

P. 4–25. 13. A. Lagunin. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances / A. Lagunin, A. Stepanchikova, D. Filimonov, V. Poroikov // *Bioinformatics*. – 2000. – Vol. 16(8). – P. 747–748. 14. Molinspiration Cheminformatics [Електронний ресурс]: веб-сервіс, що дозволяє на основі структурної формули сполуки обчислити лікоподібні характеристики – Режим доступу: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>. 15. Компьютерная программа PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) [Электронный ресурс]: веб-сервис, позволяющий зарегистрированным пользователям получать прогноз спектра биологической активности на основе структурной формулы химического соединения – Режим доступа: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>.

УДК 663.12/8

Л. Я. Паляниця, Н. О. Паньків¹, Р. Б. Косів, Н. І. Березовська, Т. В. Харандюк
Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології органічних продуктів;
¹Львівська комерційна академія

СТИМУЛЯТОРИ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ СПИРТОВИХ ДРІЖДЖІВ

© Паляниця Л. Я., Паньків Н. О., Косів Р. Б., Березовська Н. І., Харандюк Т. В., 2016

Досліджено вплив католіту, аноліту та нутрієнту Quickferm Nutri 1200 на ферментативну активність спиртових дріжджів Deltaferm AL-18. Показано, що католіт, аноліт та нутрієнт підвищують біосинтетичну та ферментативну активність досліджуваних дріжджів. Генерування дріжджів з додаванням електрохімічно активованої води підвищує питому швидкість розмноження на 25–49 %, що дозволяє скоротити тривалість культивування на 6 год. Встановлено, що використання нутрієнта Quickferm Nutri 1200 збільшує питому швидкість розмноження на 16–25 %, а біомасу дріжджів – на 31–34 %.

Ключові слова: спиртові дріжджі, ферментативна активність, нутрієнт, католіт, аноліт.

L. Palianytsia, N. Pankiv, R. Kosiv, N. Berezovska, T. Kharandiuk

STIMULANTS OF ENZYMATIC ACTIVITY OF ALCOHOL YEAST

Palianytsia L., Pankiv N., Kosiv R., Berezovska N., Kharandiuk T., 2016

The influence of catholyte, anolyte activated water and nutrient Quickferm Nutri 1200 on enzymatic activity of alcohol yeast was investigated. The results showed that catholyte, anolyte and nutrient promotes the biosynthetic and enzymatic activity of investigated yeast. Cultivation of yeasts with addition of electrochemical activated water conduces to the increase of relative growth rate on 25–49 that allows to shorten duration of cultivation on 6 hours. It is established that the use of nutrient Quickferm Nutri 1200 increases relative growth rate on 16–25 % and yeast biomass increases on 31–34 %.

Key words: alcohol yeast, enzymatic activity, nutrient, catholyte, anolyte.

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями. Дріжджі роду *Saccharomyces* різних видів і штамів знайшли широке застосування у технологіях продуктів бродіння і виноробства, зокрема у пивоварінні, виноробстві, виробництві етилового спирту, квасу та хліба. Щоб забезпечити максимальний вихід готової продукції, промислові штами дріжджів

повинні володіти високою генеративною та ферментативною активністю. При цьому використовуються різні способи активації цих процесів. Тому пошук ефективних стимуляторів залишається актуальним і сьогодні.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Основними показниками, які характеризують якість промислових штамів дріжджів, є їх генеративна та бродильна активності, оскільки вони визначають ефективність культивування виробничих дріжджів і подальшого зброджування сусла. Сьогодні існує багато способів підвищення ферментативної активності дріжджових клітин, проте не всі з них знайшли широке використання у промисловості.

Встановлено, що додавання наночастинок металів марганцю, заліза, міді та цинку концентрацією $1,2 \text{ мкг/см}^3$ на стадії термоферментативного оброблення замісу позитивно відображається на процесах дріжджогенерування та гідролізу вуглеводів кукурудзяного сусла [1].

Культивування засівних дріжджів на зерновому суслі з СР 19 % забезпечує найкращі показники зброджування вуглеводів основного сусла підвищеної (до 20 % СР) концентрації та біосинтезу спирту [2].

Запропоновано з метою активації дріжджів додавати до сусла разом із чистою культурою дріжджів 0,1–0,5 % препарату, отриманого внаслідок руйнування стінок та цитоплазматичних мембран дріжджів з додаванням 96 % етанолу як стабілізатора у співвідношенні 1:1. Цей спосіб скорочує процеси накопичення біомаси чистої культури дріжджів в 2–3 рази та головного бродіння на дві доби, підвищує стійкість дріжджів та зберігає фізіологічні властивості протягом наступних 3–4 генерацій. Досліджено також ефективність способу культивування дріжджів на поживному середовищі з гідролізатом (автолізатом) пивних дріжджів, що містить 3,5 % амінного азоту, 7–8 % вуглеводів, 2–3 % нуклеїнових компонентів, а також ергостерин, вітаміни групи В [3].

Одним із способів збільшення біомаси дріжджів є використання молочної сироватки (20–30 %) замість води у приготуванні живильних середовищ, що забезпечує зростання біомаси на 8–17 % порівняно з контролем, виходу дріжджів – на 2–3,5 % з 1 т м'яси та підвищення газоутворювальної здатності дріжджів на 12–25 % [4].

Авторами [12] запропоновано додавати ферум сульфату у солодове сусло в кількості 50 мг/дм^3 під час культивування хлібопекарських дріжджів протягом 3 діб. За таких умов спостерігається збільшення глікогену в клітинах порівняно з контролем, кількості клітин з бруньками на 15 % та підвищення виходу біомаси на 20 %.

Відомий спосіб збільшення інтенсивності розмноження дріжджів обробленням суспензії засівних дріжджів гідроген пероксидом, концентрація якого в дріжджовій суспензії становить 0,1–0,3 %. Використання H_2O_2 підвищує окисно-відновний потенціал як всередині клітин, так і ззовні, частково інактивує дріжджові протеолітичні ферменти і пригнічує життєдіяльність гнильних бактерій, а також змінює проникність клітинної оболонки дріжджів [5].

Запропоновано використання нутрієнта SIHA SpeedFerm, який містить суміш поживних речовин із неактивних дріжджів. Він зменшує утворення H_2S у процесі спиртового бродіння, пришвидшує розмноження клітин, збільшує кількість активних клітин у процесі бродіння та забезпечує високий ступінь зброджування. Проте він не замінює нітрогенвмісного живлення у процесі спиртового бродіння [6].

Стимулятор ферментативної активності дріжджів – препарат NUTRISTART – сприяє розвитку достатньої популяції дріжджів, повному звершенню бродіння та зменшує утворення небажаних компонентів. Дріжджі під час бродіння забезпечуються необхідними факторами росту (амінокислотами, мінеральними речовинами, вітамінами) [7].

Ще одним способом підвищення активності дріжджів є використання електрохімічно активованої води (EXAB), яка утворюється в результаті електролізу. Активована таким способом вода набуває нових властивостей, які впливають на кінетику реакцій, що проходять в ній, зміню розчинності речовин, біологічну та лікувальну активності [8].

Мета роботи. Дослідження впливу електрохімічно активованої води та нутрієнту Quickferm Nutri 1200 на ферментативну активність спиртових дріжджів Deltaferm AL-18.

Виклад основного матеріалу та обговорення результатів. Об'єктами дослідження були дріжджі Deltaferm AL-18 – сухі спиртові дріжджі, виробництва компанії “ADD FOOD Service GmbH” (Німеччина). Нутрієнт Quickferm Nutri 1200 – компаунд, який складається із поживних речовин для дріжджів, що використовуються у виробництві алкогольної продукції (виробник – “Stern Enzym GmbH&Co. KG” (Німеччина). Солодове сусло (“Львівська пивоварня” ПАТ “Карлсберг Україна”) зі вмістом СР = 24 %. Католіт (рН 10,6-11,1) та аноліт (рН 2,7-3,0) готували в електролізері Ековод ЕАВ-3К.

Ферментативна активність дріжджів суттєво залежить від фізико-хімічних властивостей живильного середовища (значення рН та окисно-відновного потенціалу). Внесення електрохімічно активованої води у середовище веде до зміни цих показників. У результаті проходження крізь воду постійного електричного струму утворюються нові речовини, змінюється вся система міжмолекулярних взаємодій, зокрема структура води як розчинника. Католіт насичується відновниками, його окисно-відновний потенціал набуває від'ємного значення і може досягати (–800 мВ), при цьому рН середовища стає лужним. Аноліт є сильним окисником, має високі значення ОВП та низькі значення рН) [9]. Тому важливим було вивчення впливу католіту, аноліту, їх суміші у співвідношенні 1:1 як компонентів живильного середовища, зокрема солодового сусла, на генеративну активність дріжджів.

Із рис. 1 видно, що дріжджі, нагромаджені у суслі, яке було приготоване на основі електрохімічно активованої води, володіють кращою питомою швидкістю розмноження.

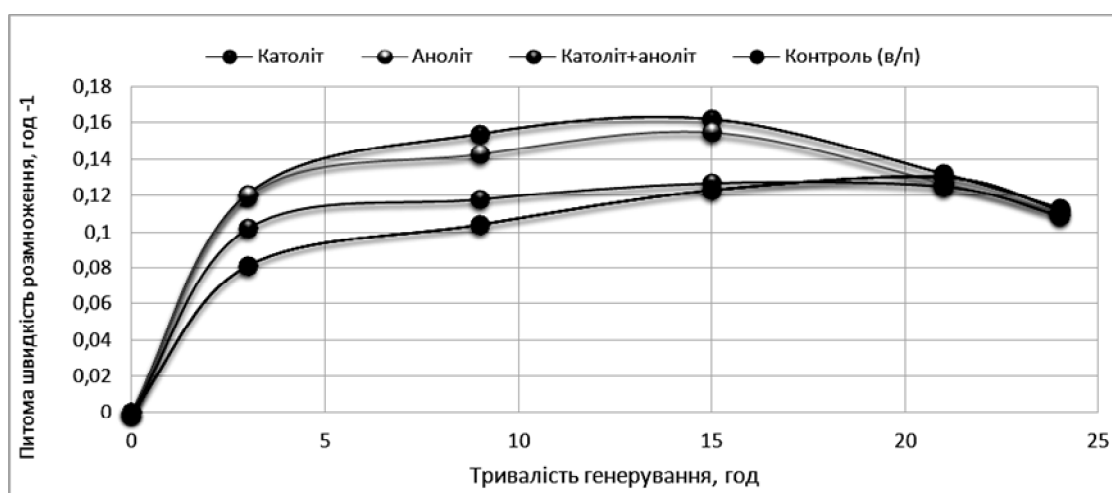


Рис. 1. Зміна питомої швидкості розмноження дріжджів, нагромаджених у солодовому суслі, яке було розведене католітом, анолітом, їх сумішшю у співвідношенні 1:1 та водопровідною водою

Вже за 3 год зразки дріжджів, що обробляли католітом, анолітом та їх сумішшю, показали вищу питому швидкість росту на 49,4 %, 47,2 % та 24,9 % відповідно відносно контролю. Із рис. 1 видно, що максимальна питома швидкість росту досліджуваних дріжджів припадає на 15-ту год, тоді як контрольного зразка – на 21-шу год. Отже, тривалість дріжджогенерування у середовищі з електрохімічно активованою водою можна скоротити на 6 год.

Склад середовища також впливає на життєдіяльність мікроорганізмів. Тому досліджували вплив нутрієнта Quickferm Nutri 1200 як компонента солодового сусла та його концентрації на генеративну активність дріжджів Deltaferm AL-18., додаючи 10 мкг/100 см³, 30 мкг/100 см³, 60 мкг/100 см³ нутрієнта до солодового сусла. Як контроль використовували сусло з концентрацією СР = 4,6 % і рН = 4,958 без додавання препарату.

З одержаних даних видно, що дріжджі, які культивувалися у зразку з додаванням нутрієнта в кількості 10 мкг/100 см³, характеризуються найвищою питомою швидкістю розмноження серед досліджуваних зразків (рис. 2), максимальна величина якої припадає на 12 годину.

Додавання нутрієнта Quickferm Nutri 1200 в кількості 10 мкг/100 см³ позитивно впливає на генеративну активність дріжджів, адже при цьому питома швидкість розмноження дріжджів під час культивування у солодовому суслі підвищується на 16–25 % відносно контрольного зразка. При цьому маса дріжджів після центрифугування у зразках з нутрієнтом є більшою на 31,2–34,3 %, ніж без живлення.

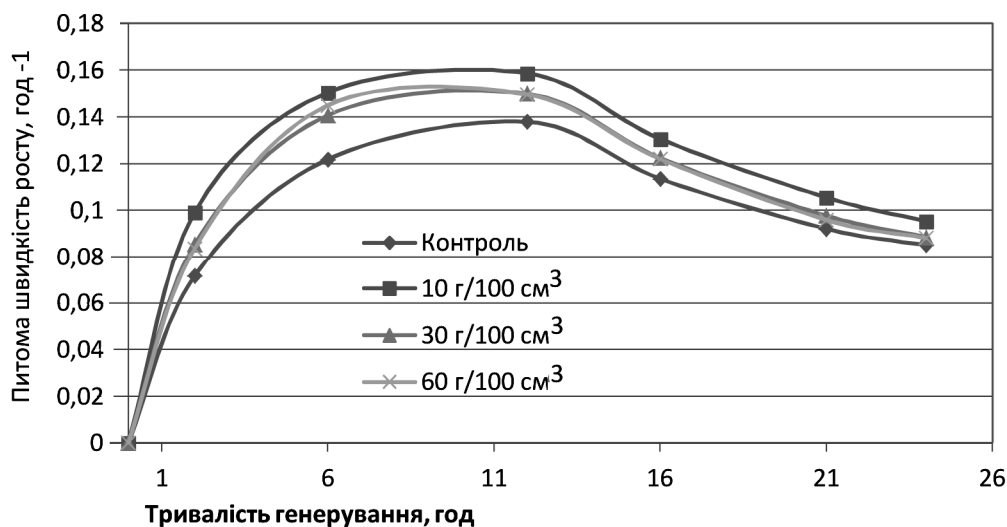


Рис. 2. Зміна питомої швидкості росту дріжджів, нагромаджених у солодовому суслі з нутрієнтом

Надалі досліджували зимазну (ЗА) та мальтазну (МА) активність дріжджів, отриманих у результаті центрифугування після нагромадження у солодовому суслі, приготованому з додаванням нутрієнта Quickferm Nutri 1200 різної концентрації та без нього – контроль ЗА (ПС) та контроль МА (ПС). Після додавання 10 %-го розчину глюкози (мальтози) закривали колби гідрозатвором та зважували кожні 15 хвилин протягом 3 годин. Спостерігали за динамікою виділення CO₂.

Зимазна активність спиртових дріжджів Deltaferm AL-18, отриманих у результаті генерування в суслі зі вмістом нутрієнта 30 мкг/100 см³, є більшою на 16,8 % порівняно з контролем, про що свідчать одержані результати дослідження (рис. 3).

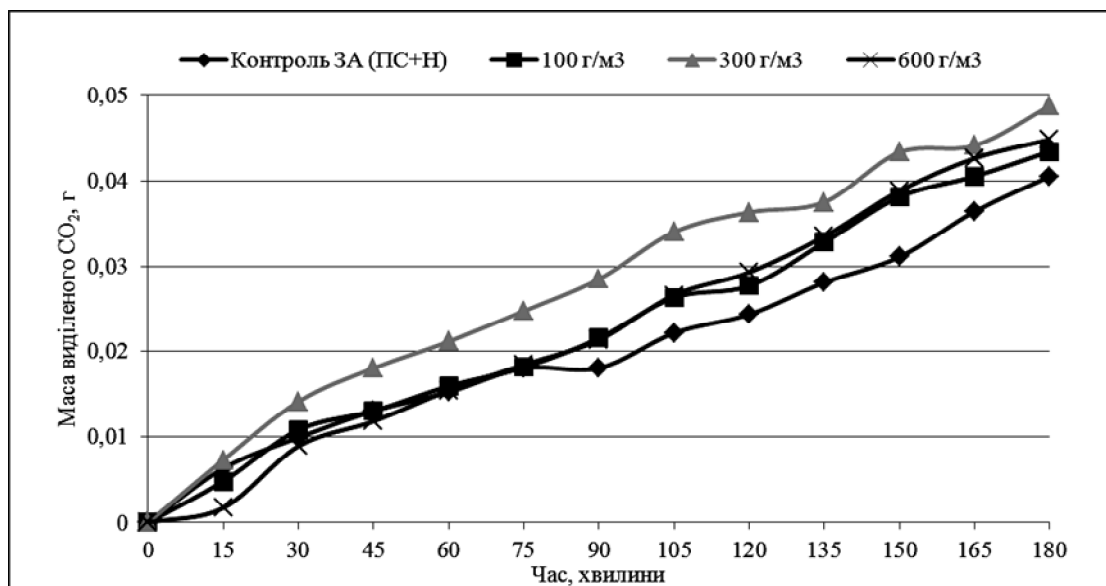


Рис. 3. Зимазна активність дріжджів, отриманих у результаті центрифугування після нагромадження у пивному суслі, приготованому з додаванням нутрієнта

З динаміки виділення CO_2 можна зробити висновок про позитивний вплив розчину нутрієнта на зимазну активність досліджуваних дріжджів, а саме додавання в концентрації $30 \text{ мкг}/100 \text{ см}^3$. Мальтазна активність дріжджів, культивованих у середовищі з нутрієнтом $10 \text{ мкг}/100 \text{ см}^3$, зростає у 1,7 разу порівняно з контрольним зразком, про що свідчать залежності динаміки виділення CO_2 (рис. 4).

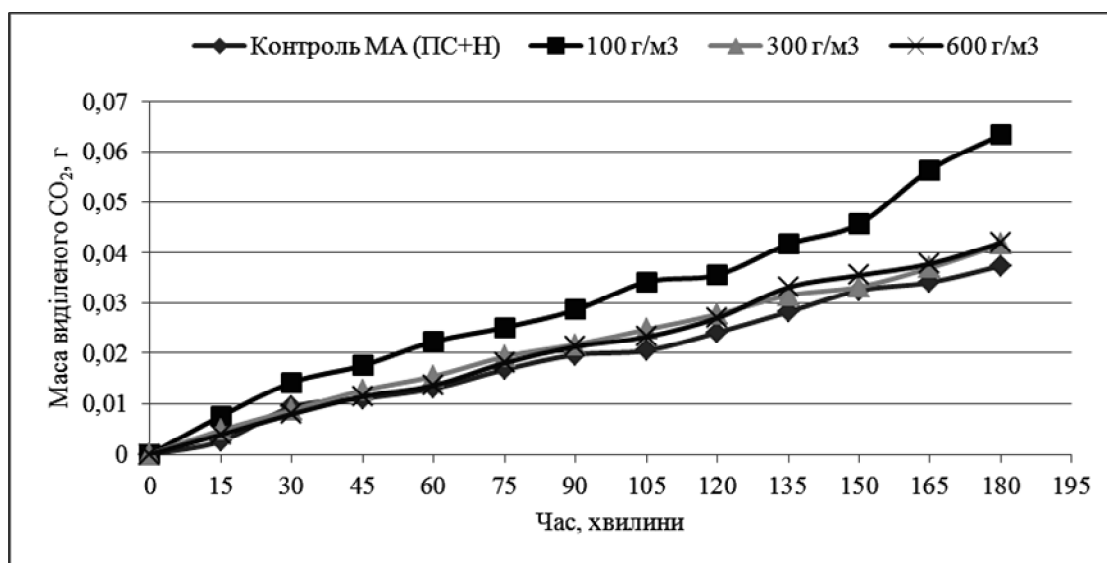


Рис. 4. Мальтазна активність дріжджів, отриманих в результаті центрифугування після нагромадження у пивному суслі, приготованому з додаванням нутрієнта

Збільшення концентрації нутрієнта не покращує суттєво мальтазної активності досліджуваних дріжджів, тому достатньо внесення 1 см^3 1 %-го розчину нутрієнта на 100 см^3 суслу для культивування дріжджів.

Надалі спостерігали позитивний вплив електрохімічно активованої води на мальтазну активність дріжджів (рис. 5).

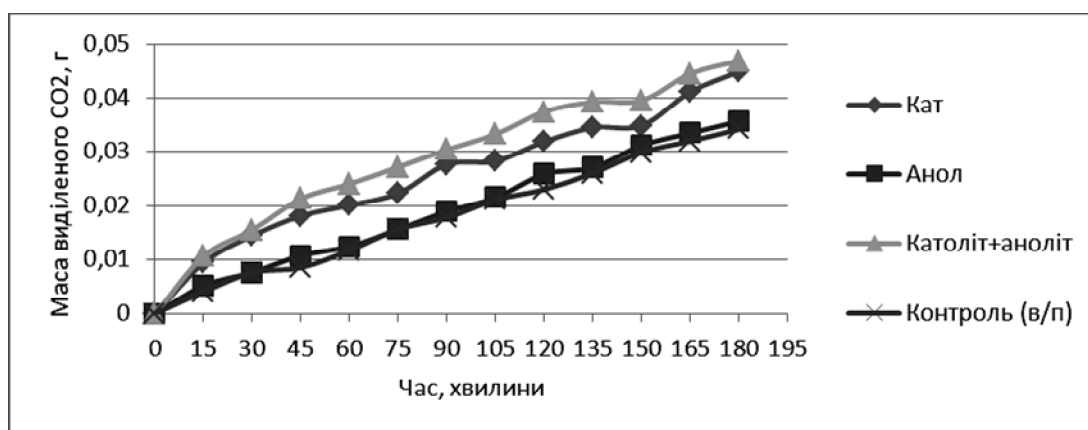


Рис. 5. Мальтазна активність дріжджів, отриманих в результаті центрифугування після нагромадження у солодовому суслі, приготованому з додаванням активованої води

Із динаміки виділення CO_2 під час зброджування мальтози видно (рис. 5), що усі зразки дріжджів, оброблених електрохімічно активованою водою, відзначалися вищою відносно контролю мальтазною активністю. Хоча протягом усього процесу вищою мальтазною активністю володіли дріжджі, культивовані у середовищі з сумішшю католіт та аноліт, а також з католітом. Фермент мальтаза (α -глюкозидаза) розщеплює α -глюкозидний зв'язок у дисахаридах. Очевидно, електро-

хімічно активована вода підвищує активність ферменту мальтази дріжджів, внаслідок чого відбувається швидший гідроліз мальтози до глюкози, яка зброджується дріжджами.

Висновки. Досліджено вплив електрохімічно активованої води та нутрієнта Quickferm Nutri 1200 на генеративну активність сухих спиртових дріжджів Deltaferm AL-18.

Генерування спиртових дріжджів у солодовому суслі з додаванням електрохімічно активованої води підвищує питому швидкість розмноження на 25–49 %, що дає змогу скоротити тривалість культивування на 6 год.

Показано, що питома швидкість розмноження дріжджів під час культивування у солодовому суслі з нутрієнтом Quickferm Nutri 1200 підвищується на 16–25 %, а біомаса дріжджів збільшується на 31–34 % відносно контрольного зразка. Встановлено оптимальну концентрацію – 300 г/м³ препарату Quickferm Nutri 1200, при якій спостерігається максимальне нагромадження біомаси.

Встановлено, що генерування спиртових дріжджів у суслі з електрохімічно активованою водою, а також з додаванням нутрієнта сприяє зростанню ферментативної активності, зокрема мальтазної та зимазної в 1,2–1,7 разу.

1. Ковальчук С. Дослідження впливу додаткових джерел живлення на зброджування концентрованого суслу / Світлана Ковальчук, Олександр Лемак, Тетяна Мудрак, Петро Шиян // Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті: програма і матеріали 80 міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів, 10–11 квітня 2014 р. – К.: НУХТ, 2014. – Ч. 1. – С. 358–359.
2. Левандовський Л. В. Дослідження впливу умов культивування дріжджів на результати спиртового зброджування суслу із зерна / Л. В. Левандовський, А. П. Михайлів // Вісник аграрної науки. – 2010. – № 9. – С. 50–53.
3. Сучасні способи активації процесів розмноження та ферментації пивоварних дріжджів [Електронний ресурс]: / М. В. Карпуніна, З. М. Романова, В. М. Сидор. – К.: НУХТ, 2012. – 8 с. – Режим доступу: <http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/2564/1/Modern%20methods%20of%20processes.pdf>.
4. Перспективи використання молочної сироватки для інтенсифікації біотехнологічних процесів / Л. В. Ткаченко, О. П. Вітряк // Международная научно-практическая интернет-конференция: Научные исследования и их практическое применение. Современное состояние и пути развития, 3–15 жовт. 2013 р. – Режим доступу: <http://www.sworld.com.ua/konfer32/645.pdf> – 19.08.2015 р.
5. Неверова О. А. Исследование влияния сульфата железа на накопление биомассы хлебопекарными дрожжами на стадии маточных культур / О. А. Неверова, А. В. Асташев, Н. И. Давыденко // Ползуновский вестник. – 2011. – № 3/2. – С. 150–154.
5. Способы получения активных рас дрожжей с улучшенными технологическими свойствами для производства пива на высокопроизводительных заводах и на минипредприятиях: научно-информационный материал / М. В. Бирюкова, М. В. Гернет, Г. А. Ермолаева та ін. – М.: ГОУВПО “Московский государственный университет пищевых производств”, 2010. – 13 с.
6. Техническая информация. Питательное вещество для дрожжей – Регидрация. SIHA SpeedFerm. – Режим доступу: <http://www.shop-vine.com/download/products/SIHA%20SpeedFerm.pdf>.
7. NUTRISTART. – Режим доступу: <http://ispgroup.com.ua/wp-content/uploads/2014/07/NUTRISTART.pdf>.
8. Kim, C. Roles of oxidation-reduction potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens / C. Kim, Y. C. Hung, R. E. Brackett // Journal of Food Protection. – 2000. – Vol. 63 (1). – P. 19–24.
9. Бахир В. М. Электрохимическая активация: ключ к экологически чистым технологиям водоподготовки // Водоснабжение и канализация. – 2012. – № 1–2. – С. 89–101.