

## Investigation of thermal resistance of baking yeasts

Hanna Dorosh, Natalia Gregirhak

National University of food technologies, Kyiv, Ukraine

---

### ABSTRACT

#### Keywords:

Yeasts  
Heat  
Resistance  
Brew

---

#### Article history:

Received 14.09.2013  
Received in revised form  
19.11.2013  
Accepted 25.12.2013

---

#### Corresponding author:

Natalia Gregirhak  
E-mail:  
G\_natal@ukr.net

**Introduction.** The wide using of baking yeasts stimulated to expand their range and creating races that do not occur in nature. The consequence of this was deliberate breeding of resistant bread and baker's yeasts that can survive at temperature of baking. The researches of thermal resistance of yeasts is actual as it is not fully elucidated their effect on the human body.

**Materials and methods.** The study was conducted with using of bitter brew (with the addition of 1 % decoction of hops), in which was added the crumb of bread, baked with the addition of 1.5 % and 3 % of yeasts and without them. As a result, the brew served as nutritious medium in which sublethal damaged cells restored.

**Results.** Was found that after baking yeast's cells lose their ability to grow on solid oecetic nutrient mediums, but after cultivation on brewings or malt brothes - restore their viability. Also, it was noted that the presence of foreign microorganisms in bread increases with the number of yeasts that were included in the dough during bread baking.

**Conclusion.** It was shown the ability of baker's yeast to survive and recover after thermal shock during baking.

---

УДК 663.126

## Дослідження терморезистентності хлібопекарських дріжджів

Ганна Дорош, Наталія Грегірчак

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

### Вступ

Хлібопекарські дріжджі широко застосовуються при випіканні хліба. Вони не тільки розпушують тісто, а й збагачують його амінокислотами, вітамінами, а також пригнічують розвиток сторонньої мікрофлори. Селекція дозволила розширити асортимент дріжджів і створити раси, що не зустрічаються в природі. Наслідком цього стала поява їх термостійкості, яка залежить від багатьох факторів, таких як рН,

водна активність, структура продукту і т.д. Вплив цих факторів на життєздатність клітин дріжджів у продукті практично неможливо передбачити [1, 2].

Вважається, що загибель дріжджових клітин починається вже при температурі 45 – 50 °С, а при 90 – 95 °С (температура випікання хліба) вони повністю руйнуються. Однак згідно з останніми науковими даними, клітини сахароміцетів при таких температурах не гинуть, а лише сублетально пошкоджуються і втрачають здатність до росту на ацильованих поживних середовищах або на середовищах з підвищеним вмістом солі [3]. Тому дійсна кількість дріжджів в харчовому продукті може бути недооціненою і згодом справляти негативний вплив на здоров'я людини. Розмножуючись в організмі з величезною швидкістю, дріжджі пригнічують корисну мікрофлору шлунково-кишкового тракту і сприяють проникненню патогенних мікроорганізмів у клітини травного тракту, а потім у кров і в організм в цілому. Регулярне вживання продуктів бродіння веде до хронічної мікропатології, зниженню опору організму, підвищенню сприйнятливості до впливу іонізуючих випромінювань, швидкої стомлюваності мозку, сприйнятливості до впливу канцерогенів та інших екзогенних чинників, що руйнують організм [4].

Мета роботи – дослідити здатність клітин хлібопекарських дріжджів відновлюватися після отриманого теплового шоку при випіканні хліба.

## Матеріали та методи

Дослідження здатності дріжджів виживати при випіканні хліба проводили з використанням гіркої заварки (з додаванням 1 % хмелевого відвару), в яку вносили м'якушку хліба випеченого з додаванням 1,5 % та 3 % дріжджів і без них. У результаті заварка слугувала поживним середовищем, в якому сублетально пошкоджені клітини відновлювалися.

Наявність та кількість дріжджів встановлювали прямим висівом 1 мл зразка на чашки Петрі з сусло-агаром. Загальну обнасіненість (показник МАФAM) визначали загальноприйнятим методом висівом зразка на середовище МПА. Посіви культивували при 30 °С, впродовж 72 год [Грегірчак Н.М. Мікробіологія харчових виробництв: Лаборатор. практикум, 2009].

Для виявлення гнильних бактерій використовували молочний агар Богданова. У разі їхнього росту відбувається розрідження середовища і поява неприємного запаху. Молочнокислі бактерії визначали на середовищі МРС. Бактерії роду *Leuconostoc* виявляли на середовищі з дріжджовим агаром та сахарозою, «дикі» дріжджі – на середовищі з лізином.

Для відновлення сублетально пошкоджених при випіканні хліба клітин дріжджів використовували солодовий бульйон, в який вносили м'якушку хліба з середини та з-під скоринки з наступним витриманням протягом 3 і більше годин. Після закінчення процесу 1 мл досліджуваної суспензії висівали на сусло-агар. Як зразки використовували хліб, випечений з 1,5 % і 3 % дріжджів.

## Результати та обговорення

При проведенні мікробіологічного аналізу заварок та хліба дріжджових клітин не виявлено. Встановлено, що після 24 год бродіння заварка з внесенням м'якушки бездріжджового хліба життєздатних клітин дріжджів не містить, має приємний медовий запах, а ознаки бродіння і контамінації відсутні. У заварці з хлібом з додаванням 1,5 % і 3 % дріжджів до маси борошна їх кількість становила  $1 \times 10^2$  і

$1 \times 10^3$  КУО/г відповідно. При цьому в першому зразку відмічено появу неприємного гнилісного запаху та сторонніх мікроорганізмів, незначне збільшення в об'ємі, що свідчить про початок бродіння. Другому зразку був притаманний спиртовий запах, а об'єм заварки внаслідок доброго розброджування збільшився вдвічі. Отримані дані свідчать про здатність клітин дріжджів залишатися життєздатними після дії на них високих температур.

За результатами мікробіологічного аналізу заварок встановлено, що у всіх зразках після бродіння загальне обсіменіння збільшилося на 4 – 5 порядків, при цьому кількість гнильних бактерій та пліснявих грибів зменшується. Відмічено, що через 24 год кількість молочнокислих бактерій збільшилася на порядок у заварці з внесенням хліба, який випечений з додаванням 3 % дріжджів, а у двох інших зразках – на 2 порядки.

Одним із важливих показників мікробіологічної чистоти напівфабрикатів є відсутність бактерій роду лейконосток. Аналіз результатів дослідження заварок показав, що кількість лейконосток після 24 год бродіння різко збільшилася у всіх зразках і становила  $5,5 \times 10^4$  КУО/г у контролі (заварка з хлібом без внесення дріжджів),  $5 \times 10^5$  та  $4,1 \times 10^5$  КУО/г у першому та другому зразках відповідно.

Окрім дріжджів-сахароміцетів у напівфабрикатах можуть міститися і «дикі дріжджі», які порушують нормальний процес бродіння. У досліджуваних заварках «дикі дріжджі» не виявлені.

Окрім цього проводили проміжний контроль заварки для дослідження динаміки зміни мікрофлори протягом доби (табл. 1.).

Встановлено, що в процесі бродіння найбільш активно збільшення кількості мікрофлори відбувається протягом перших 12 год. Відмічено, що заварки із внесенням хліба є більш обнасінені порівняно з контролем. Вміст сторонньої мікрофлори збільшується зі збільшенням кількості дріжджів, які були внесені до тіста при випіканні хліба

Таблиця 1

Зміна мікрофлори заварки протягом доби

Свіжевиготовлені заварки			
	Контроль	1,5% дріжджів	3% дріжджів
<b>Лейконостоки</b>	55	$1,3 \times 10^2$	65
<b>МАФАМ</b>	$3 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$3 \times 10^3$
<b>Дріжджі</b>	-	20	55
Заварки через 12 год			
<b>Лейконостоки</b>	$1,45 \times 10^6$	$1,48 \times 10^6$	$1,28 \times 10^6$
<b>МАФАМ</b>	$3,41 \times 10^7$	$5,49 \times 10^7$	$6,3 \times 10^7$
<b>Дріжджі</b>	-	$4,97 \times 10^3$	$7,3 \times 10^3$
Заварки через 24 год			
<b>Лейконостоки</b>	$4,47 \times 10^6$	$4,84 \times 10^6$	$5,54 \times 10^6$
<b>МАФАМ</b>	$2,9 \times 10^7$	$7,1 \times 10^7$	$1,9 \times 10^8$
<b>Дріжджі</b>	55	$2,7 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$

Визначено, що в м'якушці обох зразків (з додаванням 1,5 % та 3 % дріжджів) при використанні солодового бульйону міститься 1 – 3 КУО/г дріжджів. Це пов'язано з

надзвичайно малою кількістю життєздатних клітин в харчовому продукті та ймовірно недостатнім для їх відновлення проміжком часу.

На наступному етапі досліджень було збільшено тривалість витримування м'якушки у солодовому бульйоні, яка складала 4, 18 та 24 год. Через 4 год відновлених клітин дріжджів на сусло-агарі не виявлено. Аналіз результатів дослідження зразків через 18 год показав, що після висіву 1 мл суспензії з 1 зразку на сусло-агарі виросло 2 КУО, а з другого – 6 КУО. Мікробіологічний контроль досліджуваних об'єктів через 24 год культивування виявив, що кількість дріжджів на чашках Петрі становила відповідно 3 КУО та 8 КУО.

Окрім хліба, випеченому в лабораторних умовах, встановили терморезистентність дріжджів у хлібі, придбаному в торгівельній мережі (рис. 1).

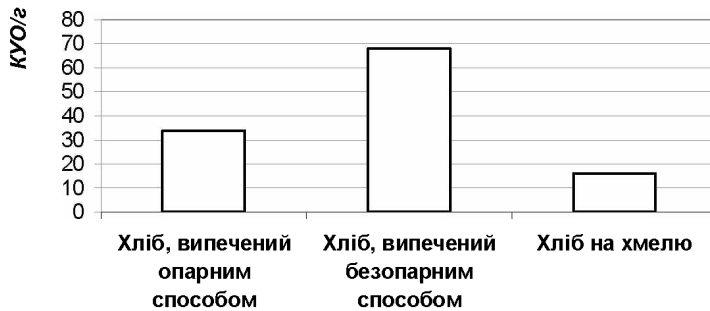


Рис. 1. Вміст дріжджів у хлібі, придбаному в торгівельній мережі

Найбільша кількість дріжджів міститься в хлібі, випеченому безопарним способом, оскільки за рецептурою до нього додається 3 % пресованих дріжджів. При мікроскопуванні дріжджів, що виросли на сусло-агарі виявлено, що вони мають значно менші розміри, ніж звичайні сахароміцети (рис. 2.) Проведені мікробіологічні дослідження хліба промислового виробництва показали, що через 24 год його зберігання життєздатні клітини дріжджів не виявляються.

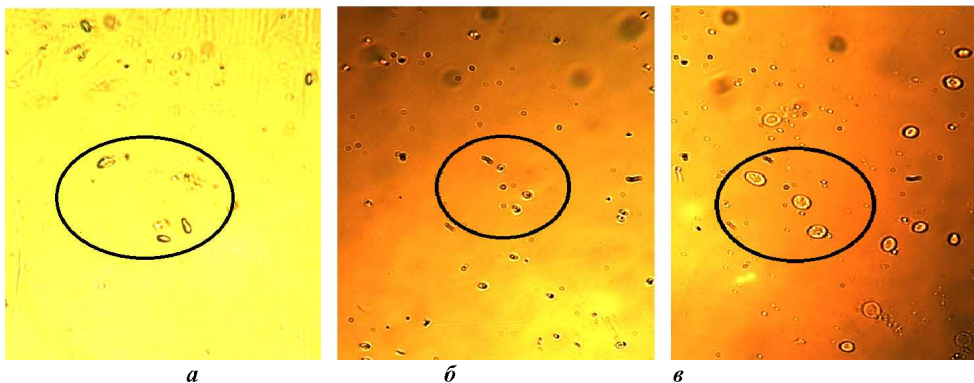


Рис. 2. Порівняння морфології дріжджів :

*а* – з хліба, випеченого безопарним способом, *б* – з хліба, випеченого опарним способом, *в* – *Saccharomyces cerevisiae*

Дріжджі, виділені з хліба на хмелю, відрізнялися за своїми культуральними ознаками, оскільки їх колонії були не білого, а кремового кольору. Проведені дослідження щодо визначення видової приналежності за морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними ознаками по зброджуванню вуглеводів підтвердили, що дані дріжджі належать до виду *Saccharomyces cerevisiae*.

## Висновки

1. Отримані дані свідчать про виживання дріжджів-сахароміцетів у хлібобулочних виробках та їх здатність відновлюватися після отриманих сублетальних пошкоджень.
2. У хлібі містяться як мертві, так і живі клітини хлібопекарських дріжджів, які не виявляють при посіві на агаризоване середовище.
3. Після випікання хліба клітини дріжджів втрачають здатність рости на щільних ацильованих поживних середовищах, проте після культивування у заварках або солодовому бульйоні відновлюють життєздатність.
4. Відновлені клітини сахароміцетів, виділені з хліба, при рості на сусло-агарі мають менші розміри, ніж клітини музейної культури.

## Література

1. Федосеева И.В., Варакина Н.Н., Русалева Т.М., Боровский Г.Б., Рихванов Е.Г., Войников В.К. Эффект ионов кальция на синтез HSP104 и термотолерантность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Микробиология, 2010, Т.79, №2. – с.173-179.
2. Калюжин В.А., Терморезистентность у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Журнал общей биологии, 2011, Т.72, №2. – с.140-149.
3. Коновалов С.А. Биохимия дрожжей / Пищепромиздат, 2009, Т.4, № 3. – с. 13–14
4. Janfranko R. Features The presence of yeast-killing features / Canadian magazine of microbiology, 2007, Vol. 29, Is. 10, P. 14–62
5. Dimitra Dimitrellou, Panagiotis Kandyliis, Yiannis Kourkoutas, Athanasios A. Koutinas, Maria Kanellaki. Evaluation of thermally-dried *Kluyveromyces marxianus* as baker's yeast / Food Chemistry. -2009. -Vol. 115, Is. 2. - pp. 691-696.
6. Hassan Ramshini, Azadeh Ebrahim-Habibi. Thermal disaggregation of type B yeast hexokinase by indole derivatives: A mechanistic study / International Journal of Biological Macromolecules. – 2012. – Vol. 50. – Is. 5. – pp. 1260-1266.
7. Mitsutaka Kohno, Makoto Enatsu, Rie Takee, Wataru Kugimiya. Thermal stability of *Rhizopus niveus* lipase expressed in a *kex2* mutant yeast / Journal of Biotechnology. – 2000. –Vol. 81, Is. 2–3. – pp. 141-150.

## References

1. Fedoseeva I.V., Varakina N.N., Rusaleva T.M., Borovskiy G.B., Rikhvanov E.G., Voynikov V.K. (2010), Effekt ionov kal'tsiya na sintez HSP104 i termotolerantnost' drozhzhey *Saccharomyces cerevisiae*, *Mikrobiologiya*, 79(2), pp. 173-179.
2. Kalyuzhin V.A., (2011), Termorezistentnost' u drozhzhey *Saccharomyces cerevisiae*, *Zhurnal obshchey biologii*, 72(2), pp.140-149.
3. Konovalov S.A. (2009), Biokhimiya drozhzhey, *Pishchepromizdat*, 4(3), pp. 13–14.
4. Janfranko R. (2007), Features The presence of yeast-killing features, *Canadian magazine of microbiology*, 29(10), pp. 14–62.

5. Dimitra Dimitrellou, Panagiotis Kandylis, Yiannis Kourkoutas, Athanasios A. Koutinas, Maria Kanellaki (2009), Evaluation of thermally-dried *Kluyveromyces marxianus* as baker's yeast, *Food Chemistry*, 115(2), pp. 691-696.
6. Hassan Ramshini, Azadeh Ebrahim-Habibi (2012), Thermal disaggregation of type B yeast hexokinase by indole derivatives: *A mechanistic study*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(5), pp. 1260-1266.
7. Mitsutaka Kohno, Makoto Enatsu, Rie Takee, Wataru Kugimiya (2000), Thermal stability of *Rhizopus niveus* lipase expressed in a *kex* mutant yeast, *Journal of Biotechnology*, 81 (2-3), pp. 141-150.