



Биол. журн. Армении, 1 (74), 2022

DOI:10.54503/0366-5119-2022.74.1-51

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИ ЦЕННЫХ СВОЙСТВ ВЫСОКОАКТИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* И ВЛИЯНИЯ ДЛИТЕЛЬНОГО ПОДДЕРЖАНИЯ ШТАММОВ НА ИХ ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ

В.А. БАГИЯН, Н.С. ХАЧАТУРЯН

Центр депонирования микробов НПО «Армбиотехнология» НАН РА
valbeg@mail.ru

Исследование посвящено изучению биологических особенностей штаммов хлебо-пекарных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, а также влияния длительного поддержания (1996-2021 гг.) в лабораторных условиях на их ферментативную активность.

Saccharomyces cerevisiae – подъемная сила – α -глюкозидазная активность –
осмотическая стабильность – генеративная активность

Ուսումնասիրությունը նվիրված է հացաթխման խմորիչի՝ *Saccharomyces cerevisiae* շտամների կենսաբանական բնութագրերին, ինչպես նաև լաբորատոր պայմաններում երկարատև պահպանման (1996-2021 թթ.) ազդեցությանը նրանց ֆերմենտային ակտիվության վրա:

Saccharomyces cerevisiae – վերամբարձ ուժ – α -գլյուկոզիդազային ակտիվություն – օսմոտիկ
կայունություն – գեներատիվ ակտիվություն

The research is focused on the study of biological properties of baker's yeast strains *Saccharomyces cerevisiae*, as well as the effect of long-term maintenance (1996 - 2021) in laboratory conditions on their enzymatic activity

Saccharomyces cerevisiae – elevating power – α -glucosidase activity –
osmotic stability – generative activity

Основу интенсификации процесса брожения и созревания теста в хлебопечении составляют биологические особенности используемых штаммов дрожжей [2, 13]. Ранее выполненные исследования в НПО хлебопекарной промышленности содержат убедительные доказательства важности значения α -глюкозидазной активности дрожжей для хлебопечения [10]. Дрожжи с высокой мальтазной (α -глюкозидазной) активностью при значительно меньшей дозировке ускоряют процесс тестоведения и способствуют получению хлебобулочных изделий с качественными показателями [6, 12, 16].

Производственная культуральная среда, в которой выращиваются дрожжи, содержит ряд веществ, обуславливающих ее осмотическое давление. Следует учитывать особенность дрожжей снижать свою ферментативную активность в присутствии веществ, повышающих осмотическое давление, что отражается в показателе их осмочувствительности [6]. Значение этого показателя в характеристике произ-

водственных штаммов хлебопекарных дрожжей особенно возросло в связи с тем, что основным направлением технологического прогресса в дрожжевом производстве является использование ускоренных методов выращивания дрожжей в высококонцентрированной мелассной среде (при КР = 6-8). При этом скорость роста сахаромикетов повышается, в связи с чем увеличивается выход дрожжей [10]. Однако в высококонцентрированном мелассном растворе резко выявляется влияние вредных веществ сырья на дрожжевые клетки, а именно быстрее падает способность сахаромикетов к размножению в процессе пересевов, что не позволяет применять технологии длительного культивирования с многочисленными производственными стадиями [4, 17].

Целью работы являлось изыскание активных культур *Saccharomyces cerevisiae*, изучение их технологически ценных биологических особенностей, последующая селекция штаммов хлебопекарных дрожжей в условиях дрожжевого и хлебобулочного производств, а также исследование влияния длительного поддержания (1996-2021 гг.) в лабораторных условиях на их ферментативную активность.

Материал и методика. Объектами исследования служили 25 дрожжевых культур, выделенных из образцов местных хлебных заквасок спонтанного брожения (ттхмор) и сухих пекарских дрожжей производства Нидерландов, Франции, Турции, а также полученных в результате селекции в производственных условиях Абовянского завода пекарских дрожжей. Отбор штаммов проводили по газообразующей способности дрожжей в трубках Дунбара.

Отобранные культуры идентифицировали на основании изучения комплекса культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств [1,14,15].

Подъемную силу дрожжей *S.cerevisiae* определяли ускоренным методом всплывающего шарика, с использованием пшеничной муки 85 % помола. Мальтазную и зимазную активности определяли по времени выделения 10 мл CO₂ при сбраживании 20 мл 5 %-ного раствора мальтозы или сахарозы дрожжами, взятыми в количестве 2,5 % к объему среды, в микрогазомере системы Елецкого [3].

Оптимальную температуру брожения устанавливали по количеству выделившегося CO₂ при различных температурах весовым методом в колбах с сернокислотными затворами Мейселя. Осмочувствительность изучали по модифицированной нами методике Уайта, по разнице во времени между подъемной силой дрожжей в тесте без соли и в тесте с повышенной концентрацией соли (до 4 %, вместо 3,35 % по Уайту [7]).

Оценку генеративной активности дрожжей проводили определением относительного количества мелких клеток в маточных дрожжах при подсчете их под микроскопом [3].

Определение стойкости дрожжей к мелассе проводили в мелассовом растворе с содержанием 10 % СВ вместо 5 % принятых по методике, так как современная технология получения биомассы хлебопекарных дрожжей ориентирована на использование ускоренных методов выращивания дрожжей в высококонцентрированной мелассовой среде. Определение стойкости готовой продукции дрожжей (влажностью 75 %) при хранении проводили по времени размягчения дрожжей в термостате. Стойкими считаются дрожжи, которые при 35⁰С сохраняют консистенцию 100 ч и более [3, 7].

Оценку технологических свойств штамма S-1 в хлебопечении проводили по выпечке опытных образцов хлеба [8, 9, 11].

Среда поддержания дрожжевых культур – сусло-агар 10 % сухих веществ (СВ). Периодичность пересевов – раз в год.

Изученные культуры: *Saccharomyces cerevisiae*: 8 штаммов (номера 100, 101, 105, 107, 110, 115, 123 и 131) выделены из образцов хлебных заквасок спонтанного брожения (ттхмор) сел Горисского и Сисианского районов, марз Сюник; 6 штаммов (номера 60, 63, 67, 71, 79 и 82) выделены из образцов хлебных заквасок спонтанного брожения (ттхмор) сел Севанского и Гаварского районов, марз Гегаркуник; 2 штамма (номера 90 и 99) выделены из образцов хлебных заквасок спонтанного брожения (ттхмор) сел Спитакского района, марз Лори; 4 штамма (номера S-1, S-3, S-4 и S-5) получены в результате селекции в производственных условиях Абовянского завода пекарских дрожжей и 5 штаммов получены путем выделения

чистых культур из сухих дрожжей производства Франции (2 штамма, номера F-1, F-2), Нидерландов (1 штамм, номер Н-1) и Турции (2 штамма, номера Т-1, Т-2). Все исследованные штаммы представлены под своими лабораторными номерами.

Результаты и обсуждение. Определение газообразующей способности дрожжей в солодовом сусле концентрацией 10 % СВ в трубках Дунбара позволило из 58 культур отобрать 25 наиболее сильных газообразователей, с выделением 7-9 мл CO_2 за 24 ч. На основании таксономических исследований отобранные штаммы были отнесены к виду *Saccharomyces cerevisiae*. Микроскопирование показало, что наиболее крупными размерами (8-9 x 11-13 мкм), в сравнении с другими штаммами, отличаются клетки штамма S-3.

Основными критериями дальнейшего исследования штаммов дрожжей были подъемная сила, осмочувствительность, зимазная и мальтазная активности. Из 25 штаммов высокую подъемную силу имели штаммы S-1, S-3, S-4, Н-1, F-2 и Т-1 от 6 мин у штамма S-1 до 8-9 мин у других штаммов. Эти же штаммы являются наиболее перспективными по другим биохимическим признакам, показав высокую зимазную (21-25 мин) и мальтазную (25-30 мин) активности.

Исследование влияния температуры на силу брожения дрожжей показало, что штаммы различаются оптимальными температурами брожения (28-34⁰). Наиболее термоустойчивым по сравнению с другими исследованными штаммами является штамм 100 с максимальной температурой - 43⁰.

Для характеристики штаммов хлебопекарных дрожжей как производственной расы немаловажное значение имеют показатели устойчивости их к мелассе [3]. В результате проведенного исследования только селекционные штаммы выдержали 6 и более пересевов в мелассовом растворе с содержанием 10 % СВ, что соответствует 100 % устойчивости штаммов к мелассе. Наибольшее количество пересевов по 12 выдержали штаммы S-1 и S-4.

Однако дрожжи, устойчивые к высоким осмотическим давлениям, создаваемым в среде сахарами, не всегда так же устойчивы к давлениям, создаваемым солями. В связи с этим изучено влияние повышенного содержания хлористого натрия (до 4 %) на подъемную силу дрожжей. Подтвердилась зависимость бродильной активности дрожжей от концентрации NaCl в среде. Тем не менее все испытанные 25 культур по показателю осмочувствительности от 0 до 10 мин отвечают требованиям, предъявляемым активным штаммам хлебопекарных дрожжей [10]. На подъемную силу штаммов Н-1 и F-2 повышение концентрации хлористого натрия не влияло.

Исследование чувствительности дрожжей к NaCl показало, что в значительной мере степень чувствительности зависит как от штамма, так и от вида сбраживаемого сахара. Выявлено, что в наибольшей степени хлористый натрий подавляет сбраживание мальтозы и в меньшей степени – сахарозы. Изучение влияния NaCl на мальтазную активность 25 культур дрожжей показало, что наименее чувствительными к соли являются 6 штаммов. Из табл.1 видно, что хлористый натрий в концентрации 1,5 % не влияет на скорость сбраживания мальтозы этими штаммами.

На основе проведенных исследований, комплекса технологически ценных свойств дрожжевых культур в лаборатории и полученных результатов, штамм S-1 был отобран для испытаний в производственных условиях Абовянского завода пекарских дрожжей.

Маточные дрожжи штамма S-1 характеризуются сравнительно небольшим содержанием 10-15% мелких клеток (при допустимой норме до 25%), что свидетельствует о высокой генеративной активности штамма. Штамм S-1 благодаря высокой осмостойкости показал в процессе выращивания дрожжей в мелассовом растворе концентрацией 15% СВ повышенную удельную скорость роста на стадии БИН (0,289 час-1 вместо 0,249 час-1) по сравнению со штаммом Одесская-14 сог-

ласно технологическому регламенту завода, а также более высокий выход биомассы (выход дрожжей на 9 % больше, чем в варианте со штаммом О-14). Прессованные дрожжи, полученные с использованием штамма S-1, отличаются повышенным содержанием сухих веществ – 30,3 %.

Таблица. 1. Влияние хлористого натрия на подъемную силу и мальтазную активность наиболее осмостойких культур дрожжей (n= 5; p<0.05)

| Штаммы | Мальтазная активность, мин | | Подъемная сила, мин | | Осмочувствительность, мин |
|--------|----------------------------|------------|---------------------|------------|---------------------------|
| | без NaCl | NaCl, 1,5% | без NaCl | NaCl, 4% | |
| S-1 | 25,00±0,44 | 25,00±0,63 | 6,00±0,44 | 7,00±0,31 | 1 |
| S-3 | 27,00±0,63 | 27,00±0,77 | 6,50±0,31 | 7,50±0,31 | 1 |
| F-2 | 29,00±0,89 | 29,00±0,44 | 9,00±0,44 | 9,00±0,31 | 0 |
| H-1 | 30,00±0,89 | 30,00±0,63 | 10,00±0,31 | 10,00±0,31 | 0 |
| S-4 | 25,00±0,31 | 25,00±0,44 | 7,00±0,31 | 8,00±0,44 | 1 |
| T-1 | 28,00±0,77 | 28,00±0,89 | 8,00±0,63 | 10,00±0,44 | 2 |

Способность штамма S-1 развиваться в среде с повышенным осмотическим давлением, позволяет при культивировании на производственных стадиях в мелассовой среде с повышенной обсемененностью посторонней микрофлорой, получать готовую продукцию высокого качества с подъемной силой 6-7 мин. Это полностью согласуется с литературными данными о том, что повышенное осмотическое давление среды является фактором, обуславливающим ее защитные свойства: дикие дрожжевые грибы в высококонцентрированной мелассной среде размножаются значительно медленнее, чем сахаромицеты ввиду того, что внутриклеточное осмотическое давление последних в 2 раза выше [3].

Таблица. 2. Качественные показатели дрожжей, теста и хлеба, полученных с применением прессованных дрожжей опытного штамма (n= 5; p< 0,05)

| Показатели | Прессованные дрожжи, 75% влажностью | |
|---|-------------------------------------|-------------|
| | Коммерческие дрожжи (контроль) | S-1 (опыт) |
| Дрожжи | | |
| Подъемная сила, мин | 15,00 ±1,78 | 5,00 ±0,89 |
| Тесто | | |
| Бродильная активность, мл CO ₂ /20 г | 9,00 ±1,41 | 20,10 ±1,26 |
| Количество дрожжевых клеток, млн/г | 120,00±2,28 | 175,00±1,41 |
| Продолжительность брожения, мин | 60 | 30 |
| Продолжительность расстойки, мин | 40 | 25 |
| Хлеб | | |
| Вес 1 буханки, г | 700 | 700 |
| Объемный выход, мл | 450,00±4,04 | 576,00±2,82 |
| Пористость, % | 70,0±2,0 | 75,00±1,78 |
| Влажность, % | 43,6 | 43,5 |
| Кислотность, °Н | 3,0 | 3,0 |

Окончательную оценку технологических свойств штамма S-1 проводили по выпечке опытных образцов хлеба [8,11].

Из табл. 2 видно, что в результате применения новой дрожжевой культуры улучшается бродильная активность теста (20,1 мл CO₂ у штамма S-1 против 9,0 – у контрольного). Опытные образцы хлеба отличались лучшей пористостью мякиша. При одинаковом с контрольным образцом весе объемный выход опытного образца хлеба был больше на 28%, а пористость – на 7%. Кроме того, применение дрожжей штамма S-1 в хлебопечении способствует интенсификации процесса тестоведения за счет высокой мальтазной активности культуры: время созревания теста сокращается на 30 мин, расстойка – на 15 мин.

Способность дрожжей штамма S-1 интенсифицировать процесс тестоведения и тем самым улучшать качество хлеба явилась предпосылкой для изучения возможности сокращения расхода дрожжей на замес теста. В этих экспериментах при приготовлении теста безопасным способом расход дрожжей уменьшали на 30, 50 и 70% от нормы, предусмотренной по рецептуре. Контрольное тесто готовили с внесением 1% коммерческих прессованных дрожжей к весу муки.

Изучение динамики газообразования показало, что при всех выбранных дозировках дрожжей суммарное количество выделившегося CO_2 , в опытном тесте превышало контрольное на 3,1-15,7%. При этом по физико-химическим показателям опытные образцы хлеба во всех вариантах с уменьшенными дозировками дрожжей имели объемный выход хлеба на 7,4-16,8%, а пористость на 2,3- 5,1% больше.

Высокие хлебопекарные качества штамма S-1 позволяют использовать при тестоведении прессованные дрожжи влажностью 75% в количестве 0,3-0,4% к весу муки с обеспечением нормального технологического режима тестоведения и получением готовой продукции высокого качества.

На последнем этапе исследований было изучено влияние длительного поддержания и хранения штаммов *S.cerevisiae* в лабораторных условиях на их ферментативную активность. Данный аспект исследования важен, поскольку длительное поддержание чистых культур дрожжей необходимо как в производстве, так и при хранении в коллекциях. Также важно, чтобы производственные расы дрожжей при выбранном методе хранения не теряли своих производственно ценных свойств [1].

Таблица 3. Влияние длительного поддержания наиболее активных штаммов дрожжей на их ферментативную активность (n= 5; p< 0,05)

| Штаммы | Мальтазная активность, мин | | Подъемная сила, мин | |
|--------|----------------------------|------------|---------------------|------------|
| | 1996 г. | 2021 г. | 1996 г. | 2021 г. |
| S-1 | 25 | 25,00±0,89 | 6 | 7,50±0,77 |
| S-3 | 27 | 28,00±1,0 | 6,5 | 9,00±0,44 |
| F-2 | 29 | 29,00±0,31 | 9 | 10,00±0,31 |
| H-1 | 30 | 30,00±0,44 | 10 | 11,00±0,44 |
| S-4 | 25 | 26,00±1,0 | 7 | 9,00±0,63 |
| T-1 | 28 | 29,00±0,89 | 8 | 10,00±0,63 |

Из табл. 3 видно, что при использовании на протяжении 25 лет данного способа поддержания штаммы *S.cerevisiae* практически полностью сохранили свою мальтазную активность. Незначительное снижение показателей по подъемной силе дрожжей возможно связано с разницей в качестве пшеничной муки 85% помола, которая использовалась при данном анализе в 1996 и 2021 годах.

В результате проведенных исследований и селекции получен штамм *S.cerevisiae* S-1, устойчивый к повышенному осмотическому давлению среды и вредным примесям мелассы, применение которого в дрожжевом и хлебобулочном производстве позволяет:

- культивировать дрожжи 12 и более производственных стадий в высококонцентрированной мелассной среде (при кратности разбавления мелассы КР- 6-8);
- вести процесс выращивания дрожжей на производственных стадиях без стерилизации мелассной среды и при этом получать товарные дрожжи высокого качества с большим выходом;

- сократить использование прессованных дрожжей влажностью 75% в тестоприготовлении в 2-2,5 раза от нормативной дозировки и получением готовой продукции высокого качества.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бабьева И.П., Голубев В.И.* Методы выделения и идентификации дрожжей. М.: Пищ. пром-сть, 119 с., 1979.
2. *Багиян В.А., Саруханян Ф.Г., Ерзинкян Л.А., Хачикян Р.Е., Шахбазян Р.Т.* Авт. Свидетельство СССР №1531178. Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, используемый в хлебобулочном производстве, 8 с, 1989.
3. *Бакушинская О.А., Белова Л.Д., Буканова В.И., Лозенко М.Ф., Семихатова Н.М.* Контроль производства хлебопекарных дрожжей. М., Пищ. пром-сть, 167 с., 1978.
4. *Берри Д.* Биология дрожжей. М., Мир, 95 с., 1985.
5. *Коновалов С.А.* Биохимия дрожжей. М. Мир, 271 с., 1980.
6. *Кузьминский Р.В., Стребыкина А.И., Юкиш М.Г., Квинихидзе В.В., Абашидзе Л.М.* Использование дрожжей с высокой мальтазной активностью. Хлебопродукты, 2, 35-37, 1989.
7. *Новаковская С.С., Шишацкий Ю.И.* Справочник по производству хлебопекарных дрожжей. М., Пищ. пром-сть, 374 с., 1980.
8. *Пучкова Л.А.* Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства. М., Пищ. пром-сть, 232 с., 1982.
9. *Ройтер И.М.* Справочник по хлебопекарному производству. М. Пищ. пром-сть, 504 с., 1972.
10. *Семихатова Н.М.* Хлебопекарные дрожжи. М., Пищ. пром-сть, 198 с., 1980.
11. *Чижова К.И., Шкваркина Т.И., Запенина Н.В., Маслов И.Н., Заглодина Ф.И.* Технический контроль хлебопекарного производства. М., Пищ. пром-сть, 479 с., 1975.
12. *Բաղդյան Վ.Ս. ԶԳ Արտոնագիր №33, Հացաթխման արտադրության մեջ կիրառվող շտամերի Saccharomyces cerevisiae ВКПМ Y-1225 և ВКПМ Y-1346 կոնսորցիում, 1995:*
13. *Jonson J.C.* Yeasts for food and other purposes. Food technology review, 45, 11, pp. 54-56 1977.
14. *Kreger-van Rij N.J.W.* The Yeasts taxonomic study, Amsterdam-London, 1385 p, 1970.
15. *Lodder J.* The Yeasts. A taxonomic study, Amsterdam, 1082 p, 1984.
16. *Lovgren T., Hautera P.* Maltosa fermentation and leavening ability of baker's yeast. Eur. J. Appl. Microbiol., 4, 1, pp. 37-43, 1977.
17. *Ruzicke V.* Ispitivanje delovanja kuhinjske soli na kvaliteti fermentaciju testa. Zito-hleb, 15, 1, S. 19-25, 1988.

Поступила 10.01.2022