

7 HODNOTENIE METABOLICKEJ AKTIVITY MIKROORGANIZMOV

Mikroorganizmy na svoj rast a rozmnožovanie potrebujú množstvo živín z prostredia, ktoré rozkladajú, asimilujú a vylučujú z bunky systémom mnohých chemických a biochemických reakcií. Vysoká **adaptabilita** a veľmi **silný enzymatický systém**, ktorý sa neustále mení, pod vplyvom prostredia, im umožňuje prežiť aj veľmi extrémne podmienky. Najmä neustále sa meniaci enzymatický systém často spôsobuje problémy pri identifikácii mikroorganizmov a preto je potrebné ich sledovať za stanovených podmienok. Metabolická a najmä enzymatická aktivita sa využíva pri identifikácii mikroorganizmy. K najdôležitejším sledovaným biochemickým znakom patrí rozdielna schopnosť degradovať rôzne uhľikáté zlúčeniny, ako je utilizácia rôznych **sacharidov (sacharolytické), rozklad škrobu (amylolytické), celulózy (celolytické), pektínu (pektinolytické), bielkovín (proteolytické), močoviny (urobaktérie), triptofánu, peroxidu vodíka a tukov**. Zo zdravotného hľadiska sú veľmi dôležité mikroorganizmy ktoré enzymaticky rozkladajú krv a nazývajú sa **hemolytické**. V diagnostike mikroorganizmov je veľmi dôležité sledovať aké produkty vytvárajú či už v aeróbnych (dýchanie) alebo anaeróbnych podmienkach (anaeróbné dýchanie, kvasenie).

7.1 Kvasenie

7.1.1 Etanolové kvasenie

Etanolové kvasenie je biochemický proces, pri ktorom sa sacharidy skvasujú na oxid uhličitý a etanol podľa sumárnej rovnice:



Etanol vzniká z kyseliny pyrohroznovej v dvoch za sebou idúcich reakciách. Dekarboxyláciou kyseliny pyrohroznovej vzniká acetaldehyd a jeho redukciou etanol. Redukujúcu silu (redukčné ekvivalenty $2 H^+$) prenášajú pyridínové nukleotidy ($NADH+H^+$), ktoré ich získali dehydrogenáciou glycerinaldehyd-3 -fosfátu pri glykolýze.

Pôvodcami etanolového kvasenia sú: *Saccharomyces cerevisiae* - pivná (pivovarská), liehovarská, droždiarenská kvasinka. Jej bunky sú 6 až 10 μm široké.

Saccharomyces ellipsoideus - vinná kvasinka eliptického tvaru, ktorej bunky dosahujú dĺžky 4 až 6 μm .

Nie všetky kvasinky sú schopné skvasovať cukry na etanol a oxid uhličitý, niektoré ich aeróbnou predýchajú. Priamo skvasiteľné sú iba monosacharidy, di, tri až polysacharidy musia byť najskôr hydrolytické rozložené na nižšie zložky. Skvasenie cukrov kvasinkami sa dokazuje potvrdením tvorby plynu v špeciálnych skúmavkách ponorených do živného roztoku.

Sledovanie priebehu a produktov etanolového kvasenia

Materiál a pomôcky:

Erlenmayerove banky (250 ml) s kvasnou zátkou, technické váhy, sladínové živné médium[33], droždie, potreby na prípravu preparátu,

Pracovný postup:

Do Erlenmayerových baniek nalejeme 100 ml sladínového živného média a pridáme 1 až 2 g lisovaného droždia. Banky uzatvoríme zátkou, zvážíme na váhach s presnosťou

0,01 g a inkubujeme v termostate pri 25 °C 2 až 3 dni. Vývinu iných mikróbov bráni: vysoká koncentrácia cukrov, vznikajúci alkohol a anaeróbne podmienky,

a, gravimetrické stanovenie množstva uvoľneného CO₂. Po skončenom kvasení zvážíme znova kvasné banky. Rozdiel medzi počiatočnou a konečnou hmotnosťou udáva množstvo vylúčeného CO₂. Pomocou stechiometrickej rovnice vypočítame množstvo skvaseného cukru a vytvoreného alkoholu:

$$\text{skvasená glukóza (v g)} = \frac{180 \cdot \text{g CO}_2}{88}$$

$$\text{vytvorený alkohol (v g)} = \frac{92 \cdot \text{g CO}_2}{88}$$

Intenzita kvasenia sa vyjadruje v % k pôvodnému množstvu cukru.

b, mikroskopické vyšetrenie sedimentu na dne banky. Pripravíme preparát vitálne sfarbený a zistíme prítomnosť kvasiniek; vyjadríme pomer živých a mŕtvych buniek. Etanolové kvasenie sa využíva pri výrobe vína, piva, etanolu a v pekárstve (CO₂).

