

Л. Я. Паляниця<sup>1</sup>, Н. І. Березовська<sup>1</sup>, Р. Б. Косів<sup>1</sup>, Н. О. Зуб<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Національний університет "Львівська політехніка",  
кафедра технології органічних продуктів

<sup>2</sup> Львівський торговельно-економічний університет,  
кафедра харчових технологій

## ВПЛИВ УМОВ РЕГІДРАТАЦІЇ СУХИХ ДРІЖДЖІВ НА ЇХ АКТИВНІСТЬ

© Паляниця Л. Я., Березовська Н. І., Косів Р. Б., Зуб Н. О., 2018

Досліджено ефективність застосування електрохімічно активованої води для регідратації сухих спиртових дріжджів виду *Saccharomyces cerevisiae*. Встановлено, що регідратовані в католіті та аноліті дріжджі при подальшому культивуванні мали кращий фізіологічний стан за рахунок більшої кількості клітин з бруньками вже на четверту годину культивування, вищого вмісту глікогену у клітинах та меншої кількості клітин, забарвлених метиленовим синім, на завершення процесу. Показано, що кількість нагромаджених дріжджів була більшою за умови використання для регідратації електрохімічно активованої води, а регідратовані у католіті дріжджі мали найвищу питому швидкість розмноження серед досліджуваних зразків.

Ключові слова: сухі спиртові дріжджі, регідратація, католіт, аноліт, генеративна активність.

L. Ya. Palianytsia, N. I. Berezovska, R. B. Kosiv, N.O. Zub

## THE INFLUENCE OF THE REHYDRATION CONDITIONS OF DRY YEAST ON ITS ACTIVITY

© Palianytsia L.Ya., Berezovska N.I., Kosiv R.B., Zub N.O., 2018

The efficiency of electrochemically activated water application for the rehydration of dry alcohol yeast species *Saccharomyces cerevisiae* has been investigated. It was found that rehydrated in catholyte and anolytic yeast had better physiological state at subsequent cultivation due to a large number of cells with buds already at the fourth hour of cultivation, higher glycogen content in cells and a smaller number of cells stained with methylene blue to complete the process. It was shown that the concentration of yeast cells was higher when electrochemically activated water used for rehydration, while rehydrated in the catholyte yeast had the highest specific reproduction rate among the samples studied.

Key words: dry alcohol yeast, rehydration, catholyte, anolyte, generative activity.

**Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями.** У спиртовому виробництві все частіше використовують сухі дріжджі, які не потребують тривалого генерування та використання відповідної апаратури, за рахунок чого скорочується тривалість приготування засівних дріжджів для подальшого бродіння. Серед чинників, що впливають на раціональний хід технологічного процесу та якість продукції, є вихідна фізіологічна активність дріжджів і здатність їх адаптуватися до анаеробних умов життєдіяльності у напівфабрикатах. Від цього надалі залежать бродильна активність дріжджів, вуглеводний та азотний обмін, утворення ферментів. Проте життєздатність сухих дріжджів часто сповільнена, кількість мертвих клітин істотно перевищує необхідний рівень. Тому актуальним є дослідження відновлення активності дріжджів, оскільки внесення сухих препаратів культури безпосередньо в сусло часто призводить до загибелі значної кількості клітин (до 30 % і більше) [1].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Сучасні методи селекції забезпечують промисловість високопродуктивними штамми мікроорганізмів. Для досягнення ефективності спиртового виробництва використовують широкий асортимент штамів дріжджів, які характеризуються різною стійкістю до умов, серед яких найважливішими є: склад живильного середовища, температура, рН [2]. Осмофільні дріжджі здатні витримувати високі концентрації субстратів (від 22 до 31 %), термотолерантні – зброджують вуглеводи крохмалевмісної сировини при підвищених температурах (35–36 °С), спиртостійкі – добре переносять високі концентрації спирту у бражці (12–16 % об.) [3].

Для зброджування сусла із крохмалевмісної сировини використовують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* раси 12, 12-Т, К-81 та *Schizosaccharomyces pombe* 80 [4]. Термотолерантні та осмофільні штами дріжджів У5010 селекції УкрНДІспиртбіопрод та ДТ-05М селекції НВ ТОВ “Інтермаш” зброджують сусло концентрацією сухих речовин до 28–30 % за температури 36–38 °С, зберігаючи при цьому високу бродильну активність [5]. Здійснено селекцію за ознаками осмофільності штаму дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* ДО-11, який при концентрації сухих речовин 22–30 % може синтезувати 12–16 % об. етилового спирту [6]. Дріжджі раси ДС-01-Е, селекціоновані на базі Інституту продовольчих ресурсів НААН України, здатні ефективно зброджувати сусло підвищених концентрацій та накопичувати до 13,5–14 % об. спирту [7]. Штами *Saccharomyces cerevisiae* М1 і М2 ефективно зброджують концентроване сусло (200 г/кг та 250 г/кг), забезпечуючи вихід спирту 89–94 % від теоретичного, тоді як штам D-2 переважно використовують для сусла концентрацією 200 г/кг, одержуючи етанол з виходом понад 92 % від теоретичного [8].

Перевагами використання сухих дріжджів у спиртовому виробництві є скорочення тривалості культивування, зменшення затрат на обладнання та енергоносії, мікробіологічна чистота. Препарати виготовляють і упаковують стерильно, що виключає внесення з дріжджами сторонньої мікрофлори, завдяки чому вихід спирту підвищується на 3–5 % за помітного покращання органолептичних показників; дріжджі з високим вмістом ненасичених жирних кислот і трегалози проявляють високу осмо- і спиртотолерантність [9]. Із використанням сухих дріжджів “Superstar ICT” концентрація етанолу у бражці збільшується на 5,5 %, вихід спирту – на 6,7 % з 1 м<sup>3</sup> сусла, тривалість бродіння сусла зменшується на 10–12 год [10].

Проте автори [11] встановили, що сухі дріжджі характеризуються нижчими бродильною активністю і термотолерантністю порівняно зі спиртовими дріжджами 985Т. Найближчих до контрольних результатів під час дослідження сухих дріжджів різних марок (Saf distil В-28, Hollandia, Safoenos та Superstar ICT) одержано з дріжджами Superstar ICT: вихід спирту – 66,7 дал/т ум. крохмалю, кількість побічних метаболітів – 7982 мг/дм<sup>3</sup>. У роботі [12] досліджено, що за однакових умов сухі спиртові дріжджі Tetmosak дають більший вихід спирту порівняно з сухими дріжджами Tegaeast. Уникнути цих недоліків можна шляхом ефективної реактивації сухих дріжджів, тобто відновлення їх ферментативної активності перед внесенням у бродильний апарат. Першим етапом реактивації є регідратація, тобто повернення води у клітину. Цей процес відбувається порівняно швидко – 5 – 20 хв залежно від розміру гранул. За цей період відновлюється первісний вигляд клітинних структур. Потім настає фаза реактивації, коли відновлюються функції клітинних органел і ферментної активності [13]. Деякі клітинні структури при висушуванні пошкоджуються і, якщо ці пошкодження оборотні, то при реактивації відбувається їх відновлення.

Важливим чинником, який впливає на метаболізм дріжджів, є величина рН, що відображається на виході біомаси, швидкості росту клітин і синтезі вторинних метаболітів. Від величини активної кислотності середовища залежить швидкість надходження поживних речовин до клітину, активність ферментів в синтезі білка, утворення вітамінів, а отже, і швидкість росту дріжджових клітин. Розроблено багато способів підвищення біохімічної енергії клітин, які б надалі ефективніше зброджували сусло.

Особливий інтерес представляють активовані водні середовища завдяки їхній специфічній дії на біохімічні та біологічні об’єкти [14]. Перевагами електрохімічної оброблення води є те, що вона дозволяє коригувати значення показника рН. Попередніми нашими дослідженнями встановлено, що

електрохімічно активована вода (EXAB) позитивно впливає на біосинтетичну здатність дріжджів виду *Saccharomyces cerevisiae* [15–16]. Тому ця робота продовжує цикл досліджень щодо впливу EXAB на процеси активації дріжджів.

**Мета роботи.** Дослідження впливу умов регідратації спиртових дріжджів на їхні фізіологічний стан та генеративну активність.

**Виклад основного матеріалу та обговорення результатів.** Об'єктом досліджень були сухі спиртові дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* Deltaferm AL-18 –виробництва компанії ADD FOOD Service GmbH” (Німеччина). Сусло із вмістом сухих речовин 18–19 % для генерування дріжджів одержували термоферментативним обробленням замісу із помелу пшениці (прохідність 100 % крізь сито діаметром 1 мм), використовуючи такі амілолітичні ферментні препарати: для розріджування – Amylex 3T та оцукрування – Diazyme SSF. Електрохімічно активовану воду отримували з водопровідної у приладі “Ековод-3К” (Україна0.

У спиртовому виробництві воду використовують на кожній технологічній стадії, а також вона входить до складу напівпродуктів, тому її склад суттєво впливає на проходження технологічних процесів та якість продукції [4]. Оскільки електрохімічно активована вода проявляє біологічну дію на мікроорганізми, то у роботі запропоновано використання її для регідратації сухих спиртових дріжджів.

Сухі спиртові дріжджі Deltaferm AL-18 зважували по  $0,4 \pm 0,001$  г і кількісно вносили в конічні колби об'ємом  $100 \text{ см}^3$ . Туди ж доливали по  $40 \text{ см}^3$ : 1) водопровідну воду (контроль); 2) католіт; 3) аноліт; 4) суміш католіту та аноліту у співвідношенні (1:1). Ці суспензії добре перемішували та витримували 15 хв за температури  $18 \pm 1$  °С.

Фізіологічний стан спиртових дріжджів після їх регідратації в електрохімічно активованій воді визначали за вмістом клітин із бруньками, глікогеном і клітин, забарвлених метиленовим синім. Відомо, що під час висушування дріжджові клітини зазнають певних змін, які ведуть до зниження їх фізіологічної активності [1]. Ці зміни можуть мати оборотний характер, і за сприятливих умов дріжджі відновлюють свої фізіологічні функції. Проте окремі клітин під час висушування гинуть.

Фізіологічний стан регідратованих в електрохімічно активованій воді дріжджів досліджували під час їх культивування у пшеничному суслі. Результати досліджень показали, що витримування дріжджових клітин у католіті покращує їх фізіологічний стан під час дріжджогенерування у пшеничному суслі. Так, з рис. 1 видно, що кількість клітин з бруньками є на 24,3 % більшою порівняно з контролем. Використання аноліту та суміші католіту та аноліту (1:1) для регідратації дріжджів також веде до зростання кількості клітин з бруньками на 7,1 та 14,3 % відповідно.

Нагромадження глікогену у дріжджових клітинах має важливе значення у процесі зброджування сусла до етилового спирту і свідчить про їх фізіологічний стан у фазі стаціонарного росту. На рис. 2 можна спостерігати нагромадження глікогену у дріжджових клітинах після восьмої години дріжджогенерування. Найбільшу кількість цієї резервної речовини нагромаджують дріжджі, регідратовані в католіті, що на 15,9 % більше, ніж у контролі (дріжджі, оброблені водопровідною водою). Кількість клітин з глікогеном є на 7,6 та 10,3 % більшою при витримуванні їх в аноліті та суміші відповідно порівняно з контролем.

Під час забарвлення розчином метиленового синього для виявлення мертвих клітин можна спостерігати під мікроскопом і до 30 % клітин, забарвлених цим барвником. Варто зазначити, що клітинна стінка зазнає також несприятливого впливу високих температур під час одержання сухих дріжджів і може бути чутливою до проникнення барвника. Тому кількість клітин, забарвлених розчином метиленового синього, може свідчити не лише про кількість мертвих клітин, але й про наявність ослаблених дріжджових клітин, які за сприятливих умов можуть відновлювати свою фізіологічну активність. Щодо кількості забарвлених метиленовим синім клітин дослідження показали, що витримування дріжджів в електрохімічно активованій воді можна зменшити тривалість відновлення їх життєздатності.

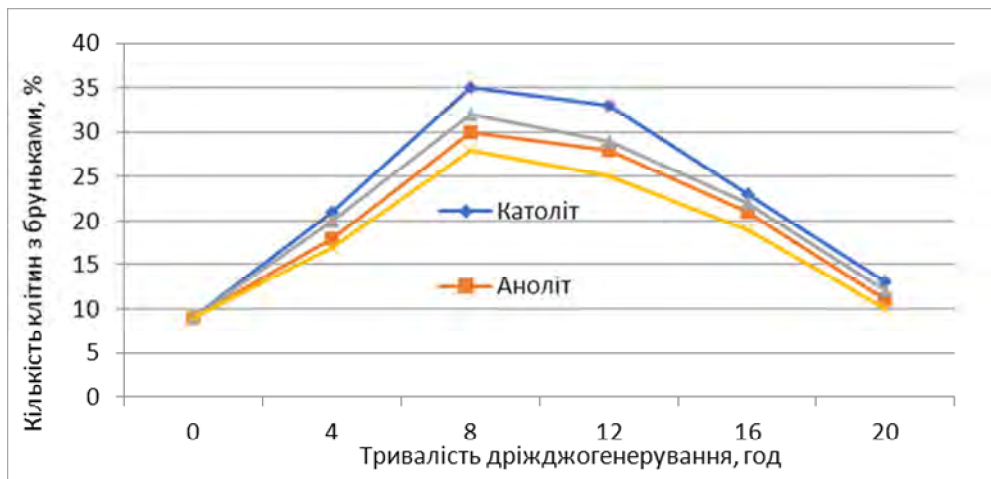


Рис. 1. Вплив ЕХАВ на кількість клітин з бруньками у процесі дріжджогенерування

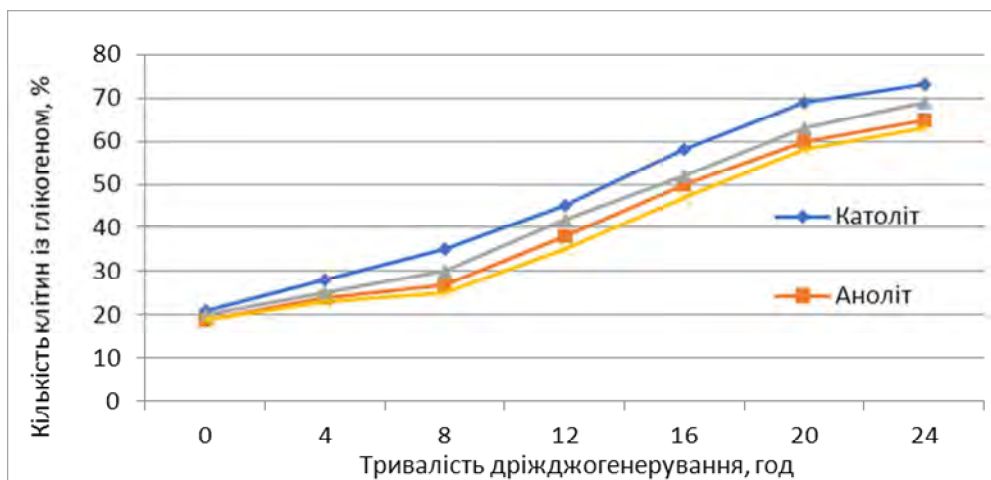


Рис. 2. Вплив ЕХАВ на кількість клітин з глікогеном у процесі дріжджогенерування

Отже, регідратація сухих спиртових дріжджів в електрохімічно активованій воді сприяє покращенню їх фізіологічного стану за усіма показниками, зокрема збільшується кількість клітин, які активно розмножуються в експоненціальній фазі, спостерігається більше клітин з глікогеном і менше клітин, забарвлених метиленовим синім.

Ріст і розмноження дріжджів суттєво залежать як від фізіологічного стану мікроорганізмів, так і від активності їх ферментів, тому досліджували вплив ЕХА-води на генеративну активність дріжджів Deltaferm AL-18.

Динаміку генерування дріжджів у пшеничному суслі, які були регідратовані у католіті, аноліті, суміші католіту та аноліту у співвідношенні 1:1 та стерильній водопровідній воді (контроль) протягом 15 хв, зображено на рис. 3. Результати свідчать про те, що оброблені католітом дріжджі вже на 4-ту год культивування збільшували кількість клітин на 28,6 % більше, ніж у контролі.

Також стимуляторами генеративної активності дріжджів були аноліт та суміш, збільшуючи кількість клітин на 8,5 та 11,4 % порівняно з контролем на 4-ту год вирощування. Максимальної кількості клітин було досягнуто вже на 12-ту год генерування. При цьому у варіанті з католітом вона була більшою на 20,8 %, ніж у контрольному.

За результатами динаміки розмноження дріжджів, реактивованих в ЕХАВ та водопровідній воді, розраховано їхні питомі швидкості розмноження (рис. 4).

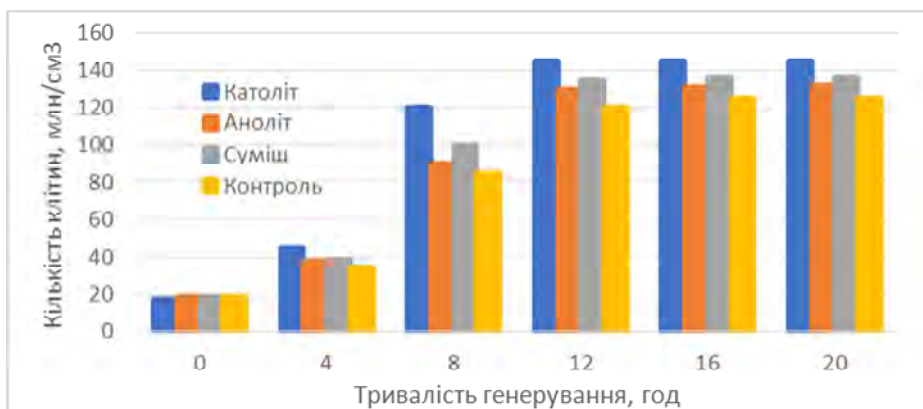


Рис. 3. Динаміка розмноження дріжджів, регідратованих в ЕХАВ

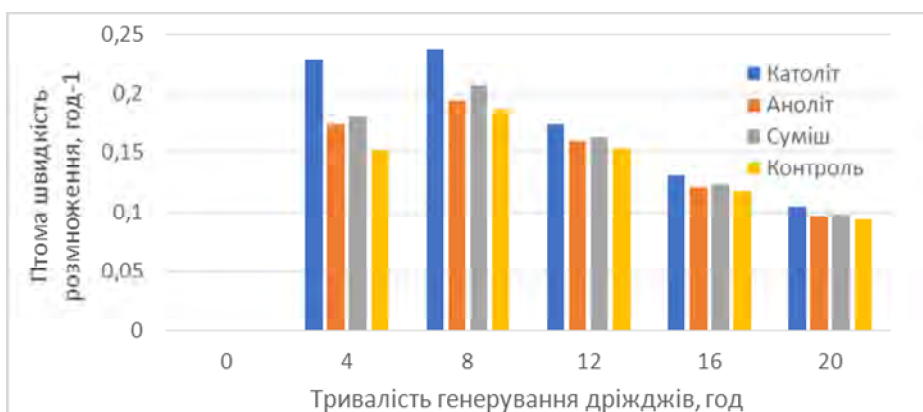


Рис. 4. Питома швидкість розмноження дріжджів, регідратованих в ЕХАВ

З одержаних даних видно (рис.4), що регідратовані у католіт дріжджі мали найвищу питому швидкість розмноження серед досліджуваних зразків, максимальна величина якої припадала на 6–8 годину. Отже, використання електрхімічно активованої води, особливо католіту, сприяє підвищує генеративну активність спиртових дріжджів після їх регідратації в ЕХАВ.

**Висновки.** Досліджено регідратацію сухих спиртових дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* Deltaferm AL-18 з використанням електрохімічно активованої води та вплив умов цього процесу на фізіологічний стан і генеративну активність регідратованих дріжджів.

Показано, що використання електрохімічно активованої води для регідратації сухих спиртових дріжджів покращує їх фізіологічний стан, забезпечуючи більшу кількість клітин з бруньками вже на четверту годину культивування, вищий вміст глікогену у клітинах та меншу кількість клітин, забарвлених метиленовим синім. Ці показники є важливими для подальшого ефективного зброджування вуглеводів зернового суслу до етилового спирту.

Встановлено, що регідратацією сухих дріжджів в електрохімічно активованій воді можна підвищити їх генеративну активність на 8,5–28,6 % порівняно з контролем.

1. Мартыненко Н. Н. Влияние углеводного состава среды на реактивацию сухих винных и спиртовых дрожжей / Н. Н. Мартыненко, В. В. Верченков, Л. В. Римарева // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2006. – № 1. – С. 34–35. 2. Analysis of key factors affecting ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* IFST-072011 / M. Fakruddin, M. Quayum, M. Ahmed, N. Choudhury // Biotechnology. – 2012. –11 (4). – P. 248–252. 3. Повышение эффективности спиртового производства с использованием термотолерантных и осмофильных рас дрожжей / Л. В. Римарева, М. Б. Оверченко, Н. И. Игнатова, Е. В. Останина, Н. С. Погоржельская // Теоретические и

практические аспекты развития спиртовой, ликероводочной, ферментной, дрожжевой и уксусной отраслей промышленности: сборник научных трудов, М.: ВНИИПБТ, 2006. – 39–43 с. 4. Технологія спирту / В. О. Маринченко, В. А. Домарецький, П. Л. Шиян, В. М. Швець, П. С. Циганков, І. Д. Жолнер; за ред. В. О. Маринченка. – Вінниця: “Поділля-2000”, 2003. – 496 с. 5. Шиян П. Л. Інноваційні технології спиртової промисловості. Теорія і практика / П. Л. Шиян, В. В. Сосницький, С. Т. Олійнічук. – К.: Видавничий дім “Асканія”, 2009. – 424 с. 6. Пат. № 72045 Україна, МПК C12N 15/00. Осмофільний штам дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* ДО–11 для мікробіологічного синтезу етилового спирту з крохмалевмісної сировини / С. В. Іванов, П. Л. Шиян, Т. О. Мудрак, С. Т. Олійнічук, П. М. Бойко, Г. В. Єрмакова; заявник і патентовласник НУХТ. – № 201114490; заявл. 07.12.2011; опубл. 10.08.2012, Бюл. № 15. 7. Лисак Т.І. Амінокислотний обмін в умовах отримання спиртових бражок із крохмалевмісної сировини / Т. І. Лисак, С. Т. Олійнічук, Ю. О. Батог, О. О. Коваль // Продовольчі ресурси. – 2014. – № 2. – С. 28–34. – Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/pr\\_2014\\_2\\_8](http://nbuv.gov.ua/UJRN/pr_2014_2_8). 8. Balcerek Maria. Selection of yeast strains for alcoholic fermentation of sugar beet thick juice and green syrup / Maria Balcerek, Katarzyna Pielech-Przybylska, Piotr Patelski // Biomass and Bioenergy. – 2011. – V. 35. – Issue 12. – P. 4841–4848. 9. Мартыненко Н. Н. Решение проблем реактивации сухих спиртовых дрожжей / Н. Н. Мартыненко, В. В. Верченков, Л. В. Римарева // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2007. – № 2. – С. 10–11. 10. Майоров А. Ю. Сухие активные дрожжи в производстве спирта / А. Ю. Майоров, Р. А. Курамышин, Ш. Г. Еникеев // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2002. – № 2. – С. 22. 11. Римарева Л. В. Технологические аспекты использования сухих дрожжей в производстве спирта / Л. В. Римарева, М. Б. Оверченко, Н. И. Игнатова // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2003. – № 1. – С. 15–16. 12. Біосинтез етилового спирту різними расами дріжджів в умовах підвищеної концентрації суслу / М. П. Сичевський, С. Т. Олійнічук, К. О. Данілова. // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2016. – № 5. – Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd\\_2016\\_5\\_10](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2016_5_10). 13. Никитин Е. Е., Звягин И. В. Применение активных сухих дрожжей и бактерий в виноделии // Ликероводочное производство и виноделие. – 2000. – № 6. – С. 4–5. 14. Петрушанко И. Ю. Физико-химические свойства водных растворов, полученных в мембранном электролизере / И. Ю. Петрушанко, В. И. Лобьшев // Биофизика. – 2004. – Т. 49. – Вып. 1. – С. 22–31. 15. Стимулятори ферментативної активності спиртових дріжджів / Л. Я. Паляниця, Н. О. Паньків, Р. Б. Косів, Н. І. Березовська та ін. // Вісн. Нац. ун-ту “Львівська політехніка”: Серія : Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2016. – № 841. – С. 204–210. 16. Паляниця Л. Я. Вплив електрохімічно активованої води на бродильну активність дріжджів / Л. Я. Паляниця, Н. І. Березовська, Р. Б. Косів, Т. В. Харандюк // Вісник Нац. ун-ту “Львівська політехніка”. Серія : Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2017. – № 868. – С. 165–170.