

Л. Я. Паляниця, Р. Б. Косів, Н. І. Березовська, Н. О. Паньків, Т. В. Харандюк
Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології органічних продуктів

РОЗМНОЖЕННЯ ХЛІБОПЕКАРСЬКИХ ДРІЖДЖІВ ПІСЛЯ ЇХ КРІОСТАТУВАННЯ

© Паляниця Л. Я., Косів Р. Б., Березовська Н. І., Паньків Н. О., Харандюк Т. В., 2015

Досліджено вплив низьких температур на процеси розмноження клітин і синтезу біомаси хлібопекарських дріжджів штамів КД, ЛД, К7 і ЛК-22. Результати показали, що зі зменшенням температури криостатування в дослідженому інтервалі температур знижуються швидкість розмноження клітин, швидкість росту культури, економічний коефіцієнт синтезу біомаси і зростає фізіологічна активність дріжджів. Дріжджі штаму ЛД володіють кращими технологічними властивостями. Найвищу криостійкість мають дріжджі штаму ЛД, а найнижчу – К7. Оптимальна температура криостатування $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$ забезпечує збереження генеративної активності хлібопекарських дріжджів.

Ключові слова: хлібопекарські дріжджі, криостатування, розмноження.

The influence of low temperatures on the processes of cell generation and synthesis of baking yeast strains KD, LD, K7, LK-22 biomass was investigated. The results showed that with decreasing temperature cryostatic in the measured temperature range the rate of cell generation, growth rate of culture, economic factors, yeast biomass synthesis decrease and physiological ability of yeast increases. Yeast strain LD have better technological properties and the best cryostability. Yeast strain K7 has the the worst cryostability. The optimum temperature $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$ of cryostatic provides safety generative activity of baking yeast.

Key words: baking yeast, cryostatic, reproduction.

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями. Важливе завдання бродильних виробництв – одержання максимальної кількості продуктів життєдіяльності дріжджів. При нагромадженні їх біомаси основними процесами є ріст і розмноження клітин, інтенсифікація яких – важлива умова вдосконалення технології. Показники росту та розмноження дріжджів – не постійні величини, а залежать від живильної цінності середовища, фізико-хімічних умов культивування, фізіологічного стану (віку) культури.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Виробничі штами дріжджів потребують ефективних способів зберігання, які забезпечували б відновлення бродильних властивостей.

Відомо багато способів зберігання культур мікроорганізмів: періодичні пересіви, зберігання в 25 % розчині гліцеролу при температурі $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, у дистильованій воді, під вазеліновою олією на агаризованому середовищі та в ліофілізованому стані. Жоден із способів не є універсальним [1, 2].

Кріоконсервування клітинних суспензій, зокрема мікроорганізмів, залишається основним методом їх тривалого збереження без можливої зміни генетичного складу. Правильний вибір режимів низькотемпературного консервування дає змогу тривалий час підтримувати мікроорганізми у стані, що забезпечує їх повернення до життєдіяльності без зміни початкових властивостей і зниження кількості життєздатних клітин.

У роботах [3, 4] встановлено, що низька температура спричиняє підвищення проникності оболонки клітин спиртових дріжджів штамів Fermiol, 288C, ScVKM-Y381 і Quikferm Super. Дія холоду протягом тривалого часу призводить до збільшення мертвих та ушкоджених клітин [4, 5].

Проте кріоконсервування спиртових дріжджів у досліджуваному інтервалі температур забезпечує збереження їх культуральних і фізіологічних властивостей, зокрема бродильної активності та швидкості розмноження [6].

Дріжджі, які використовуються у виробництвах продуктів бродіння, суттєво відрізняються між собою за морфологічними, культуральними і біосинтетичними властивостями. Кожне виробництво висуває свої вимоги до дріжджів. Спиртові дріжджі повинні інтенсивно зброджувати вуглеводи, бути стійкими до продуктів метаболізму та сторонніх мікроорганізмів. Хлібопекарські дріжджі повинні володіти максимальною генеративною активністю, низькою протеолітичною активністю, високою осмостійкістю.

Отже, дослідження впливу низьких температур консервування на збереження морфологічних властивостей хлібопекарських дріжджів є актуальним.

Робота продовжує цикл досліджень, присвячених вивченню впливу низьких температур на збереження властивостей дріжджів-сахароміцетів.

Мета роботи. Дослідження впливу температури заморожування на генеративну активність хлібопекарських дріжджів.

Результати експериментів та їх обговорення. Об'єктами досліджень були хлібопекарські дріжджі штамів *Saccharomyces cerevisiae* ЛК-22, К7, а також ЛД, виділений як чиста культура з дріжджів “Львівські” (ПрАТ “Компанія Ензим”, м. Львів) і КД, виділений як чистка культура з дріжджів “Наdejда” (ПАТ “Наdejда”, м. Кривий Ріг). Біомасу дріжджів нагромаджували у солодовому суслі, виділяли центрифугуванням і заморожували протягом 3 год при температурі -17°C та -30°C . Відтанення здійснювали при кімнатній температурі.

Швидкість розмноження дріжджів досліджували на неохмеленому суслі концентрацією 8 % сухих речовин у стерильних колбах на 100 см^3 , куди вносили 0,1 г біомаси досліджуваних дріжджів. Концентрацію дріжджових клітин визначали за допомогою камери Горяєва. За одержаними результатами розраховували показники росту та розмноження дріжджів [7].

Аналіз одержаних результатів показав, що здатність дріжджів до розмноження після заморожування при -17°C була нижча від контрольних зразків усіх штамів (рис. 1, 2).

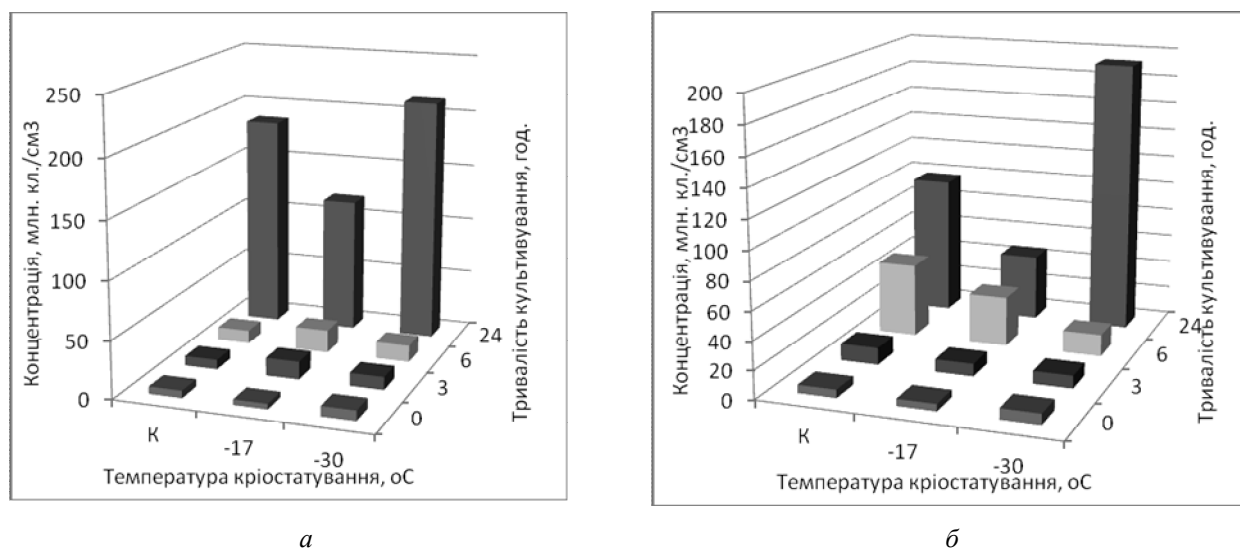


Рис. 1. Вплив температури кріостатування на динаміку розмноження хлібопекарських дріжджів штамів: а – ЛД; б – КД

Дріжджі штамів ЛД і КД, кріостатовані при температурі -30°C , у результаті культивування нагромаджували більші кількості клітин порівняно з контрольними зразками. Проте ця кількість залежала від початкової концентрації дріжджів і була відмінною у різних зразках. Тому розраховували питому швидкість розмноження (табл. 1).

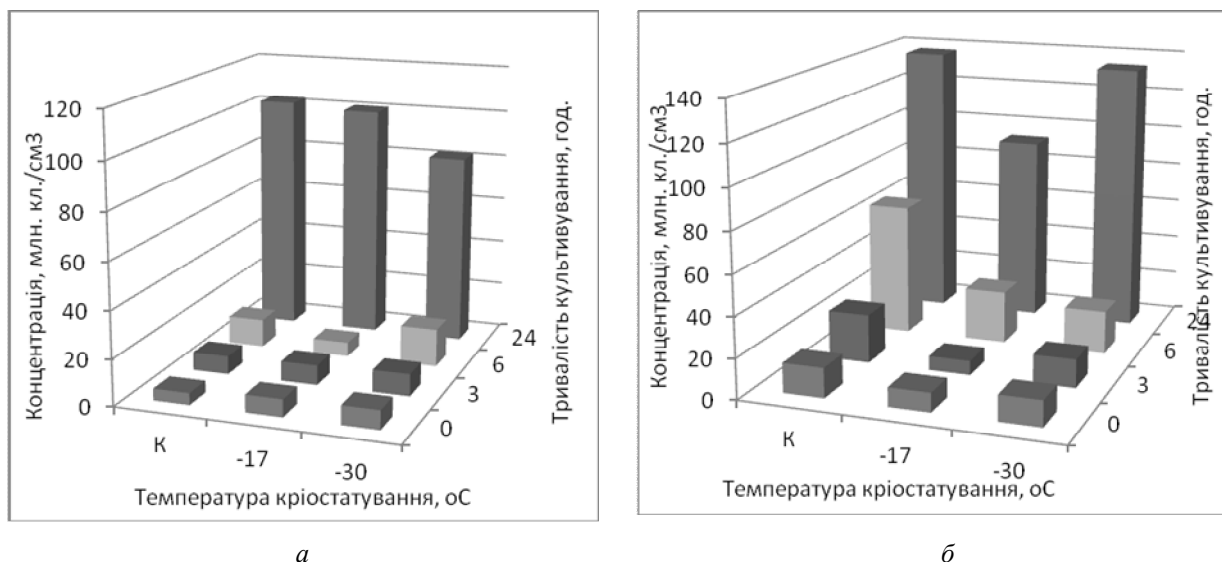


Рис. 2. Вплив температури криостатування на динаміку розмноження хлібопекарських дріжджів штамів: а – ЛК-22; б – К7

Питомі швидкості розмноження криостатованих при температурах -17 та -30 °С хлібопекарських дріжджів майже в усіх інтервалах культивування були менші, ніж дріжджів контрольних зразків. Дріжджі штаму ЛД володіли більшою питомою швидкістю і холодостійкістю порівняно з іншими дослідженими штамми.

Показники синтезу біомаси наведено в табл. 2. При культивуванні криостатованих дріжджів спостерігали збільшення значення рН культуральної рідини і вмісту сухих речовин у ній. Дріжджі досліджуваних штамів після криоконсервування нагромаджували менше біомаси порівняно з контрольними зразками, проте біомаса дріжджів штамів ЛД і КД після заморожування при -17 °С незначно відрізнялася від контрольного зразка – на 2,4 і 0,8 % відповідно.

Швидкість росту дріжджової культури пов'язана зі зменшенням концентрації живильних речовин у середовищі та нагромадженням продуктів метаболізму. Тому досліджували вплив криостатування на константу синтезу біомаси, яка враховує вплив зменшення концентрації сухих речовин суслу (табл. 3).

Результати показали, що константа синтезу біомаси дріжджів штамів ЛД і КД після криостатування при температурі – 17 °С практично не відрізнялися від дріжджів контрольних зразків.

Таблиця 1

Вплив температури криостатування на питому швидкість розмноження дріжджів

Штам дріжджів	Температура криостатування, °С	Питома швидкість розмноження, год ⁻¹		
		3 год.	6 год.	24 год.
ЛД	Контроль	0,243	0,276	0,140
	-17	0,290	0,327	0,133
	-30	0,079	0,083	0,132
КД	Контроль	0,211	0,233	0,119
	-17	0,191	0,324	0,093
	-30	0,053	0,118	0,134
ЛК-22	Контроль	0,148	0,144	0,125
	-17	0,042	0,035	0,108
	-30	0,120	0,115	0,096
К7	Контроль	0,168	0,250	0,093
	-17	0,095	0,171	0,095
	-30	0,033	0,089	0,098

Таблиця 2

Вплив температури кріостатування на показники синтезу біомаси

Зразок дріжджів	Біомаса, г	Біомаса, г сухих речовин	Швидкість росту, мг/год.
ЛД контр.	0,8716	0,1743	36,3
-17 °С	0,8511	0,1702	35,5
-30 °С	0,7608	0,1522	31,7
КД контр.	0,8548	0,1710	35,6
-17 °С	0,8479	0,1696	35,3
-30 °С	0,7316	0,1463	30,5
ЛК22контр	0,8169	0,1634	34,0
-17 °С	0,7278	0,1456	30,3
-30 °С	0,6908	0,1382	28,8
К7 контр.	0,8229	0,1646	34,3
-17 °С	0,7189	0,1438	30,0
-30 °С	0,6977	0,1395	29,1

Фізіологічна активність дріжджів враховує витрату спожитого субстрату на синтез одиниці біомаси за 1 год. Встановлено, що фізіологічна активність дріжджів штамів ЛД і ЛК-22 після кріостатування за температури – 17 °С практично не відрізнялася від дріжджів контрольних зразків (табл. 3).

Наведені вище показники не враховують усіх процесів обміну речовин. Ефективність виробництва дріжджової біомаси відображає економічний коефіцієнт – відношення приросту біомаси до кількості спожитих сухих речовин сула. Дріжджі штаму ЛК-22 давали найвищий вихід біомаси серед досліджуваних штамів. Кріостатування за температури -17 °С дріжджів штамів ЛД спричиняло незначне зменшення економічного коефіцієнта, а штамів КД і ЛК-22 – навіть його підвищення. Це можна пояснити тим, що екстремальні чинники можуть стимулювати ферментативну активність дріжджів [8], а в результаті зростає й генеративна активність.

Таблиця 3

Вплив температури кріостатування на показники синтезу біомаси та споживання субстрату

Зразок дріжджів	Константа синтезу біомаси, год ⁻¹ (*10 ³)	Фізіологічна активність, год ⁻¹	Економічний коефіцієнт, г/г
ЛД контр.	1,88	0,405	0,103
-17 °С	1,84	0,409	0,102
-30 °С	1,64	0,439	0,095
КД контр.	1,85	0,439	0,095
-17 °С	1,83	0,382	0,109
-30 °С	1,57	0,369	0,113
ЛК22контр	1,76	0,306	0,136
-17 °С	1,57	0,304	0,137
-30 °С	1,49	0,331	0,126
К7 контр.	1,78	0,328	0,127
-17 °С	1,55	0,362	0,115
-30 °С	1,50	0,372	0,112

Висновки. Оптимальна температура кріостатування -17 °С забезпечує збереження генеративної активності хлібопекарських дріжджів. Дріжджі штаму ЛД володіють кращими технологічними властивостями та кріостійкістю.

1. Куплетская М. Б. Методы длительного хранения коллекции микроорганизмов кафедры микробиологии МГУ / М. Б. Куплетская, З. А. Аркадьева // Микробиология. – 1997. – Т. 66. – № 2. – С. 283–288. 2. Fernandez-Segovia, I., Escriche, A., Fuentes, A., Serra, I. Microbial and sensory changes during refrigerated storage of desalted cod (*Gadus morhua*) preserved by combined methods // *Int. J. Food Microbiol.* – 2007. – V. 116. – No 1. – P. 64–72. 3. Вплив низьких температур на морфологічні властивості дріжджів / Н. Паньків, Л. Паляниця, Н. Березовська, Р. Косів, О. Швабюк // *Хімія та хімічні технології: Матеріали II Міжнародної конференції молодих вчених ССТ-2011.* – Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2011. – С.126–127. 4. Морфолого-цитологічні зміни клітин дріжджів за низьких температур / Л. Я. Паляниця, Р. Б. Косів, Н.І. Березовська, Н. О. Паньків // *Восточно-европейский журнал передовых технологий.* – 2012. – № 5/6 (59). – С.67–69. 5. Морфологічні властивості спиртових дріжджів в умовах низьких температур / Л. Я. Паляниця, Р. Б. Косів, Н. І. Березовська, Н. О. Паньків. – Львів // *Вісник Нац. ун-ту “Львівська політехніка”. Хімія, технологія речовин та їх застосування, 2014.* – № 787. – С. 221–225. 6. Питома швидкість розмноження спиртових дріжджів / Р. Б. Косів, Н. І. Березовська, Л. Я. Паляниця, Н. О. Паньків, Т. В. Харандюк // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького.* – 2014. – Т. 16, № 2 (59), Ч. 4. – С.79–83. 7. Никитин Г. А. Биохимические основы микробиологических производств: учеб. пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: Вища шк., 1992. – 319 с. 8. Цуцаева А. А. Криобиология и биотехнология / А. А. Цуцаева, В. Г. Попов, К. М. Сытник. – К.: Наук. думка, 1987. – 216 с.