

О.В. Стабнікова, Ю.В. Устинов,
кандидати техн. наук
І.В. Ларіонова, М.М. Антонюк,
І.В. Ткаченко

ВИБІР РЕЖИМУ КУЛЬТИВУВАННЯ ХЛІБОПЕКАРСЬКИХ ДРІЖДЖІВ НА СЕЛЕНОВІСНОМУ ЖИВИЛЬНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Проведено дослід, спрямований на вибір оптимального режиму внесення джерела селену (у вигляді селеніту або гідроселеніту) в живильне середовище в процесі вирощування хлібопекарських дріжджів, що забезпечував би отримання продукту високої якості. Показано недоцільність порційного внесення джерела селену в живильне середовище при виробництві селенозбагачених дріжджів. Рекомендовано застосування одноразового внесення селеновмісного розчину на початку культивування.

The aim of present research was the study the influence of the periodic addition selenium to the medium on the yeast quality. The quality of yeast cultivated with the portion addition of selenium changed for the worse comparing with the control. The most optimal variant was the addition the solution of NaHSeO_3 one time at the beginning of the cultivation.

У кругообігу селену в природі основна роль належить мікроорганізмам. За наявності автотрофних тіонових бактерій елементарний селен окиснюється до селенової кислоти, *Micrococcus selenicus*, виділений з морських мулів, окиснює селеніди, *Bacillus subtilis* відновлює селеніт (+4) до елементарного селену червоного кольору [6]. Багато мікроорганізмів здатні накопичувати селен у клітині й можуть акумулювати до 0,18 % селену в перерахунку на суху біомасу [3]. Мікроорганізми можуть накопичувати селен у досить високих концентраціях як в органічній, так і в неорганічній формі, але перша краще засвоюється людьми і тваринами [7]. Так, вміст селену у біомасі дріжджів роду *Candida* становив 400 мкг/г сухої біомаси [4], у біомасі молочнокислих бактерій, які росли на середовищі з концентрацією селену 5 мкг/мл — 100...400 мкг/г сухої маси, а в біомасі змішаної бактеріально-дріжджової популяції, що використовувалася як початкова закваска при виготовленні кислих сортів хліба, — 280 мкг/г [8].

Селен впливає на ріст і розвиток мікроорганізмів. Відмічено порушення поділу клітин у *Bacillus cereus* за наявності селеніту. Є дані про інгібування росту мікроорганізмів високими концентраціями селену [7].

Важлива роль селену у харчуванні людини. Дефіцит його в раціоні спонукає до створення продуктів з підвищеним вмістом цього мікроелемента. Як збагачувач продуктів найчастіше пропонують вживати селеніт натрію, селенометіонін або селенозбагачені дріжджі [7]. Можна також застосовувати біомасу молочнокислих бактерій [8].

Отримуючи селенозбагачені хлібопекарські дріжджі для подальшого використання їх у виробництві булочних виробів, важливо правильно вибрати режим внесення селену у живильне середовище і зберегти при цьому якісні показники продукту. Попередніми дослідженнями ми показали недоцільність ведення процесу культивування хлібопекарських дріжджів при концентрації селену у кількостях понад 5 мкг/мл [1].

Мета цієї роботи — вибір оптимального режиму внесення селену в процесі вирощування хлібопекарських дріжджів, що забезпечував би отримання продукту високої якості.

Матеріали та методи

Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* вирощували на збідненому сіркою мінеральному середовищі такого складу, г/л: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 1; NH_4Cl — 1,6; MgSO_4 — 0,7; NaCl — 0,5; KH_2PO_4 — 1; K_2HPO_4 — 0,1; цукроза — 20; кукурудзяний екстракт — 7 мл/л; pH 4,5...5. Культивування вели у періодичному режимі в конічних колбах у живильному середовищі об'ємом 100 мл. Водний розчин гідроселеніту натрію з концентрацією селену 100 мкг/мл вносили в стерильне живильне середовище до створення остаточної концентрації селену 5 мкг/мл, що забезпечувалося додаванням 5 мл вихідного розчину. Режими внесення розчину NaHSeO_3 були такими: вносили одноразово 5 мл перед початком культивування (Д1); порціями по 0,3 мл протягом трьох діб (Д2); через однакові проміжки часу у кількості 1 мл п'ять разів (Д3); порціями 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 мл через однакові проміжки часу (Д4).

Вирощували дріжджі протягом трьох діб на установці для культивування мікроорганізмів при температурі 32 °C та частоті обертання 150 об/хв. Концентрацію дріжджової біомаси визначали нефелометричним методом на фотоелектроколориметрі при зеленому світлофільтрі ($\lambda = 540$ нм), робоча довжина кювети 3 мм. Вихід біомаси визначали ваговим способом.

Вирощену біомасу відділяли центрифугуванням. Отриманий осад промивали три рази фізіологічним розчином, щоб видалити адсорбований на поверхні клітин селен. Кількість селену в біомасі визначали флуориметричним методом з використанням 2,3-діамінонафталіну [9]. Зразок попередньо озолляли HNO_3 , додавали HClO_4 , щоб перевести селен у форму $\text{Se}^{(+6)}$, потім обробляли HCl , щоб перевести $\text{Se}^{(+6)}$ у $\text{Se}^{(+4)}$. Селен визначали на флуориметрі фірми "Turner" (США) у кварцовій кюветі при довжині хвилі збуджувального світла 365 нм і довжині хвилі емісії 525 нм. Концентрацію селену визначали за допомогою каліб-

© О.В. Стабнікова, Ю.В. Устинов, І.В. Ларіонова, М.М. Антонюк, І.В. Ткаченко, 2004

рувального графіка, квадратична оцінка якого (величина, що показує відповідність між дослідними даними та лінійною залежністю) $R^2 = 0,98$.

Щоб схарактеризувати отриману дріжджову біомасу, визначали такі важливі для хлібопекарського виробництва властивості, як підймальна сила, мальтазна і зимазна активність, газоутворювальна здатність. Підймальну силу дріжджів визначали методом кульки, що спливає [5], зимазну і мальтазну активності — газометричним способом [5], газоутворення — за допомогою приладу АГ [2].

Результати та їх обговорення

Дослідження впливу різних режимів додавання селену в живильне середовище на ріст культури *Saccharomyces cerevisiae* показало, що в усіх дослідних варіантах відбувається незначне збільшення тривалості лаг-фази і зниження рівня стаціонарної фази росту (рис. 1). За цими показниками найкращими варіантами є Д3 і Д1.

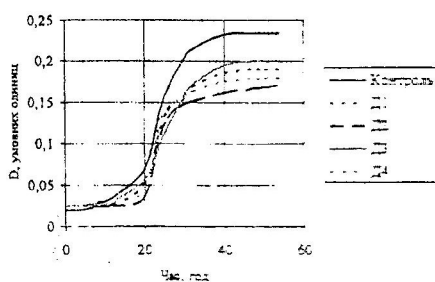


Рис. 1. Ріст дріжджів на селеномісному живильному середовищі при різних режимах внесення гідроселеніту натрію

Порівняльним аналізом динаміки накопичення біомаси у контрольному й дослідних варіантах встановлено, що додавання селену в усіх режимах знижує її кінцеву концентрацію. Найменший негативний вплив додавання селену спостерігався у варіанті Д3 (внесення розчину гідроселеніту натрію порціями по 1 мл п'ять разів протягом культивування) і при одноразовому внесенні гідроселеніту натрію на початку культивування (табл. 1).

Таблиця 1

Показники росту та якості дріжджів залежно від режиму внесення в середовище джерела селену

Показник	К	Д1	Д2	Д3	Д4
Максимальна питома швидкість росту μ , год ⁻¹	0,253	0,200	0,203	0,294	0,250
Вихід біомаси, % до контролю	100	89	76	94	83
Вміст селену, мкг/г АСР	2	162	198	128	160
Підйомна сила, хв	70	84	119	112	108
Зимазна активність, хв	18	36	40	85	44
Мальтазна активність, хв	35	90	125	112	135

Визначення максимальної питомої швидкості росту дріжджів дослідних і контрольного варіантів показало, що суттєвих змін цього показника залежно від режиму внесення в середовище селеномісного розчину немає. В дослідних варіантах він змінюється від 0, 200 до 0, 294, тоді як у контролі питома швидкість росту становила 0, 253 год⁻¹.

Результати визначення впливу різних режимів додавання селену в середовище на якісні характеристики хлібопекарських дріжджів наведено в табл. 1. Аналіз зміни підйимальної сили показав, що в усіх дослідних варіантах вона погіршується. Так, у контролі (К)

тривалість спливання кульки тіста 70 хв, у варіанті Д1 — 84 хв, що може характеризувати ці дріжджі як високоякісні. В той же час у разі порційного додавання селену (Д2, Д3 і Д4) цей показник значно збільшується і становить відповідно 112, 108 та 119 хв.

У дослідних варіантах збільшується також тривалість утворення 10 мл вуглецю з 1 г глюкози (зимазна активність). У контролі зимазна активність дорівнювала 18 хв (високоякісні дріжджі), у варіантах Д1, Д2 і Д3 — 36, 40 і 35 хв (доброякісні), Д4 — 44 хв (задовільні) [5].

Найсильніше додавання селену впливає на мальтазну активність дріжджів. Якщо у контрольному варіанті дріжджі були відмінної якості — мальтазна активність становила 35 хв, у варіанті Д1 — доброї (90 хв), то дріжджі, що були отримані культивуванням у режимі порційного додавання селену, мали: Д2 — 125 хв, Д3 — 112 і Д4 — 135 хв.

Об'єм газу, що був утворений дріжджами зразків Д3 і Д4 за 300 хв бродіння тіста, менший, ніж у контролі та у варіанті Д1, коли дріжджі отримано при одноразовому внесенні селену на початку культивування (рис. 2).

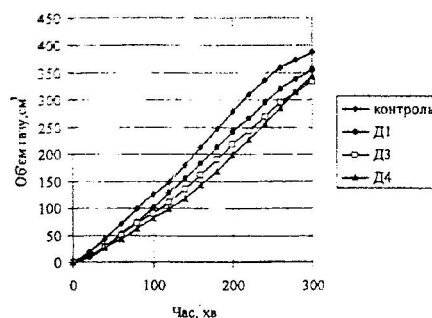


Рис. 2. Газоутворення дріжджів

Аналіз змінення швидкості газоутворення дріжджів (рис. 3 і 4) показав, що у той час як у контролі вона має класичний характер, то у дослідних варіантах Д1, Д3 і Д4 швидкість газоутворення змінюється скачкоподібно.

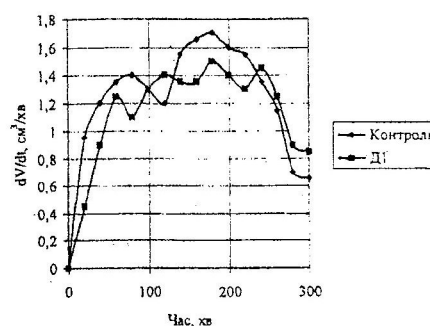


Рис. 3. Швидкість газоутворення дріжджів (контроль і варіант Д1)

Порівнюючи дріжджі, отримані при різних режимах порційного внесення селену, можна помітити, що в режимі Д3 (селеномісний розчин додавали рівними порціями п'ять разів за період культивування) негативний вплив на якісні характеристики продукту був найменший. У разі частого внесення селену дрібними порціями по 0,3 мл (Д2) спостерігалось найвище накопичення селену в дріжджовій біомасі — 198 мкг/г

ХАРЧОВІ ТЕХНОЛОГІЇ

абсолютно сухих речовин (у варіанті Д1 цей показник становив 162 мкг/г, Д3 — 128, Д4 — 160 мкг/г АСР).

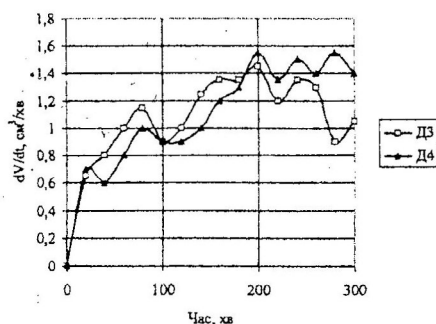


Рис. 4. Швидкість газоутворення дріжджів (варіанти Д3 і Д4)

Отже, вносити селен у середовище порційно недоцільно, оскільки якість отриманих дріжджів значно поступається контрольним і дріжджам, отриманим при одnorазовому додаванні селену. Найвірогіднішою причиною цього явища може бути періодичний токсичний шок при кожному внесенні порції гідроселеніту натрію в середовище. Згідно з отриманими даними при виробництві селенозбагачених дріжджів можна рекомендувати одnorазове внесення селену в живильне середовище на початку культивування.

Висновки. Показано недоцільність внесення селену у середовище порційно, оскільки якість отриманих дріжджів значно поступається контрольним і дріжджам з одnorазовим додаванням селену. При виробництві селенозбагачених дріжджів можна рекомендувати одnorазове внесення селену в живильне середовище на початку культивування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Стабнікова О.В., Аксьонова І.В., Стабніков В.П., Устинов Ю.В. Вплив селену на ріст та властивості хлібопекарських дріжджів // Наук. пр. НУХТ. — 2003. — № 14. — С. 47–49.
2. Дробот В.І. Довідник з технології хлібопекарського виробництва. — К.: Руслана, 1998. — 580 с.
3. Ермаков В.В., Ковальський В.В. Биологическое значение селена. — М.: Наука, 1974. — 220 с.
4. Жильцова Т.С., Шагова М.В., Градова Н.Б., Голубкина Н.А. Исследование резистентности дрожжей рода *Candida* к соединениям селена // Прикладная биохимия и микробиология. — 1996. — Т.32, №5. — С. 567–570.
5. Производство хлебопекарных дрожжей / Н.М. Семихатова, М.Ф. Лозенко, В.И. Буканова и др. — М: Пищ. пром-сть, 1978. — 190 с.
6. Buchanan B.B., Bucher J.J., Carlson D.E. Investigation of the speciation of selenite following bacterial metabopization // Forschungszent Rossendorf. — 1995. — N 94. — P. 79–80.
7. Chmielowski J., Klapińska B., Tyflewski A. Bioakumulacja selenu przez drobnoustroje // Zeszyty Naukowe PAN. — 1994. — N 8. — P. 58–66.
8. Diowks A., Pakowski P., Ambroziak W., Włodarchic M. Se-enriched plant and bacteria-yeast biomass as the potential source of selenium supplementation in food processing // Conference "Bioavailability 97". — Wageningen the Netherlands, 1997. Frost D.V. // Sci. Total Environm. — 1997. — V.10. — P. 98–104.
9. Standart methods for examination of water and wastewater, 18th edition // American public health association. — 1992. — P. 3–90.

Надійшла до редколегії 20.09.01 р.