26,5	100	648	331,5
60	392	116,5			

На крају огледа, II прелази мућкањем од 391,5 на 635. Сл. 3. показује, између осталог, како је и у овоме огледу незнатна успореност превирања у почетку I (горња крива линија), према ономе што се посматра за II.



Сл. 3.

Ти огледи јасно казују да почетна успореност превирања, коју смо забележили, нема ничега заједничкога с оном коју је забележио Abderhalden, а која очевидно има свога узрока у презасићености течности



која превире, произведеним  $\text{CO}_2$ . У ова два огледа видимо да превирање доспева већ после 20 мин. на врхунац своје јачине, дакле још брже него у раније изложеним огледима (30—60 мин.).

#### IV. Ток превирања са толуолизованим квасом.

По Buchner-у<sup>1)</sup> „жив квас под утицајем толуола укида од једном своје ферментативно делање; стварају се још трагови  $\text{CO}_2$ , који одговарају резерви зимазе, која се налази у ћелији“. Euler и Kullberg<sup>2)</sup> изражавају се о истоме предмету: „У присуству толуола преостаје дакле највише 1% моћи превирања, па и тај преостатак ишчезава након неколико часова“.

И ако је истина да је моћ превирања толуолизована кваса врло слаба према превирању жива кваса, она се ипак може сматрати незнатном само ако се то исто учини, и са више разлога, и са моћи превирања зимазе издвојене из кваса, којој се Buchner не устеже приписати целокупну појаву алкохолнога врења. Јер кад Euler и Kullberg добивају незнатно превирање са 0,5 гр. толуолизована кваса у 25 к. ц. воде, не треба заборавити да та количина кваса представља 0,25 к. ц. сока који се може извући из кваса, и да се зимазом коју садржи та количина сока не би, вероватно, добило уопште никакво превирање. Да бисмо били у сличним погодбама као у огледима са квасовим соком, у којима се обично употребљује бар 10 к. ц. овога, требало би толуолизовати око 20 гр. кваса. Употребљујући пак 10—15 гр. толуолизована кваса, у 50 к. ц. течности, посматрао сам моћ превирања, у почетку огледа, од 5% моћи жива кваса, а која само полако опада у току од 24 часа, као што се може видети у VI. и VII. огледу.

Дакле, квас који је толуолизован изван врења, садржи само мале количине зимазе. Међутим, тај исти живи квас, дода ли се шећерноме раствору, производи одмах бујно превирање, које, као што видесмо, после кратког времена достиже на свој врхунац, који је око 20 пута виши од моћи превирања толуолизована кваса. У смислу хипотезе по којој би квас деловао једино својом зимазом, та би чињеница значила да је квас, за то кратко време живота у шећерној средини, повећао за 20 пута количину своје зимазе. Ако је заиста тако, то би квас који је толуолизован за време бујнога врења, требао да садржи много више зимазе него изван врења. Толуолизујмо дакле квас у првој погодби.

#### VI. оглед.

10 гр. пивскога кваса + 50 к. ц.  $\text{H}_2\text{O}$  + 5 гр. сахарозе. Пошто је жив квас био 30 мин. у додиру са шећером и превирање се нагло упутило, дода се течности 4 к. ц. толуола, добро се промућка, и од тога се тренутка у размацама од 30 мин. мери ток превирања:

<sup>1)</sup> Op. cit. стр. 180.

<sup>2)</sup> Euler und Kullberg. Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 85, 1911.

Време	Н	Време	Н
19./VI. 1916. (темп. 19°) од 12 ч.—12 ч. 30' р. м.	8×65+30=550 толуолизовање.	4:35—5.5	19,5
		5.5—5:35	20
		8.5—8:35	16,5
		8:35—9.5	18,5
12.30—1	75	20./VI. (темп. 20°)	
1—1:30	33	11:15—11:45 а. м.	15.5
1.30—2	27,5	11:45—12:15	12,5
2—2:30	23,5	2:30—3	13
2:30—3	23,5		
3:0—3:30	23,5		
3:30—4	20,5		
4—4:35	21,5		

Из овога се огледа види да моћ превирања жива кваса нагло и дубоко спада толуолизовањем. За првих 30' по толуолизовању превирање је спало од 550 на 75, дакле на 19<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; али и следећих 30 мин. моћ превирања још знатно опада, од 75—33, дакле на 6<sup>0</sup>/<sub>0</sub> моћи превирања пре толуолизовања; у доцнијем току реакције, моћ превирања полако опада, као што је случај и са живим квасом. Према томе, 30' после толуолизовања, ферментативна моћ кваса има управо ону вредност коју је имала у кваса у одмору, изван превирања (видети I. оглед).

Следећи оглед даје сличне резултате пређашњим:

#### VII. оглед.

15 гр. кваса + 50 Н<sub>2</sub>О + 5 гр. сахарозе. Темп. 20°. Мере су вршене у размацима од 26 мин.

Време	Н	Време	Н
29./V. 1916	12×65=780 толуолизовање	8.5—8:31	23
3 ч. 34'—4 ч. р. м.		8:31—8:57	26
4—4:7		8:57—9:23	24
4.7—4:33	59	11:15—11:41	29,5
4:33—4:59	34	30./V. 1916	
4:59—5:25	32	10:30—10:56 а. м.	28

У овоме огледу превирање спада за првих 26' који следују толуолизовању, од 780 на 59, дакле на 7,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Идућих 26' спада на 34, т. ј. на 4,3<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, и од тада опада врло споро, тако да се после 18 часова моћ превирања још налази у близини те вредности.

Из горњих резултата излази, да моћ превирања жива кваса у пуноме јеку његова делања, спада толуолизовањем на моћ превирања жива кваса толуолизована изван превирања. Али тај пад не врши се тренутно; у мојим огледима потребно му је око 30 мин. Спавши на ту вредност, моћ превирања се само слабо и лагано мења.

Држећи се хипотезе о квасу активну једино својом зимазом, ова би се факта објаснила ишчезавањем, разоравањем зимазе у толуолизовану квасу ендотриптазом. Али би се требало чудити брзини којом је, с једне стране, уништен највећи део зимазе, а с друге стране отпорности малог остатка тог фермента, који је, изгледа, увек присутан у квасовој ћелији.

Ако се претпостави да живот кваса игра улогу у алкохолноме превирању и на неки други начин до помоћу зимазе, тада би онај рок, потребан толуолу да сведе моћ превирања на сталну вредност, могао, ваљда, наћи објашњења у томе, да толуол не утиче тренутно свом својом моћи на живот кваса који лебди у води, већ да је неко кратко време потребно његову продирању у ћелију, и испуњењу његова дејства. Да видимо да ли се то последње мишљење може чињеницама оправдати.

#### V. Утицај стања кваса на толуолизовање.

Вероватно је да толуол, као што рекосмо, у воденоме раствору не достиже тренутно на врхунац свога утицаја према квасу који лебди у истој течној средини. Покушајмо дакле да толуолизујемо, с једне стране, квас у пресовану стању, т. ј. да га непосредно натопимо толуолом, а с друге да га толуолизујемо у суспензији у води, и у истоме тренутку кад додамо толуол додајмо и шећерни раствор.

#### VIII. оглед.

15 гр. пивскога пресована кваса натопи се са 1,5 к. ц. толуола, измеси се добро у малу авану од порцелана, пак се брзо размути у 30 к. ц. воде, чему се дода одмах 5 гр. сахарозе растворене у 20 к. ц. воде. Цео тај поступак није трајо ни 5 мин. Темп. 21°. Мерење  $\text{CO}_2$  отпочиње одмах, у размацама од 25 мин.

Време мин.	Н	Време мин.	Н
25	21	125	18,5
50	20	150	19
75	21,5	175	21
100	19	200	21

Овај оглед и идући, извршен у истим погодбама, показују јасно да жив квас толуолизован у пресовану стању има одмах по толуолизовању сталну моћ превирања.



## IX. оглед.

Време мин.	Н	Време мин.	Н
30	31	120	30
60	30	150	33
90	29	180	33

Да видимо сада шта се дешава са квасом који лебди у течној средини и који је толуолизован, али не за време превирања (као у огл. VI. и VII.), већ у истоме тренутку када долази у додир са шећером:

## X. оглед.

15 грама кваса добро размућена у 30 к. ц.  $H_2O$  + 5 гр. сахарозе растворене у 20 к. ц. воде која садржи 1,5 толуола. Темп.  $21^{\circ}$ . Мерења су вршена у размацама од 25 мин.

Размак од 25'	Н	Размак од 25'	Н
I	50	IX	36,5
II	39,5	XIX	37
III	28	XXI	34

Насупрот ономе што смо посматрали у пресована кваса, видимо да квас у води, који је толуолизован пре појаве превирања, има у почетку знатно јачу моћ превирања него у даљем току реакције, дакле исто онако као у кваса толуолизована за време врења (огл. VI. и VII.). Из горњих чињеница закључујем: прво, да се нагло опадање моћи превирања, које траје неко доба иза толуолизовања кваса у пуном јеку превирања, не може приписати ишчезавању некога чиниоца, зимазе на пр., који се појављује у квасу за време превирања, јер смо видели да се иста појава посматра и у кваса толуолизована у течној средини пре превирања (X. огл.); друго, пошто се та појава не посматра ако се квас непосредно толуолизује, т. ј. натопа у пресовану стању толуолом, да јој је узрок: спорије дејство толуола на квас, кад он лебди у води.

Видели смо да моћ превирања жива кваса спада нагло и врло ниско толуолизовањем, али да се, достигавши на тај ниски степен, врло споро удаљава од њега. Када би се оно нагло и огромно смањивање моћи превирања под утицајем толуола приписивало разоравању зимазе, тада је неразумљиво зашто би њен остатак у толуолизовану квасу био поштеђен од те разорљиве моћи толуола. Затим, по Вичнер-овој хипотези, квас при превирању садржи несразмерно више зимазе од кваса у одмору; међутим, толуолизо-

вањем моћ превирања спада у једнога и другога на исту вредност. То би значило приписати чиниоцу разоравања зимазе, ендотриптази, чудновате особине делања, што није ничим оправдано. Следећи оглед показује како моћ превирања жива кваса спада толуолизовањем управо на ону вредност коју има моћ превирања кваса толуолизована пре превирања:

#### XI. оглед.

I. 10 гр. кваса + 50 к. ц.  $H_2O$  + 5 гр. сахарозе.  
II. 10 гр. кваса + 30 к. ц.  $H_2O$ .

Темп.  $23,5^{\circ}$ .

После 15', превирање је бујно у I. Тада се толуолизује I. и II.: I. додавши му 1,5 к. ц. толуола, а II. додавши му 20 к. ц. воде која дадржи 5 гр. сахарозе и 1,5 к. ц. толуола. После 50 мин. приступи се мерењу моћи превирања од тога тренутка, истеравши претходно сас који се је дотле нагомилао у течности.

Време	Н	
	I.	II.
6ч. 40'—8 ч.	52	52,5
8·40—10·10	82	81
10·10—11·15	50	51

#### VI. Инвертин и толуол.

То понашање зимазе, како га Вичнер замишља, било би у толико чудноватије што се један други ферменат кваса, инвертин, понаша сасвим друкчије. И ако су следећи резултати у главном већ били познати, износим их са своје важности према резултатима добивеним са зимазом:

Прво, моћ инверсије (т. ј. моћ хидролизе сахарозе) инвертина иста је у жива и у толуолизована кваса:

#### XII. Оглед.

I. 2 гр. хлебарскога кваса + 50 к. ц. раствора сахарозе на 10%.  
II. 2 гр. истога кваса толуолизована у пресовану стању + 50 к. ц. сахарозе 10%.

Темп.  $21^{\circ}$ .

После 30' хидролизовано је сахарозе у  $\left\{ \begin{array}{l} \text{I.} = 2,35 \text{ гр.} \\ \text{II.} = 2,75 \text{ гр.} \end{array} \right.$

Држећи рачуна о несталу шећеру превирањем у I., излази да је у I. и II. хидролизована иста количина сахарозе.

Друго, моћ инверсије жива кваса, који је у пуном јеку ферментативног делања, не спада толуолизовањем, као што то бива за алкохолно превирање.

## XIII. оглед.

50 к. ц. раствора сахарозе на 10% + 2 гр. хлебарскога кваса.

Темп. 23,5°.

После 30'  $N = 57$ ; у томе тренутку хидролизовано је 63,7% сахарозе. Толуолизовање. После идућих 30'  $N$  достиже само 8, док је сва сахароза већ хидролизована.

Ови се резултати слажу с оним што смо могли очекивати, с обзиром на познату чињеницу, да толуол нема готово никаква утицаја на делање инвертина издвојена из кваса.

## Закључак.

Квас, толуолизован изван појаве алкохолнога врења, има само слабу моћ превирања. Тај исти квас, додан жив раствору шећера, производи бујно и нагло превирање, али које достиже свој врхунац тек после 20—75 мин.; тај је врхунац око 20 пута виши од моћи превирања толуолизована кваса. Толуолизује ли се квас у пуном јеку превирања, његова моћ превирања спада нагло, тако да је након 30 мин. дошла на ону исту вредност коју нађосмо у кваса толуолизована изван врења. У једном и у другом случају та ниска моћ превирања остаје дуже времена готово непромењена. Buchner објашњује те чињенице: слабом количином зимазе коју квас садржи у одмору, наглom и бујном производњом тога фермента у кваса који превире, тако исто наглим разоравањем истoга фермента у кваса толуолизована за време превирања.

У изложеним огледима нисам нашао оправдања тој хипотези. Истина је да квас дошавши у додир са шећером не развија одмах, тренутно, своју максималну моћ превирања, што би се могло тумачити појављивањем највећег дела зимазе тек под утицајем додира са телом који превире; али, с обзиром на следеће чињенице, мислим да та почетна, уосталом не врло знатна успореност превирања има другога узрока, наиме потреба извеснога времена да се измене између кваса и његове средине успоставе редовним током, потреба да се, као и у неких каталитичних појава, реакција „упути“. Затим, мислим да за сада није могуће објаснити оно нагло опадање моћи превирања, при толуолизовању кваса који се налази у бујном делању, разоравањем присутне зимазе; јер се таква моћ разоравања не може приписати ни толуолу ни ендотриптази кваса, а још мање кад се има на уму да толуолизовањем квас сачува увек извесну моћ превирања: дакле, с једне стране, тако рећи, муњевита моћ разоравања највећег дела зимазе, а с друге моћ поштеде према мањем делу. Ако моћ превирања жива кваса, у шећерној средини не спада баш тренутно толуолизовањем на минимум, мислим да сам томе нашао узрока у тежем делу толуола, кад се квас налази у суспензији у течности, него ли када је толуол непосредно у додиру са пресованим квасом. Најзад, видели смо да се други ферменат кваса, инвертин, сасма друкчије понаша према толуолизовању, т. ј. онако како се могло очекивати према познатим особинама фермената.

Према томе, ако се целокупна моћ превирања жива кваса не може приписати зимази ни ферментима уопште, тада се мора опет позвати живот кваса у помоћ. Нема сумње да је неблагодаран задатак хтети поново увлачити живот у једну појаву која је била сведена на ферментске акције. Али ако нећемо да изиђемо потпуно из оквира факата, немогуће је приписати ферментима читаву једну појаву од које само 5% припада несумњиво зимази. Разуме се да није немогуће да је квас активан, неким непознатим нам начином, једино својом зимазом. Али ту могућност треба открити. Проналаском зимазе, фермента који производи главну хемијску реакцију алкохолнога врења, прешло се из једне крајности у другу: алкохолно врење, сматрано дуго „виталном појавом“, почело се од једном сматрати чисто ферментском појавом; тако се у једноме распрострањену хемијском уџбенику може читати ово симплистичко схватање: „Квасне ћелије имају само то значење, што производе зимазу“<sup>1)</sup> Као год што је опасно било „објашњавати“ разне биолошке појаве животном силом, тако је исто штетно сматрати их ферментским појавама кад о томе немамо друга доказа до да се исти хемијски резултат појаве може добити и помоћу фермената. Открићем зимазе сматрало се неко доба да се изучавање појаве алкохолнога врења своди на изучавање тога фермента. Тек у последње доба почело се опајати да ствар није тако једноставна.

По Rubner-у<sup>2)</sup>, имамо у живу квасу поред „зиматичног превирања“ и „витално превирање“, са примедбом да витално не значи нешто тајанствено, већ непознато.

Увидевши недовољност Buchnerове теорије, Euler<sup>3)</sup> је измислио да је највећи део зимазе везана у ћелији за протопласму, и да је делатност те зимазе зависна од животног активитета протопласме: без живота нема ни активитета те зимазе. Али се треба запитати, да ли можемо дати име фермента једноме чиниоцу који није активан без учешћа живота, кад је управо главна карактеристика фермената да делују у одсутности живота. Па и том хипотезом долазимо најпосле до тога, да највећи део појаве алкохолнога врења треба приписати животу квасне ћелије, пошто та „зимаза“ није активна без њега.

Открићем зимазе, појава алкохолнога врења није до сада сведена на ферментска делања.

### Résumé.

1. L'activité fermentative de la levure toluolisée ne représente que 5% environ de celle de la levure vivante.

2. L'intensité fermentative de la levure vivante mise en contact de saccharose, n'atteint pas instantanément son maximum. Dans les conditions de mes expériences ceci n'a lieu qu'après 20—60 min.

<sup>1)</sup> Holleman. Lehrb. d. org. Chem. 10 изд. стр. 239.

<sup>2)</sup> op. cit.

<sup>3)</sup> Hans Euler und Beth af Ugglas. Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 279, 1910—11. H. Euler u. Sixten Kullberg. id. 73, 85, 1911.

H. Euler u. Beth Euler. Fermentforschung I, 465, 1916.

H. Euler u. Paul Lindner. Chemie der Hefe und der alkoholischen Gärung. Leipzig 1915.

3. Par la toluolisation de la levure en pleine activité, le pouvoir fermentatif tombe précisément à la valeur du pouvoir fermentatif de la levure toluolisée au repos.

4. En toluolisant la levure vivante en pleine fermentation, son pouvoir fermentatif ne tombe pas d'emblée à une valeur constante. Un espace de temps, inférieur à 30 min., est nécessaire pour que le pouvoir fermentatif arrive à une valeur relativement fixe.

5. En toluolisant la levure en suspension dans l'eau au moment même ou on la met en présence de sucre fermentescible, on constate également une chute du pouvoir fermentatif pendant les 30 premières minutes.

6. Mais si on toluolise la levure à l'état de pâte, en la mettant immédiatement ensuite en suspension dans la solution sucrée, on ne trouve plus de chute du pouvoir fermentatif au début de la réaction.

7. Le pouvoir inversif (activité de l'invertine) de la levure se comporte tout autrement que son pouvoir fermentatif (fermentation alcoolique): il n'est pas sensiblement influencé par la toluolisation de la levure.

L'hypothèse de Buchner, d'après laquelle la levure au repos ne contient que des traces de zymase, pour en produire en abondance dès qu'elle se trouve en milieu sucré et en être à nouveau réduite à des traces par l'action destructive de l'endotryptase, dès qu'on la toluolise en pleine activité, ne trouve pas d'appui dans les faits exposés plus haut:

Il est vrai que le fait 2. pourrait parler en faveur d'une production de zymase lorsque la levure passe du repos en activité; mais en relation avec d'autres faits il est plus probable que le court espace de temps nécessaire à l'atteinte du maximum d'activité ait d'autres causes qu'une production de zymase: établissement du cours régulier des échanges entre le globule de levure et son milieu, mise en train de réactions catalytiques. Les faits sous 3 et 4 ne trouvent pas d'explication plausible dans l'action destructive de l'endotrypsine, car comment mettre d'accord que celle-ci détruise d'une part, avec une rapidité presque extraordinaire, la majeure partie de la zymase, tandis qu'elle s'arrêterait subitement devant le reste de ce ferment, qui se retrouve en même quantité, que la levure soit toluolisée au repos ou en pleine activité? Enfin, les faits 5 et 6 nous donnent l'explication du fait 4: le court espace de temps nécessaire à ce que la brusque chute du pouvoir fermentatif de la levure toluolisée en pleine activité ait atteint sa hauteur constante, ne semble pas être employé à une destruction de la zymase, mais au développement de la pleine influence du toluol sur la vie de la levure en suspension dans l'eau.

Jusqu'à présent il n'est nullement démontré que l'activité fermentative de la levure vivante appartienne intégralement à la zymase. Il n'y a qu'une très faible partie de cette activité fermentative qu'on peut mettre indubitablement au compte de la zymase. Quant à sa majeure partie, la preuve de sa nature fermentaire est encore à fournir.

