

# De Effecten van Suiker op de CO<sub>2</sub> Productie van Bakkersgist

Arjan Koens <sup>1</sup>, Ivar Lottman <sup>1</sup>, Stijn Vermeulen <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hanzehogeschool

## Samenvatting

Gist is voor mensen handig voor het maken van brood en alcohol, maar dan moet het wel effectief werken. In dit onderzoek, wordt er gekeken in welke suiker- en zoutconcentraties gist het meeste produceerd. Dit wordt gedaan door gist in verschillende suiker- en zoutconcentraties op te lossen en te kijken naar hoeveel CO<sub>2</sub> de gist dan produceerd. Hieruit was te zien dat suiker een sterk effect heeft op de CO<sub>2</sub> productie van gist, maar er met ons onderzoek niks met zekerheid te zeggen valt over zout. Het is wel onzeker of onze data bruikbaar is, doordat er duidelijk meer CO<sub>2</sub> was geproduceerd dan verwacht. Voor vervolgonderzoek zou er meer verschillende concentraties moeten worden gemeten, de concentraties precieser moeten worden afgemeten en het experiment op een overzichtelijke manier moeten worden opgezet.

## 1 Introductie

Gist is een micro-orgasme dat al duizenden jaren wordt gebruikt door mensen voor verschillende applicaties. Voor het maken van brood, om lucht in het deeg te krijgen. Voor het maken van alcoholische dranken. Die door de alcohol veiliger waren om te drinken dan water. Om een degelijk resultaat te krijgen bij deze applicaties van gist is het dan ook van belang om te weten wat de ideale omstandigheden van gist zijn.

De opstelling van dit onderzoek is gebaseerd op het onderzoek [?] waar CO<sub>2</sub> productie van bakkersgist op verschillende suiker concentraties is onderzocht. Om dit als alternatief CO<sub>2</sub> productie medium te kunnen gebruiken in de BG-Sentinel® muggen val.

Om deze ideale omstandigheden te bepalen wordt er in dit rapport gekeken de CO<sub>2</sub> van bakkersgist in verschillende zout en suiker concentraties. Waar suiker als voeding voor gist functioneert en zout als extra stress factor. Dit rapport dient om een optimaal suiker concentratie te vinden voor bakkersgist die resulteert in de hoogste CO<sub>2</sub> productie. Door verschillende suiker concentraties te nemen en de geproduceerde CO<sub>2</sub> van bakkersgist in deze concentraties te meten kan er mogelijk een correlatie en een optimum worden bepaald.

## 2 Materialen en Methoden

Alle informatie is in een github repo opgeslagen. Die repo is hier te vinden.

## 2.1 Materialen

Voor deze studie wordt standaard bakkersgist gebruikt. In totaal was 84g gist gebruikt. De suiker is standaard sucrose en daarvan was in totaal 72g en voor het zout wordt NaCl met 12g zout in totaal. Als water was kraanwater gebruikt. Wij hebben voor elk individuele proef een maatcilinder van 250 ml, een luchtdichte pot met een goed afsluitende deksel, een 30 cm lang buisje en een klem. In totaal zijn 12 proeven uitgevoerd voor dit experiment. Hiernaast is ook 1 waterbad gebruikt, met de afmetingen 35 x 70 x 15 cm, 4 waterbakken, met de afmetingen 20 x 20 x 15 cm en een rol duct tape.

## 2.2 Uitvoering

Het waterbad werd met kraanwater tot het 10 cm hoog stond en de verwarming van het waterbad op 30 °C gezet. Daarnaast werden ook de waterbakken gevuld tot het water tot  $10 \pm 1.5$  cm hoog stond. Hierna werden de maatcilinders vrijwel helemaal met water gevuld en werden ze op de kop neergezet in de waterbakken, zodat de waardes afgelezen konden worden en er te minste 2 cm ruimte tussen de bodem van de bak en het uiteinde van de maatcilinder zit. Als de waardes niet leesbaar waren of als de maatcilinder meer dan 60 ml aflas, werd de maatcilinder uit de bak gehaald en werd de stap herhaald. Als de stap goed was uitgevoerd werd het waterpeil afgelezen en genoteerd als de nulmeting. In de deksels van de potten werden gaten gemaakt en de buisjes werden vervolgens door de gaten gestopt. De mogelijke overige gaten werden afgeplakt met duct tape. Toen de opzet was voltooid konden de proeven worden gemaakt. Elke proef had 7 gram gist en een totaal gewicht van 200 g, met als variabele concentratie suiker en zout. Er werden 3 verschillende concentraties van suiker en zout getest, in duplo(aangegeven met een d in het ID).

```
## ID = S1 : suiker = 0 g, zout = 1.14 g
## ID = Sd1 : suiker = 0 g, zout = 1.02 g
## ID = S2 : suiker = 6.06 g, zout = 1.01 g
## ID = Sd2 : suiker = 6.08 g, zout = 1.06 g
## ID = S3 : suiker = 12.07 g, zout = 1.09 g
## ID = Sd3 : suiker = 12.03 g, zout = 1 g
## ID = Z1 : suiker = 6.11 g, zout = 0 g
## ID = Zd1 : suiker = 6.09 g, zout = 0 g
## ID = Z2 : suiker = 6.18 g, zout = 1 g
## ID = Zd2 : suiker = 6.16 g, zout = 1.03 g
## ID = Z3 : suiker = 6.06 g, zout = 2.04 g
## ID = Zd3 : suiker = 6.1 g, zout = 2.02 g
```

De concentratie werd aangevuld met water tot het in totaal 200 g is. De concentraties van de verschillende proeven waren:

```
## ID = S1 : suiker = 0 %, zout = 0.57 %
## ID = Sd1 : suiker = 0 %, zout = 0.51 %
## ID = S2 : suiker = 3.03 %, zout = 0.505 %
## ID = Sd2 : suiker = 3.04 %, zout = 0.53 %
```

```
## ID = S3 : suiker = 6.035 %, zout = 0.545 %  
## ID = Sd3 : suiker = 6.015 %, zout = 0.5 %  
## ID = Z1 : suiker = 3.055 %, zout = 0 %  
## ID = Zd1 : suiker = 3.045 %, zout = 0 %  
## ID = Z2 : suiker = 3.09 %, zout = 0.5 %  
## ID = Zd2 : suiker = 3.08 %, zout = 0.515 %  
## ID = Z3 : suiker = 3.03 %, zout = 1.02 %  
## ID = Zd3 : suiker = 3.05 %, zout = 1.01 %
```

Deze concentraties werden in verschillende potten gedaan en toen alles was opgelost, kon het deksel op de pot en werd de pot in het waterbad gezet. Het buisje werd daarna tot onder in de maatcilinder geleidt, zodat er een waterslot ontstond. Toen alle proeven in het waterbad stonden werd er om de 15 minuten het waterpeil van de maatcilinders afgemeten. Als het waterpeil niet leesbaar was door overproductie van gas, werd het maximale aantal(250ml) opgeschreven en moest de maatcilinder opnieuw worden gevuld en werd een nieuwe nulmeting genoteerd naast de meting.

## 2.3 Gebruikte tools

Voor de visualisatie en de tests worden verschillende tools gebruikt.

tidyverse, waarvan deze library's worden gebruikt: ggplot2 (versie 3.5.1), die gebruikt wordt voor het visualiseren van data door middel van plotten; dplyr (versie 1.1.4), voor het aanpassen van data; en tidyr (versie 1.3.1), om data op een 'tidy' manier in de code te krijgen. Verder wordt de 'pwr' library gebruikt, voor de power tests, waarvan de 1-weg-anova en t test op versie 1.3-0 worden toegepast en de 'zoo' library om lineaire interpolatie toe te kunnen passen. Deze wordt gebruikt in versie 1.8-12.

## 2.4 Gebruikte methodes

De pairwise t test wordt gebruikt om aan te tonen of er significante verschillen zitten tussen de verschillende concentraties van suiker en zout.

De power analyse is om te zien of er genoeg proeven zijn om iets te kunnen bewijzen. Als power groter is dan 80%, is de kans op een type II fout klein genoeg.

Cohens f wordt gebruikt om zeker te zijn dat als we een significant verschil waarnemen dat verschil ook relevant is.

De one-weg-anova wordt twee keer gebruikt, omdat er op twee factoren worden getest(suiker en zout), maar er te weinig proeven waren om een 2-weg-anova te kunnen gebruiken. Het wordt gebruikt om te kijken of de groepen vergelijkbaar of precies hetzelfde als elkaar zijn, maar de 1-weg-anova heeft wel wat aannames, het gaat er bijvoorbeeld vanuit dat de data normaal verdeeld zijn. Dus als uit de histogram blijkt dat de data niet normaal verdeeld zijn, dan wordt de kruskal wallis test naast de 1-weg-anova gebruikt voor een beter idee of de groepen vergelijkbaar zijn.

Tabel 1: Tabel voor de hoeveelheid gram per stof per experiment. [S = Suikergroep, Z = Zoutgroep]

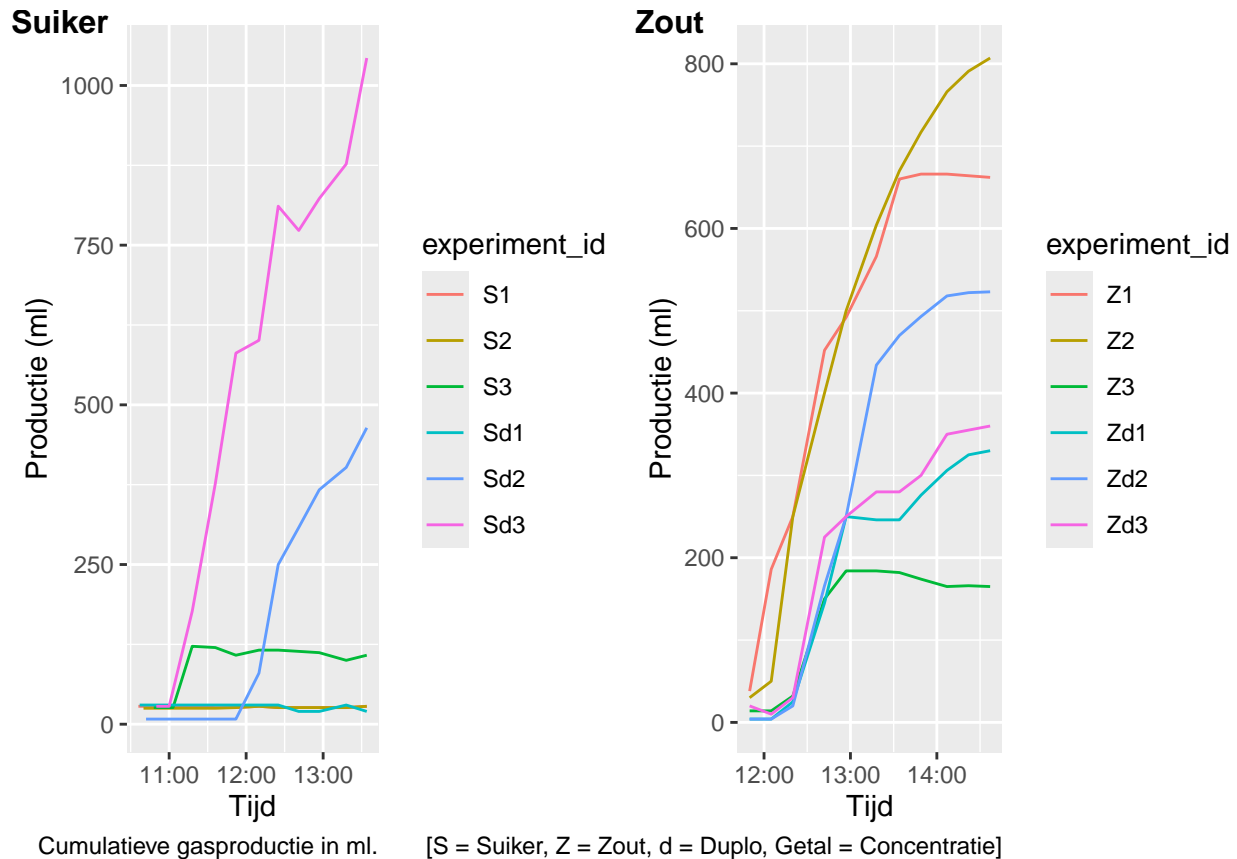
experiment	suiker	gist	water	zout	totaal	experiment	suiker	gist	water	zout	totaal
S1	0	7	192	1	200	Z1	6	7	187	0	200
S2	6	7	186	1	200	Z2	6	7	186	1	200
S3	12	7	180	1	200	Z3	6	7	185	2	200

### 3 Resultaten

Met dit experiment willen wij onderzoeken of suiker en zout invloed hebben op de gasproductie van gist, waarvan wij aannemen dat dit CO<sub>2</sub> is. Hiervoor hebben wij een experiment uitgevoerd zoals beschreven bij materialen en methode met de concentraties in tabel 1 hierboven. Hieronder staan de belangrijkste resultaten benoemd.

#### 3.1 Ruwe data verkenning

Tijdens de uitvoering van het experiment zagen we dat de duplo experimenten niet gelijk waren aan originele experimenten zoals te zien is in de lijngrafieken hieronder. Hieruit kwam een vermoeden dat de data niet normaal verdeeld zou zijn. Ook zijn er meetfouten gemaakt tijdens de uitvoering, hiervoor hebben wij een imputatie strategie uitgevoerd.



De CO<sub>2</sub> productie gemiddelden van het originele experiment en de duplo versie hiervan lopen verder uit

Tabel 2: Gemiddelde gas productie in ml van de verschillende experimenten. [S=Suiker, Z=Zout, d= Duplo, getal=experiment concentratie.]

experiment_id	gemiddelde_productie	experiment_id	gemiddelde_productie
S1	0.45	Z1	57.09
S2	0.55	Z2	70.64
S3	20.73	Z3	15.73
Sd1	1.36	Zd1	34.77
Sd2	41.45	Zd2	47.18
Sd3	107.55	Zd3	32.73

elkaar dan verwacht.

Deze bovenstaande tabel en grafiek duiden aan dat er een fout was in de opstelling van dit experiment vanwege het verschil in origineel en duplo experiment.

### 3.2 Imputatie

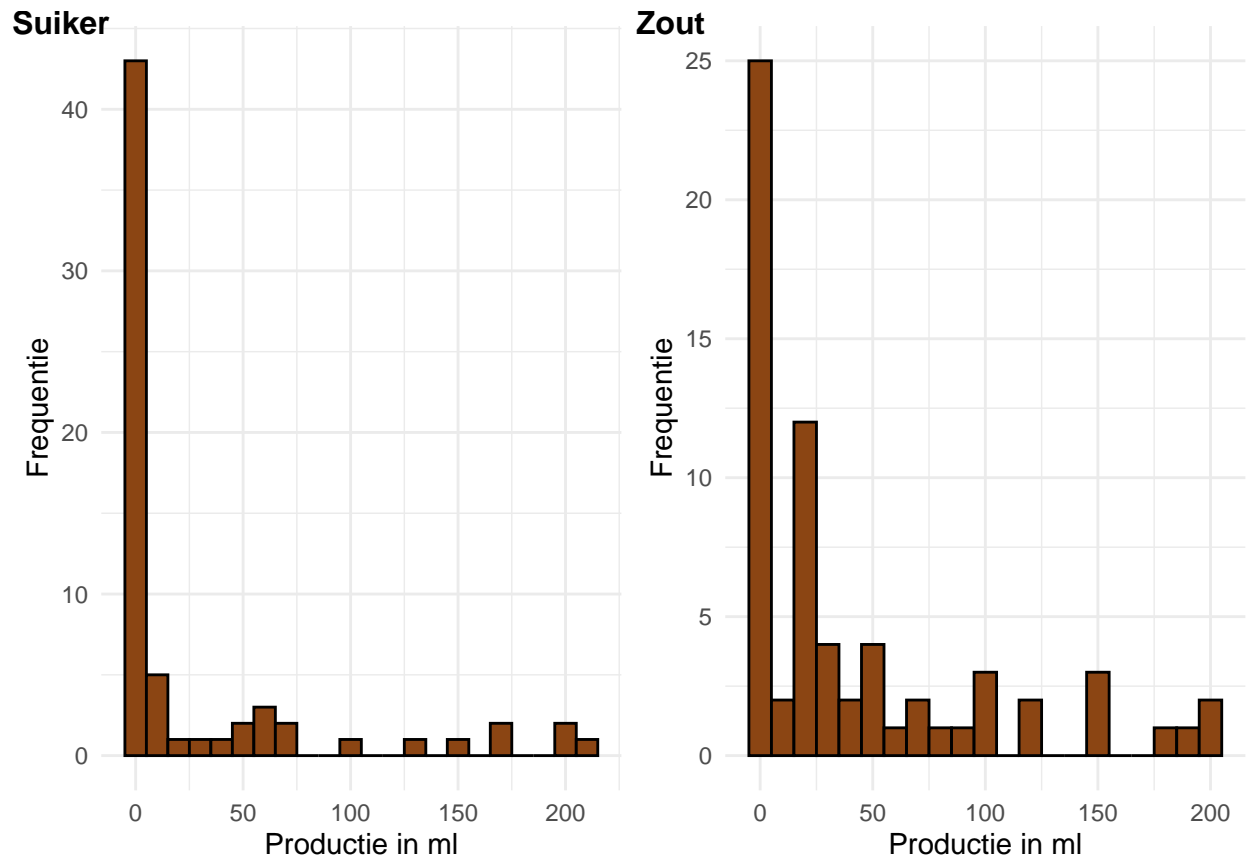
Bij het experiment zijn er negatieve waardes gemeten, omdat dit met onze opzet niet mogelijk is duidt dit op een meetfout. Er is gekozen om imputatie toe te passen in de vorm van interpolatie. Dit is bij het suiker experiment 11 keer toegepast en bij zout 8 keer.

Ook hebben we de productie metingen met een waarde van 0 veranderd naar 0.00000001, zodat deze metingen gebruikt kunnen in een logaritme functie. Hierdoor kunnen we het logaritme nemen voor deze meting zonder dat het de resultaten significant beïnvloed. Er is hier voor gekozen vanwege het sterke vermoeden dat de data geen normaal verdeling heeft hebben we een shapiro wilk uitgevoerd.

hieruit kwam voor het suiker experiment een p waarde van 1.902e-12 uit en voor het zout experiment een p waarde van 5.402e-09.

Beide getallen zijn kleiner dan 0.05 dus kan er geconcludeerd worden dat data uit het experiment niet betrouwbaar is.

### 3.3 Normaal verdeling



Figuur 1: Histogrammen over de gasproductie hoeveelheden en hoe vaak ze voorkomen van gist in gas per ml. De linker grafiek is voor de gist experimenten met variërende suiker concentraties en de rechter grafiek is voor de experimenten met variërende zout concentraties. Beide grafieken bestaat uit 66 metingen

Zoals te zien aan de histogrammen hierboven van beide experiment groepen weergeeft dit de resultaten van de shapiro-wilks test duidelijk weer. Aan de hand van deze informatie hebben wij er voor gekozen om een Anova toets uit te voeren met de logaritme waardes van de gasproductie. De Anova zelf is voor het analyseren of de verschillende groepen significant van elkaar verschillen, en de logaritme waardes om de resultaten van toets statistisch en wiskundig te verantwoorden. Hiernaast voeren wij ook een Kruskal Wallis toets uit aanvullend op de Anova. Dit is omdat deze toets meestal dient als vervanging van de Anova als de data niet normaal verdeeld is.

### 3.4 Pairwise T test

De pairwise T test hebben wij uitgevoerd om te kijken of er significante correlaties zijn tussen de onderlinge test-groepen. Hieruit is gekomen dat bij het suiker experiment groep 3 significant verschilt van groep 1 en 2, en bij zout is er alleen een significant verschil tussen groep 2 en 3. dit is geconcludeerd uit [tabel 3] met P waardes lager dan 0.05.

Tabel 3: Resultaat Pair wise T test. De waardes in de tabel zijn P waardes. [E = Experiment, s = suiker, z = zout]

	Es1	Es2		Ez1	Ez2
Es2	1.9e-01	NaN	Ez2	0.442	NaN
Es3	9.5e-05	0.006	Ez3	0.200	0.043

### 3.5 Anova en Kruskal

Om onze hypothese te bewijzen hebben er voor gekozen om een Anova toets uit te voeren. Dit zou statistisch weergeven of verschillende suiker en zout concentraties effect hebben op de Co2 productie van gist. Omdat onze opzet niet een 2 weg anova toeliet hebben wij er voor gekozen om twee keer een 1 weg anova toe te passen. Dit heeft als nadeel dat wij niet het effect van suiker en zout onderling kunnen meten, maar wel of er een significant verschil is in productie.

Uit de Anova toets met logaritme waardes kwamen de volgende P waarden.

De P waarde van suiker 0.000169

De P waarde van zout 0.309

Uit deze P waarden kun je opmaken dat suiker een significante invloed heeft op de CO2 productie van gist en zout niet. Uit de Kruskal Wallis test kwamen de volgende P waarden.

De P waarde van suiker 9.428e-05 De P waarde van Zout 0.09032

Hieruit kun je de zelfde conclusies trekken als bij de anova toets in logaritme. Wat hieraan wel opvalt is dat de P waardes van beide testen erg uit elkaar liggen.

### 3.6 Effect sterkte van Anova resultaten

Aan de hand van de resultaten van de anova hebben wij ervoor gekozen om een Cohens F sterkte analyse uit te voeren om te bepalen hoe sterk het gemeten resultaat is. De F waarde van suiker is 0.563382 De F waarde van zout is 0.1948619 Aan de hand van de benchmark waarden van Cohens F kunnen we zeggen dat suiker een sterk effect heeft en zout een zwak effect heeft op de gasproductie van gist.

### 3.7 Power analyse van Anova resultaten

De power analyse hebben wij gedaan om te kijken hoe betrouwbaar onze resultaten zijn. Bij Suiker komt er een power waarde uit van 0.7923 Bij zout komt er een power waarde uit van 0.1448 Deze waardes vertellen ons dat wij met onze resultaten van suiker met zekerheid kunnen zeggen maar dat van zout niet. Dit is omdat suiker vlak bij de standaard power-waarde van 0.80 zit en de waarde van zout hier ver vandaan zit.

## 4 Discussie en Conclusies

### 4.1 Validiteit

Bij een verandering in de concentraties verschild de gemiddelde gasproductie onderscheidend met de duplo. Bij suiker is dit verschil van zeker 0.91 ml bij S1, 40 ml bij S2 en 90 ml bij S3. Bij zout is dit verschil kleiner met 23 ml bij Z1, 23 ml bij Z2 en 15 ml bij Z3. De gas productie bij Sd3 was het hoogste van de suiker experimenten met een gemiddelde productie van 107 ml per 15 minuut of 428 ml/h. Deze waarden zijn ver boven wat verwacht was aan productie. De verwachte productie aan  $CO_2$  zou niet hoger zijn dan 25ml/h gebaseerd op het onderzoek van [?]. Dit had dan ook ter gevolg dat er complicaties waren tijdens het uitvoeren van het experiment. De maatcilinders die gebruikt werden hadden niet de capaciteit om de hoeveelheid gas op te vangen. Een eventuele andere verklaring voor de hoeveelheid gemeten gas is het waterslot. Tijdens het uitvoeren van dit experiment kan er een lek zijn ontstaan in dit waterslot waar lucht door in de maatcilinder is gekomen.

#### 4.1.1 Interpretatie resultaat

Toch is een significant verschil in de gasproductie van bakkersgist tussen de verschillende suiker concentraties aangetoond. Bij zout daar in tegen is geen significant verschil aangetoond.

#### 4.1.2 Beperking

Door de gelimiteerde ruimte en materiaal konden er maar 6 experimenten opgesteld worden. Dit is minder dan wat eventueel nodig was om een effect vast te stellen tussen zout en suiker op de gas productie. Daar naast was tijd om het experiment uit te voeren ook gelimiteerd aangezien de ruimte beperkt gereserveerd was. Uiteindelijk duurde het experiment iets minder dan 4 uur en was korter dan gewenst. Gewenst was als het experiment een periode van 7 uur geduurd.

#### 4.1.3 Implicaties aanduiding

Dit onderzoek legt de basis voor het uitzoeken van de optimale suiker en zout concentratie op gist activiteit. Deze informatie is belangrijk voor bakkers- en alcohol industrie om met deze gegevens hun productie efficiënter te maken.

#### 4.1.4 Suggestie voor vervolgonderzoek

Voor vervolgonderzoek is het dus handiger om meer combinaties te testen zodat er een 2-way-anova uitgevoerd kan worden, dit is handig voor overzichtelijkere interpretatie en om een mogelijke correlatie tussen suiker en zout aan te tonen. Verder kan de opzet ook verbeterd worden, de duplo's kwamen bij dit onderzoek niet helemaal overeen met de basis, dat kan verbeterd worden door de concentraties op meer decimalen af te meten. Het is mogelijk ook beter om de opzet op een overzichtelijkere manier op te zetten, om snel een lek of fout in de opstelling te spotten en op te lossen.



## 5 Referenties

Chen, S. L., & Gutmanis, F. (1976). Carbon dioxide inhibition of yeast growth in biomass production. *Biotechnology and Bioengineering*, 18(10), 1455–1462. <https://doi.org/10.1002/bit.260181012>

Jerry, D. C. T., Mohammed, T., & Mohammed, A. (2017). Yeast-generated CO<sub>2</sub>: A convenient source of carbon dioxide for mosquito trapping using the BG-Sentinel® traps. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(10), 896–900. <https://doi.org/10.1016/J.APJTb.2017.09.014>

Silva-Gracia, M., & Ndida Lucas, “. (n.d.). Physiological studies on long-term adaptation to salt stress in the extremely halotolerant yeast *Candida versatilis* CBS 4019 (syn. *C. halophila*). <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2003.tb00167.x>