

Л. Я. Паляниця, Р. Б. Косів, Н. І. Березовська, Н. О. Паньків
Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології органічних продуктів

МОРФОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СПИРТОВИХ ДРІЖДЖІВ В УМОВАХ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР

© Паляниця Л. Я., Косів Р. Б., Березовська Н. І., Паньків Н. О., 2014

Досліджено вплив низьких температур на морфологічні властивості спиртових дріжджів. Результати показали, що найнижчого ступеня пошкодження дріжджових клітин у дослідженому інтервалі температур можна досягнути за температури кріоконсервування -30 °С.

Ключові слова: спиртові дріжджі, кріоконсервування, морфологічні властивості.

The effect of low temperatures on the morphological properties of alcohol yeast is investigated. The results showed that the lowest degree of damage of yeast cells in the investigated temperature range can be achieved at temperature of -30 °C.

Key words: alcohol yeast, cryopreservation, morphological properties.

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями. У спиртовому виробництві для ефективного використання зернової сировини та одержання спирту високої якості важливе значення має біохімічна діяльність дріжджів, яка визначає швидкість перебігу процесів і утворення продуктів бродіння. Тому збереження стабільності таксономічно важливих ознак і властивостей спиртових дріжджів має важливе технологічне значення.

Кріоконсервування мікроорганізмів залишається основним методом їх тривалого зберігання. Збереження кількості життєздатних клітин і життєдіяльності дріжджів без зміни початкових властивостей забезпечується правильним вибором режимів низькотемпературного консервування.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Збереження властивостей мікроорганізмів після кріоконсервування залежить від ступеня пошкодження їх клітин, спричинених холодовим шоком, концентраційним градієнтом, дією гіпер- і гіпоконцентрацій солей, зміною рН, механічною дією поза- та внутрішньоклітинних кристалів льоду [1].

Результати досліджень впливу низьких температур на морфологічні властивості хлібопекарських дріжджів показали, що за температури заморожування -2 °С істотних змін у морфології дріжджових клітин не спостерігалось. При -17 °С та -50 °С форма клітин ставала дещо видовженою. При цьому зростала кількість клітин, забарвлених метиленовим синім, що пов'язано зі збільшенням проникності клітинної стінки під час заморожування [2, 3].

Морфолого-цитологічні спостереження клітин хлібопекарських дріжджів після кріоконсервування виявили в поодиноких клітинах зміну форми та цілісності вакуолю, форми ядра, цілісності ядерних оболонок, розрив клітинної стінки [3].

Проте різні штами мікроорганізмів мають різну кріостійкість, що зумовлено морфо-функціональними особливостями клітин і специфічністю метаболізму. Тому дослідження морфологічних властивостей спиртових дріжджів після їх кріоконсервування є перспективними та мають практичне значення.

Постановка задачі. Робота продовжує цикл досліджень, присвячених вивченню морфологічних властивостей дріжджів-сахароміцетів.

Мета роботи. Дослідження впливу температури заморожування на морфологічні властивості спиртових дріжджів.

Результати експериментів та їх обговорення. Об'єктами досліджень були спиртові дріжджі виду *Saccharomyces cerevisiae* штамів Fermiol, Quikferm Super, ScVKM-Y381, 288C, вирощених із чистих культур у солодовому суслі. Біомасу дріжджів заморожували протягом 3 год. за температури -17 °C, -30 °C та -70 °C. Відтанення здійснювали за нормальних умов. Морфологію клітин дріжджів досліджували за допомогою світлового мікроскопа XS-5510 (Optics&Electronics).

Визначали глибину структурних змін у клітині за допомогою фарбування дріжджів барвником метиленовим синім, який у разі пошкодження цитоплазматичної мембрани має здатність проникати та забарвлювати клітину зсередини. Інтенсивність забарвлення дріжджових клітин свідчить про ступінь їхнього ушкодження.

Аналіз одержаних результатів показав, що витримування дріжджів за екстремальних температур істотно впливає на проникність клітинних мембран (таблиця). При цьому кількість клітин дріжджів, забарвлених метиленовим синім, залежить від значення температури оброблення і від часу входження клітин у стан анабіозу.

Так, у всіх контрольних зразках дріжджів, кількість клітин, які забарвлюються метиленовим синім, становила від 3,4 % для штамів дріжджів Fermiol до 15,6 % (менше 30 %) у ScVKM-Y381.

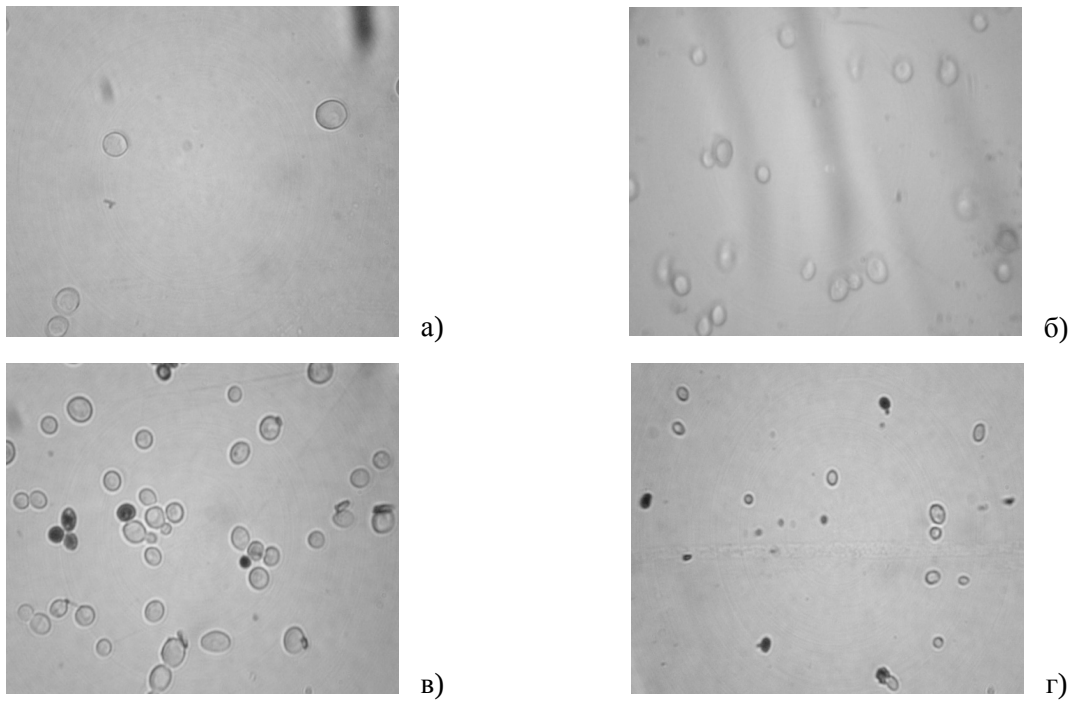
Залежність частки клітин дріжджів, забарвлених метиленовим синім, від температури

Штам дріжджів	Частка клітин, забарвлених синькою (у %) після заморожування при температурі			
	контроль	-17 °C	-30 °C	-70 °C
Quikferm Super	3,4	90,0	9,9	23,2
Fermiol	3,8	35,0	10,6	36,3
ScVKM-Y381	15,6	44,4	6,9	14,8
288C	11,8	26,7	5,0	89,7

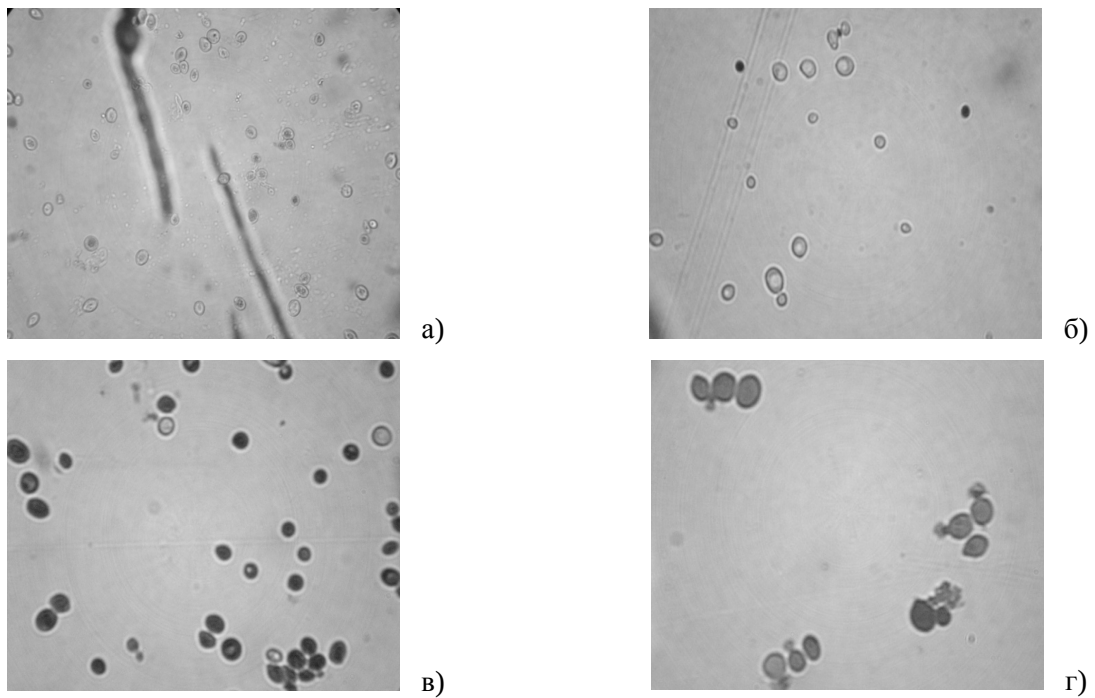
За морфологічними ознаками дріжджі контрольних зразків усіх досліджуваних штамів мали круглу чи кругло-овальну форму різних розмірів. Найменший розмір клітин дріжджів штаму 288C, найкрупніші розміри – у штаму Fermiol. Клітини усіх вихідних зразків дріжджів мають добру прозорість та чітко окреслену оболонку (рис. 1).

У подальших дослідженнях вивчався фізіологічний стан клітин мікроорганізмів після заморожування при – 17 °C та відтанення (рис. 2). Кількість забарвлених клітин після відтанення для штамів Quikferm Super збільшилась у 26,5, для Fermiol – у 9,2, для ScVKM-Y381 та 288C – у 2,8 та 2,2 разу відповідно. У результаті заморожування дріжджів при –17 °C спостерігали максимальне збільшення проникних для барвника клітин для усіх зразків дріжджів (таблиця).

Найменшу зміну кількості клітин, забарвлених метиленовим синім, виявили за температури –30 °C. Високий вміст брунькуючих клітин у зразках дріжджів Quikferm Super та Fermiol (рис. 3) свідчить про те, що дріжджі переносять високі мінусові температури доволі добре, що не позначається негативно на їх основних життєздатних функціях.



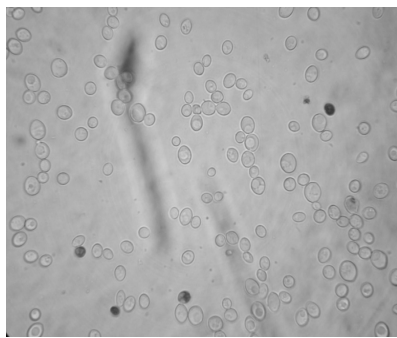
*Рис. 1. Морфологічні ознаки контрольних зразків дріжджів штамів:
а – Fermiol, б – ScVKM-Y381, в – Quikferm Super, г – 288C*



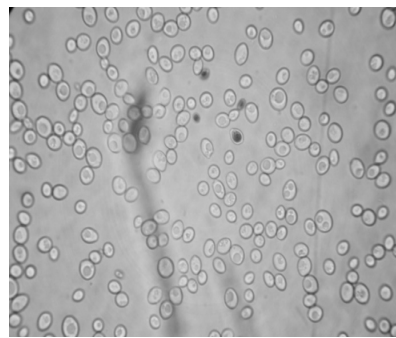
*Рис. 2. Морфологічні ознаки зразків дріжджів штамів:
а – Fermiol; б – ScVKM-Y381; в – Quikferm Super; г – 288 C,
після кріоконсервування за температури -17°C*

Під час дослідження морфологічних ознак дріжджових клітин після кріоконсервування спостерігали зменшення розмірів клітин. Форма клітин зазнавала змін, ставала витягнутішою.

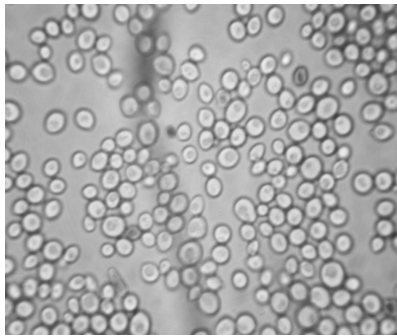
Для температури -70°C характерний дещо менший ефект впливу, ніж для інших температур кріоконсервування. У цьому випадку, кількість клітин, забарвлених метиленовим синім, також зростала порівняно з контрольними зразками. Однак, для дріжджів штаму ScVKM-Y381 кількість клітин, проникних для барвника, залишалась майже незмінною.



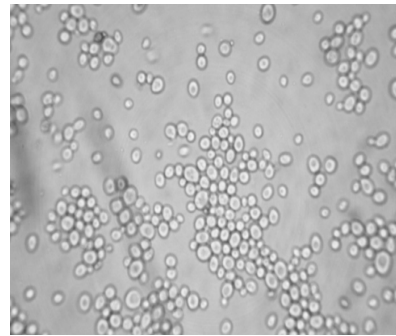
а)



б)



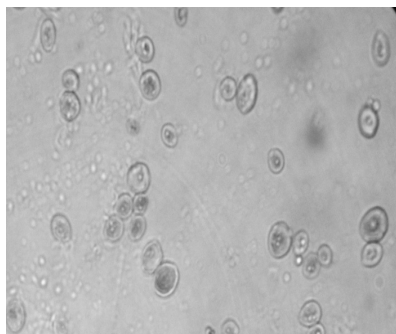
в)



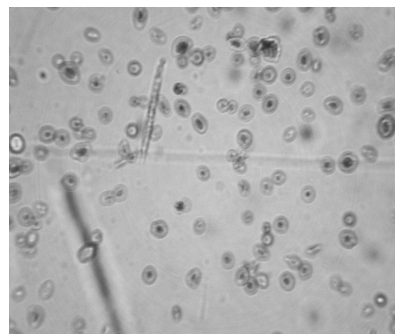
г)

*Рис. 3. Морфологічні ознаки зразків дріжджів штамів:
а – Fermiol; б – ScVKM-Y381; в – Quikferm Super; г – 288C,
після кріоконсервування при температурі -30°C*

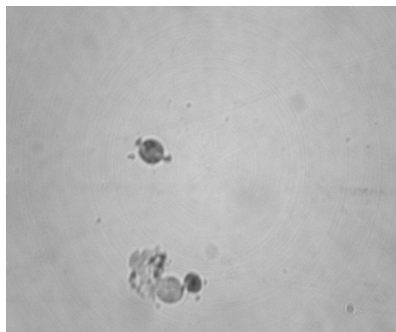
Під час заморожування при -70°C у деяких клітинах штаму Quikferm Super спостерігали розрив клітинної стінки та вихід у середовище клітинного матеріалу. Під час дослідження морфологічних ознак дріжджових клітин після кріоконсервування спостерігали зменшення розмірів клітин (рис. 4). Форма клітин зазнавала змін, ставала витягнutoю.



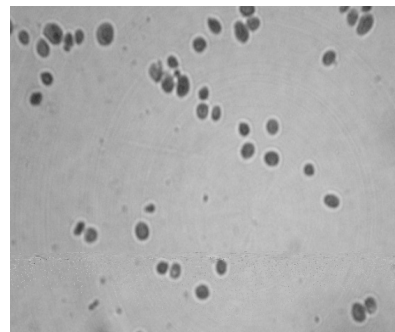
а)



б)



в)



г)

*Рис. 4. Морфологічні ознаки зразків дріжджів штамів:
а – Fermiol; б – ScVKM-Y381; в – Quikferm Super; г – 288C,
після кріоконсервування за температури -70°C*

Отже, найнижчий ступінь морфологічних змін дріжджових клітин штамів Fermiol і Quikferm Super характерний для температури -30°C , що узгоджується з результатами зміни проникності клітинних мембран за цієї температури. Отже, для цих штамів спиртових дріжджів у дослідженому діапазоні температур -30°C є оптимальною температурою кріоконсервування.

Висновки. У результаті впливу екстремальних температур на спиртові дріжджі штамів Fermiol і Quikferm Super відбувається зменшення розмірів клітин, їх форма стає витягнутішою. Для дріжджів штаму Quikferm Super температура заморожування -70°C спричиняє розрив оболонок деяких клітин. Найнижчого ступеня пошкодження дріжджових клітин можна досягнути за температури кріоконсервування -30°C .

1. Цуцаева А. А. Кробиология и биотехнология / А. А. Цуцаева, В. Г. Попов, К. М. Сытник. – К.: Наук. думка, 1987. – 216 с. 2. 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: Вид-во Львівської політехніки, 2011. – С.126–127. 3. 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.