

Fermentation von Kohlenhydraten

Fabienne Häusler (fabienne@access.unizh.ch), Benjamin Homberger (s0373104@access.unizh.ch),
Simone Stahel (s0370955@access.unizh.ch), Daniel Stocker (s0192499@access.unizh.ch),
and Thomas Fahrni (thomi.f@access.unizh.ch)

Ziel des Experiments

Das Ziel des Experiments war, nachzuweisen, dass bei der Fermentation Gas und Säure gebildet wird. Ausserdem wurde beobachtet, ob Stärke und verschiedene Zucker von der Hefe abgebaut würden, und welche Ausscheidungsprodukte (Säure/Gas) dabei entstehen.

Hintergrund

Viele Bakterien und einige Protisten und Pilze sind in der Lage zu fermentieren. Sie können also Energie gewinnen, indem sie organische Verbindungen (z.B. Zucker und Aminosäuren) in Abwesenheit eines externen Elektronenakzeptors (also anaerob) oxidieren. Dabei können sie CO₂, Ethanol, Milchsäure, Propionsäure etc. ausscheiden. Die organische Verbindung dient dabei sowohl als Elektronenakzeptor als auch als –donor.

Die ausgeschiedenen Säuren können einfach mit pH-Messung ermittelt werden. Gasbildung kann mit Durham-Röhrchen gemessen werden.

In unserem Versuch sind die Reagenzgläser entweder mit verdünntem LB-Medium oder nur mit Wasser gefüllt. Ausserdem wurde Phenolrot als Indikator (wechselt von rot zu gelb, wenn der pH kleiner ist als 7) und ein Durham-Röhrchen zugegeben.

Benötigtes Material

- 6 Durham-Röhrchen (9.8ml verdünntes LB-Medium und 0.2ml 0.04% wässrige Phenolrot-Lösung)
- 2 Eppendorfpipetten (1ml und 0.1ml)
- Pipettenspitzen

- *Saccharomyces cerevisiae* (Bierhefe)
- verschiedene Zuckerlösungen.
- Vortex Mixer
- Inkubator

Vorgehen

Reagenzgläser mit verschiedenen Konzentrationen von LB („Luria Bertani broth“) standen uns schon vorbereitet zur Verfügung. Ausserdem gab es auch noch eine Reihe Reagenzgläser, bei welchen gar kein LB-Medium zugegeben wurde. Bei allen vorbereiteten Röhrchen war der Indikator schon zugegeben und die Durham-Röhrchen schon drin. Wir gaben noch je 1ml eines Zuckers bzw. Stärke und 0.1ml Inoculum in die Reagenzgläser, bevor diese eine Woche lang inkubiert wurden.

Wir haben als Inoculum die Bierhefe gewählt.

Unsere Kohlenhydrate waren:

Saccharose (25% (w/v): 25g/100ml)

Raffinose (5.5% (w/v): 5.5g/100ml)

Glucose (22% (w/v): 22g/100ml)

Stärke (5% (w/v): 5g/100ml).

Ausserdem wurde ein Reagenzglas ohne Zuckerzugabe und ein Reagenzglas ohne Zucker und ohne Inoculum angesetzt. Letzteres dient in unserem Versuch als Referenz.

Des Weiteren haben wir die Röhrchen ohne LB-Medium gewählt.

Die Inkubationszeit war (aufgrund der Praktikumszeiten) eine Woche, nicht wie in der Anleitung geschrieben 2-3 Tage.

Resultate

RG-Nr.	1	2	3	4	5	6
Wasser&Indikator	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml
Saccharose (25%)	-	1ml	-	-	-	-
Raffinose (5.5%)	-	-	1ml	-	-	-
Glucose (22%)	-	-	-	1ml	-	-
Stärke (5%)	-	-	-	-	1ml	-
Inoculum	0.1ml	0.1ml	0.1ml	0.1ml	0.1ml	-
Resultate						
Gas	-	++	-	+	-	-
Farbe	gelb- orange	gelb	gelb	gelb	gelb	rosa
Organismus	gewachsen	gewachsen	gewachsen	gewachsen	gewachsen	nicht gewachsen

Diskussion

Alle Organismen, ausser jene im letzten Reagenzglas sind gewachsen, was sich durch eine stärkere Trübung des Mediums bemerkbar machte. Säure wurde ebenfalls überall ausser in Reagenzglas Nr. 6 produziert, allerdings nicht überall gleich viel. Gasbildung ist jedoch nur in den Reagenzgläsern Nr. 2 und 4 aufgetreten.

Die Ergebnisse entsprechen nicht ganz unseren Erwartungen, da sich im ersten Reagenzglas der Organismus auch vermehrt hat und auch Säure produziert wurde, wenn auch nicht ganz so viel wie in den anderen Reagenzgläsern. Wir hätten eigentlich erwartet, dass im ersten Reagenzglas nichts passiert, weil keine Nahrung für die Hefe vorhanden war, denn es wurde weder Zucker/Stärke noch LB-Medium zugegeben in diesem Reagenzglas.

Eine mögliche Erklärung für das Resultat wäre, dass es vielleicht in der Hefe, welche wir zugegeben haben noch Nährstoffe hatte, die für eine kurze Zeit zur Fermentation und somit zur Vermehrung des Organismus reichte.

Dass in den Reagenzgläsern 2-5 Säure gebildet wurde, bedeutet dass Glucose, Saccharose, Raffinose und Stärke allesamt mit Bierhefe fermentiert werden können. Ob dies wirklich so ist, könnte man jetzt allerdings in Frage stellen, weil ja auch dort wo kein Nährstoff beigegeben wurde das Milieu saurer wurde.

In den beiden Reagenzgläsern, in denen neben der Säure auch noch CO₂ gebildet wurde, kann man jedoch mit Sicherheit davon ausgehen, dass auch der Zucker noch zur Fermentation beigetragen hat.

Fragen

Wie würden sie das Experiment fortsetzen?

Man könnte das Experiment in einem grösseren Rahmen durchführen, was zu genaueren Resultaten führen würde. Man könnte dann vielleicht die entstandene Menge CO₂ genauer bestimmen.

Oder man könnte weniger Nährstoffe zugeben so die minimale Nährstoffkonzentration feststellen.

Stellen sie eine stöchiometrische Gleichung auf, welche die Fermentation einer der 4 getesteten Substrate beschreibt.

Glucose: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$

Zu was gehört die Glycolyse: Fermentation oder Atmung?

Glycolyse ist der anaerobe Abbau der Glucose, folglich ist die Glycolyse eine Fermentation.

Welches sind die drei bekanntesten Fermentationsprodukte?

Brot, Alkohol (Wein/Bier) und Jogurt.

Was ist der Unterschied zwischen „Substratlevel-Phosphorylierung“ und „Elektronentransport-Phosphorylierung“?

Bei der Elektronentransport-Phosphorylierung von ADP in Mitochondrien bei Chemotrophie werden die Elektronen auf einen externen Elektronenakzeptor mit hohem Redoxpotential transportiert.

Bei der Substrat-Phosphorylierung wird eine Phosphatgruppe von einem Substrat auf ADP übertragen.

Welches sind die Hauptwege der ATP-Regeneration durch lebende Organismen abgesehen von der Photosynthese?

Der Hauptweg ist wahrscheinlich die Glycolyse, bei der pro Glucosemolekül 2 ATP und 2 NADH gebildet werden. aber auch im Citratcyclus wird ATP in Form von NADH, FADH₂ und GTP gebildet. Ausserdem kann aus Fettsäuren ebenfalls Energie gewonnen werden in Form von FADH₂ und NADH.

Literatur/Links

D. Voet, J.G. Voet, C. P. Pratt: „Lehrbuch der Biochemie“, 2. Auflage, 2000, Wiley-Vch

Madigan, M. T., J. M. Martinko und J. Parker: "Brock - Biology of Microorganisms", 10th edition, 2003. Prentice Hall

Praktikumsanleitung

http://www.microeco.unizh.ch/uni/kurs/bio3_05/docs/ex-frame.htm