

Ю. Я. Хлібишин¹, І. Я. Почапська²

Національний університет “Львівська політехніка”,

¹ кафедра технології органічних продуктів,² кафедра цивільної безпеки

yurii.y.khlibyshyn@lpnu.ua

ДОСЛІДЖЕННЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* В РІЗНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

<https://doi.org/10.23939/ctas2021.02.122>

Подано результати дослідження впливу концентрації сахарози і мальтози на розмноження дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Як поживне середовище під час вирощування дріжджів використовували бурякову мелясу і солодове сусло. Досліджено інтенсивність розмноження дріжджів за величиною концентрації клітин та питомою швидкістю їх поділу в процесі культивування. Вивчено закономірності впливу концентрації сахарози і мальтози на кінцеву концентрацію дріжджів різних штамів та тривалість періоду лаг-фази.

Ключові слова: сахароза, мальтоза, сусло, поживне середовище.

Вступ

Харчова промисловість, зокрема бродильні виробництва, використовують дріжджі роду *Saccharomyces cerevisiae* для отримання різних напоїв бродіння (пива, вина, спирту), а також хлібопекарських дріжджів.

Дріжджі роду *Saccharomyces cerevisiae* належать до гетеротрофних мікроорганізмів, які як джерело енергії для життєдіяльності використовують тільки енергію зв'язку вуглеводневих сполук – необхідних для біосинтезу компонентів. До таких сполук належать різні моно- та дивуглеводи, як глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, мальтотріоза, та значно меншою мірою деякі інші цукри. Останні містяться в солодовому суслі та у буряковій мелясі, що переважно використовуються в сучасних технологіях бродильних виробництв як поживні середовища для дріжджів [1, 2].

Сучасні технології бродильних виробництв ґрунтуються на отриманні чистої культури дріжджів (ЧКД), яку потім можна використати для приготування цільового продукту. Якість готового продукту й ефективність технологічного процесу залежить (за технологією) від вирощування та фізіологічного стану *Saccharomyces cerevisiae* [3, 4].

Так, сировиною для виробництва хлібопекарських дріжджів слугує як солодове сусло (перші стадії розмноження дріжджів), так бурякова або тростинна меляса, яка містить 46–50 % сахарози. У технології ЧК пивних дріжджів

застосовують тільки солодове сусло, до складу якого головним чином входить мальтоза (більше ніж 60 %) [5]. Для вирощування чистої культури спиртових дріжджів використовують мелясу, але також сировину, що містить крохмаль, яку попередньо піддають біотрансформації ферментними препаратами [6]. Залежно від природи продуцента продуктом гідролізу може бути сусло з різним співвідношенням між вуглеводами, одним з яких є мальтоза [7, 8].

Таким чином основним джерелом вуглеводного живлення під час культивування дріжджів можуть бути сахароза, мальтоза і глюкоза. Ці вуглеводи утилізуються клітинами по-різному.

Наприклад, у метаболізмі мальтози клітина залучає як адаптивний фермент мальтозопермеазу, який переносить молекулу мальтози в клітину, так і конститутивний фермент α -глюкозидазу, який гідролізує мальтозу до двох молекул глюкози [9]. Остання вступає в енергетичний і конструктивний обмін клітин [10, 11]. Натомість під час метаболізму сахарози бере участь конститутивний фермент β -фруктофуранозидаза, який розщеплює сахарозу на α -глюкозу і β -фруктозу, після чого обидва вуглеводи вступають у реакцію гліколізу.

Водночас для більш широкого застосування в бродильних виробництвах поживних середовищ з різною густиною, потрібно з'ясувати вплив концентрації і природи вуглеводів на біосинтез деяких вторинних метаболітів, що визначають органолептичні властивості продукту [12, 13].

Під час забезпечення сприятливих умов для інтенсивного розмноження дріжджів, отримують максимальну кількість ЧКД з високою фізіологічною активністю. Встановлення оптимальної концентрації вуглеводнів у середовищі є однією з умов культивування.

Мета дослідження полягала у визначенні впливу концентрації сахарози в мелясовому суслі та мальтози у солодовому суслі на процес розмноження дріжджів, які використовуються в різноманітних бродильних виробництвах.

Матеріали та методи досліджень

Для досягнення поставленої мети об'єктами дослідження вибрано відомі та широко використовувані у відповідних галузях бродильних виробництв штами дріжджів, а саме: Раса Київська 21 – хлібопекарські; Saflager S-23 (Weihenstephan) – пивні; SafSpirit C-70 (Fermentis Lesaffre) – спиртові; VR 44 (Бельгія) – винні.

Як поживне середовище використовували бурякову мелясу, що відповідає ДСТУ 3696-98 з сахарозою та солодове сусло, в якому мальтоза є основним вуглеводом. Для проведення дослідження готували розчин меляси та солодового сусла чотирьох концентрацій у діапазоні 9–20 % мас. Початкова концентрація дріжджів у всіх випадках була $1,5 \times 10^6 \pm 0,2 \times 10^6$ клітин в одному см^3 .

Культивування дріжджів проводили впродовж доби за температури 25 °С умовах простої періодичної культури. Відбір проб культуральної рідини проводили кожні 4 години та підраховували кількість дріжджових клітин за допомогою камери Горяєва. Тривалість лаг-фази визначали за методом Р. Лоджа і С. Хіншельвуда [7].

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті проведених експериментів встановлено, що дріжджі всіх досліджених штамів розмножувалися майже з однаковою швидкістю, під час культивування в живильному середовищі з концентрацією сахарози 9 % мас., а кінцева концентрація клітин дріжджів всіх штамів становила від 32 до 37 млн/см³ (рис. 1–4). У суслі з солоду за концентрації мальтози 9 % мас., динаміка розмноження винних і пивних дріжджів була приблизно такою самою, як і в середовищі з сахарозою, однак спиртові та хлібо-

пекарські дріжджі розмножувалися з більшою активністю, і в кінці культивування їх концентрація досягала 49–50 млн/см³. Лаг-фази у дріжджів усіх штамів під час культивування в обох середовищах практично не було.

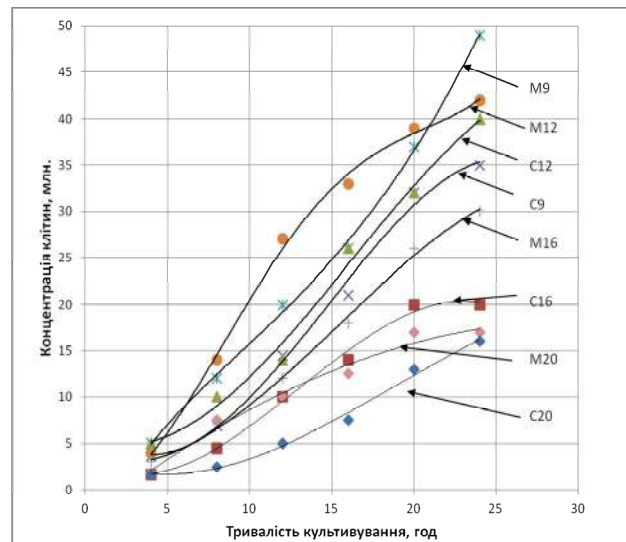


Рис. 1. Культивування хлібопекарських дріжджів у суслі з солоду з мальтозою при різних концентраціях мальтози (M9 – концентрація мальтози 9 % мас., M12 – концентрація мальтози 12 % мас., M16 – концентрація мальтози 16 % мас., M20 – концентрація мальтози 20 % мас.) та у буряковій мелясі з сахарозою (C9 – концентрація сахарози 9 % мас., C12 – концентрація сахарози 12 % мас., C16 – концентрація сахарози 16 % мас., C20 – концентрація сахарози 20 % мас.)

Збільшення концентрації сахарози до 12 % мас. практично не вплинуло на розмноження хлібопекарських і винних дріжджів, але призвело до зниження швидкості розмноження спиртових і, особливо, пивних дріжджів. Як наслідок кінцева концентрація спиртових дріжджів знизилася до 28 млн/см³, а пивних – до 25 млн/см³. Водночас під час розмноження пивних дріжджів тривалість лаг-фази становила близько чотирьох годин (рис. 3). У таких самих умовах, але вже у середовищі з мальтозою лаг-фаза під час розмноження пивних та спиртових дріжджів становила 1-у годину, а у інших дріжджів її не було. Натомість підвищення концентрації мальтози в живильному середовищі до 12 % мас. на активність розмноження всіх досліджуваних штамів дріжджів вплинуло не так суттєво, як у випадку з сахарозою.

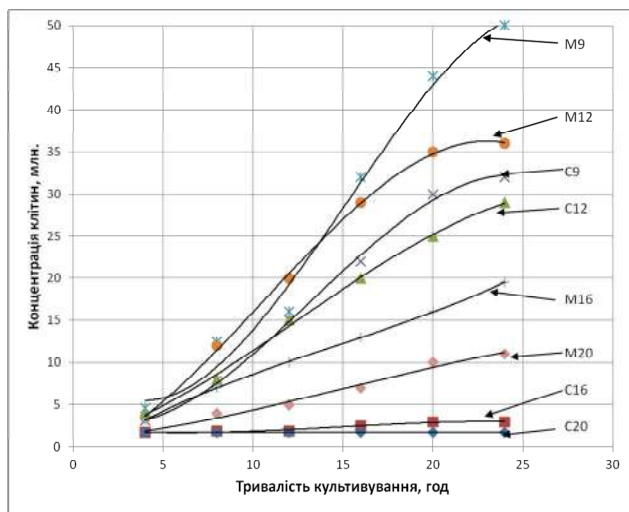


Рис. 2. Культивування спиртових дріжджів у суслі з солоду з мальтозою при різних концентраціях мальтози (M9 – концентрація мальтози 9 % мас., M12 – концентрація мальтози 12 % мас., M16 – концентрація мальтози 16 % мас., M20 – концентрація мальтози 20 % мас.) та у буряковій мелясі з сахарозою (C9 – концентрація сахарози 9 % мас., C12 – концентрація сахарози 12 % мас., C16 – концентрація сахарози 16 % мас., C20 – концентрація сахарози 20 % мас.)

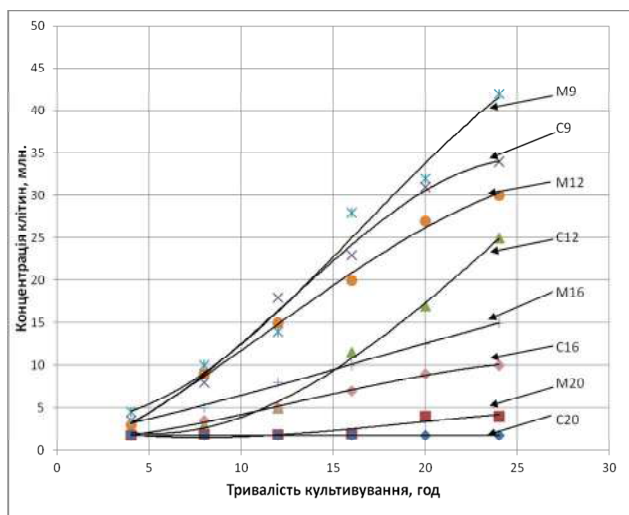


Рис. 3. Культивування пивних дріжджів у суслі з солоду з мальтозою при різних концентраціях мальтози (M9 – концентрація мальтози 9 % мас., M12 – концентрація мальтози 12 % мас., M16 – концентрація мальтози 16 % мас., M20 – концентрація мальтози 20 % мас.) та у буряковій мелясі з сахарозою (C9 – концентрація сахарози 9 % мас., C12 – концентрація сахарози 12 % мас., C16 – концентрація сахарози 16 % мас., C20 – концентрація сахарози 20 % мас.)

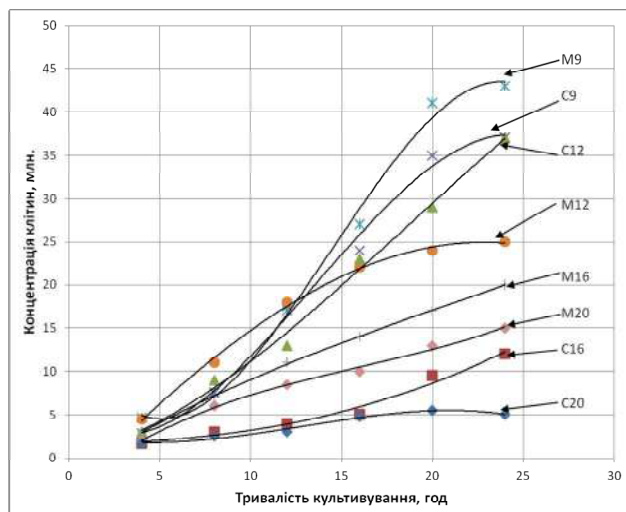


Рис. 4. Культивування винних дріжджів у суслі з солоду з мальтозою при різних концентраціях мальтози (M9 – концентрація мальтози 9 % мас., M12 – концентрація мальтози 12 % мас., M16 – концентрація мальтози 16 % мас., M20 – концентрація мальтози 20 % мас.) та у буряковій мелясі з сахарозою (C9 – концентрація сахарози 9 % мас., C12 – концентрація сахарози 12 % мас., C16 – концентрація сахарози 16 % мас., C20 – концентрація сахарози 20 % мас.)

Під час концентрації сахарози в середовищі культивування 16 % мас. відбулося сповільнення (затримка) розмноження всіх досліджуваних штамів дріжджів, у такому разі лаг-фаза становила 4; 8; 12; 16 годин відповідно для хлібопекарських, винних, спиртових і пивних дріжджів. Кінцева концентрація клітин дріжджів знизилася відповідно до 20; 12, 3 і 10 млн/см³.

Збільшення концентрації мальтози в живильному середовищі також викликало зниження активності розмноження дріжджів всіх штамів, проте меншою мірою.

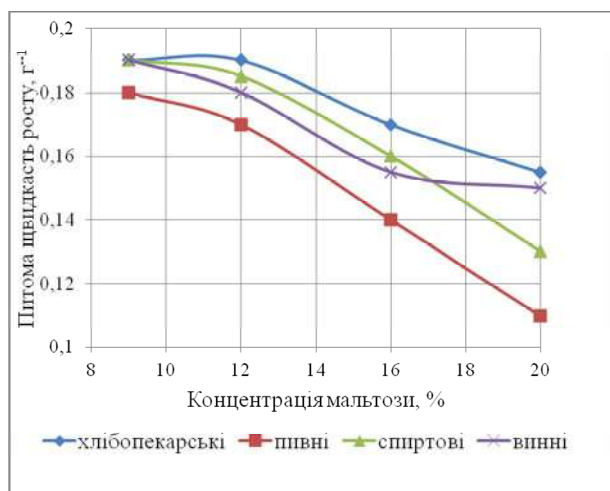
У живильному середовищі з концентрацією сахарози 20 %, пивні і спиртові дріжджі практично не розмножувалися. Винні дріжджі у живильному середовищі з концентрацією сахарози 20 %, розмножилися тільки до 5 млн/см³, а хлібопекарські – до 15 млн/см³. Мальтоза в цій же концентрації мала менш інгібувальний вплив на дріжджі всіх штамів, тривалість лаг-фази становила від 2-х до 4-х годин.

Таким чином, дослідження показали, що ефект Кребтрі більш виражений при розмноженні дріжджів у середовищі з сахарозою і обумовлений підвищенням концентрації вуглеводів у

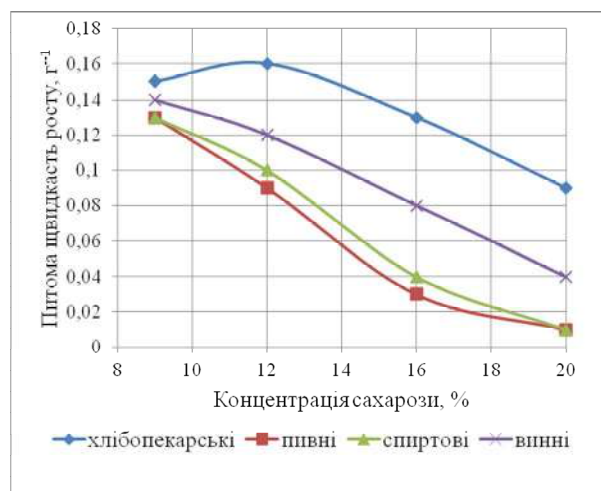
середовищі культивування. Позитивна тенденція щодо підвищення концентрацій сахарози відслідковується для винних і хлібопекарських дріжджів, а мальтози – хлібопекарських та спиртових.

Вказана закономірність також підтверджується даними щодо зміни питомої швид-

кості (збільшення клітинної біомаси на одиницю клітинної маси за одиницю часу) ділення клітин досліджених штамів дріжджів під час культивування в поживних середовищах з різною концентрацією сахарози і мальтози (рис. 5).



а



б

Рис. 5. Вплив концентрації середовища культивування на питому швидкість ділення клітин в різних середовищах: а – у солодовому суслі з мальтозою; б – у буряковій меласі зі сахарозою

Проведені дослідження і аналіз отриманих результатів показали, що найкраще для вирощування чистої культури дріжджів на будь-якому підприємстві з виробництва напоїв бродіння і хлібопекарських дріжджів використовувати живильне середовище, що містить мальтозу в концентрації не більше ніж 12 % мас.

Висновки

Аналіз результатів дослідження показав, що під час культивування в живильному середовищі бурякової меласі з концентрацією сахарози 9 % мас. усі штами дріжджів поведуться фактично однаково; натомість, у солодовому суслі з мальтозою немає такої закономірності. Водночас збільшення концентрації сахарози до 12 % не вплинуло на розмноження хлібопекарських і винних дріжджів, але призвело до зниження швидкості розмноження спиртових і пивних дріжджів. Збільшення концентрації мальтози до 12 % в живильному середовищі також спричинило зниження активності розмноження дріжджів всіх штамів. Як вже зазначено вище, позитивний вплив підвищення концентрацій сахарози відстежується для винних і хлібопекарських дріжджів,

а мальтози – хлібопекарських та спиртових. Значення питомих швидкостей також це підтверджують. Таким чином встановлено, що найкраще використовувати як живильне середовище, де є мальтоза, концентрація якої 9–12 %.

Узагальнюючи вищенаведене, результати досліджень можна застосувати під час розроблення технологічних схем вирощування чистої культури дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, які використовуються на підприємствах бродильних виробництв, зокрема малої потужності.

References

1. Palianytsia L. Ya., Berezovska N. I., Kosiv R. B., Zub N. O. (2018). *Vplyv umov rehidratsii sukhykh drizhdzhiv na yikh aktyvnist*. Chemistry, Technology and Application of Substance, 1(1), 88–93.
2. Palianytsia L. Ya., Pankiv N. O., Kosiv R. B., Berezovska N. I., Kharandiuk T. V. (2016). *Stymuliatyvi fermentatyvnoi aktyvnosti spyrtovykh drizhdzhiv*. *Khimiia, tekhnolohiia rehovyn ta yikh zastosuvannia*, 841, 204–210.
3. Yarovenko B. L., Lukerchenko B. N., Lukerchenko N. M., Kononenko B. B. (1996) *Kynetyka synteza byomassy u razlychnykh mykroorhanyzmov*. *Prykladnaia byokhymyia u mykrobiolohyia*, 32(6), 635–638.

4. Palianytsia L. Ya., Berezovska N. I., Kosiv R. B., Kharandiuk T. V. (2017). Vplyv elektrokhimichno aktyvovanoi vody na brodylnu aktyvnist drizhdzhiv. *Khimiia, tekhnolohiia rehovyn ta yikh zastosuvannia*, 868, 165–170.
5. Khlibyshyn Yu. Ya., Pochapska I. Ya., Kachmaryk V. P. (2019). Tekhnolohichni aspekty oderzhannia zernovykh dystyliativ. *Kompleksne zabezpechennia yakosti tekhnolohichnykh protsesiv ta system: materialy IX Mizhnarodnoi naukovo-praktychnoi konferentsii*, Chernihiv. 64–66.
6. Khlibyshyn Yu. Ya., Pochapska I. Ya., Nestoriak O. I. (2020). Oderzhannia spyrtovykh dystyliativ iz vitchnianoi zernovoi syrovyny. *Chemistry, Technology and Application of Substances*. 3(1). 142–147.
7. Kapreliants L. V., Pylypenko L. M., Yehorova A. V., Paulina Ya. B., Trufkati L. V., Kananykhina O. M., Velichko T. O., Kylymenchuk O. O., Kruchek O. A., Shpyrko T. V., Okhotska M. I. (2017). *Mikrobiolohiia kharchovykh vyrobnytstv: navchalnyi posibnyk*. Kherson: OLDI-PLIuS.
8. Solomon A. M., Kazmiruk N. M., Tuzova S. D. (2020). *Mikrobiolohiia kharchovykh vyrobnytstv*. Vinnytsia: RVV VNAU.
9. Levandovskyi L. V., Bondar M. V. (2016). Osoblyvosti metabolizmu drizhdzhiv pry yikh retsyrkuliatsii v umovakh spyrtovoi fermentatsii meliasnogo susla, *Mikrobiolohichniy zhurnal*. 78(1), 44-53.
http://nbuv.gov.ua/UJRN/MicroBiol_2016_78_1_6
10. Parapouli M., Vasileiadis A., Afendra A., Hatziloukas E. (2020). Saccharomyces cerevisiae and its industrial applications, *AIMS Microbiology*. 6(1) 1–31. doi: 10.3934/microbiol.2020001
11. Sychevskyi M. P., Oliinichuk S. T., Danilova K. O. (2016). Biosyntezy etylovoho spyrtu riznymi rasamy drizhdzhiv v umovakh pidvyshchenoi kontsentratsii susla. Naukovi dopovidi Natsionalnogo universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy, http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2016_5_10.
12. Shyian P. L., Sosnytskyi V. V., Oliinichuk S. T. (2009). *Innovatsiini tekhnolohii spyrtovoi promyslovosti. Teoriia i praktyka*. K.: Vydavnychiy dim "Askaniia".
13. Nikitin E. E., Zvjagin I. V. (2000). Primenenie aktivnykh suhikh drozhzhej i bakterij v vinodelii. *Likerovodochnoe proizvodstvo i vinodelie*, 6, 4–5.

Yu. Ya. Khlibyshyn¹, I. Ya. Pochapska²

Lviv Polytechnic National University,

¹Department of Organic Products Technology,

²Department of Civil Safety

yurii.y.khlibyshyn@lpnu.ua

STUDY OF CULTIVATION OF YEAST SACCHAROMYCES CEREVISIAE IN DIFFERENT MEDIUMS

The article presents the results of a study of the effect of sucrose and maltose concentration on the reproduction process of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The studies were performed on samples of alcohol, baking, wine and brewer's yeast. The regularities of the influence of sucrose and maltose concentration, the final concentration of yeast of different strains and the duration of the lag phase period were studied. The specific growth rates of the studied yeast strains at different concentrations of sucrose and maltose in nutrient media were determined.

Key words: sucrose, maltose, wort, nutrient medium, specific rate.