

Изучение влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на дрожжи вида *Saccharomyces cerevisiae*

Обработка дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* низкоинтенсивным лазерным излучением при λ 632,8 и 441,6 нм позволила повысить их продуктивность в образовании биомассы этанола. Эффективность лазерного излучения зависела от длительности экспозиции и рас обрабатываемых дрожжей.

Для пищевой биотехнологии лазерная обработка является сравнительно новым направлением повышения продуктивности живой клетки.

В литературных источниках последних лет имеются данные о влиянии лазерного излучения на дифтерийные и клубеньковые бактерии, а также на винные и хлебопекарные дрожжи-[1—10].

Цель нашего исследования состояла в изучении влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на жизнедеятельность дрожжевых клеток и повышение их продуктивности в биосинтезе биомассы и этанола.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Изучали действие низкоинтенсивного излучения гелий-неонового (λ 632,8 нм) и гелий-кадмиевого (λ 441,6 нм) лазеров при различной экспозиции на спиртовые дрожжи вида *S. Cerevisiae* рас XII, V-30, Г-639 и М-5.

В работе использовали установку, в состав которой входили один из лазеров: ЛГ-75, ЛГ-38 или ЛГ-70, а также зеркала и кварцевые расширительные линзы для коррекции хода луча в нужном направлении.

Лазерной обработке подвергали дрожжевую водную суспензию, приготовленную из расчета 1 г дрожжей (прессованных с влажностью 75 %) в 20 мл водопроводной воды. Дрожжи перемешивали с помощью магнитной мешалки для равномерного распределения в суспензии в период облучения.

Облучение дрожжевых суспензий проводили в химическом стакане, площадь основания которого равна площади сечения расширенного луча. Стакан, устанавливали так, чтобы ось луча и ось стакана совпадали. Так как площадь исходного луча 0,1 см², то для увеличения зоны воздействия использовали расширитель — кварцевую линзу. Чтобы исключить воздействие магнитного поля мешалки, контрольные дрожжевые суспензии перемешивали с помощью магнитной мешалки без воздействия лазерного излучения. Суммарная длительность перемешивания на магнитной мешалке в контроле и в опытных партиях дрожжей одинакова и равнялась максимальной длительности облучения опытного образца. В качестве контроля служили необлученные лазерным излучением дрожжи. Длительность облучения составляла от 0,5 до 40 мин.

Обработанными дрожжами засеивали мелассное сусло, которое готовили с таким расчетом, чтобы после введения в него дрожжевой суспензии сухие вещества составили 22 %, а рН равнялось 5,0. Посев производили из расчета 100 млн. дрожжевых клеток на 1 мл сусла. Колбы закрывали резиновыми пробками с кислотными гидрозатворами

Ставили в термостат при температуре 30° на 2,5—3,0 сут. Контроль за динамикой брожения осуществляли по убыли массы колб. В зрелой бражке контролировали технико-химические показатели по общепринятым методикам. Повторность опытных брожений — 10-кратная.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные предварительные исследования показали стимулирующее действие лазерного излучения на дрожжи. Применение активированного лазерным излучением дрожжей для сбраживания сусла, полученного из крахмалистого (зерновые) и сахаросодержащего (меласса, среда Ридер) сырья, ускоряет процесс спиртового брожения. При этом повышается степень использования углеводов сусла, увеличивается выделение двуокиси углерода, накопление этанола и прирост биомассы.

Из данных табл. 1 видно, что наибольшего эффекта в накоплении биомассы и этанола различные расы дрожжей достигали при различных экспозициях облучения гелий-неоновым лазером: для расы Г-639 она составила 20 мин, а для расы М-5—6 мин. При этом накопление этанола увеличивалось соответственно на 7,5 % (раса М-5) и 8,2 % (раса Г-639) при одновременном увеличении синтеза биомассы на 2,2 и 1,0 %, соответственно. Для дрожжей расы М-5 наблюдалось увеличение синтеза биомассы до 5 % при экспозиции облучения 3 мин. Во всех опытах происходило снижение содержания несброженных сахаров в бражке, и тем больше, чем больше доза облучения. Это можно объяснить, по-видимому стимулирующим воздействием лазерного излучения на активность ферментов дрожжевых клеток, ответственных за синтез этанола и биомассы.

Предварительные данные по облучению спиртовых дрожжей расы V-30 гелий-неоновым лазером показали, что наилучшим режимом для двухпродуктового производства является облучение с экспозицией 5 мин. Так как расу V-30 использует большинство спиртовых заводов, перерабатывающих мелассу, то дальнейшие исследования проводили с ней.

Сравнивали воздействие гелий-кадмиевого и гелий-неонового лазеров при экспозиции облучения 2,5 и 5 мин (табл. 2, 3, 4).

Как видно из данных табл. 2, 3 и 4, активация спиртовых дрожжей расы V-30 излучением гелий-кадмиевого лазера повышает их продуктивность по этанолу и биомассе в конце брожения по сравнению с гелий-неоновым излучением при той же плотности мощности. Причем, для гелий-кадмиевого лазера по сравнению с гелий-неоновым экспозиция облучения уменьшается примерно в два раза, при этом продуктивность дрожжей по накоплению этанола выше в два раза. Так, при облучении гелий-неоновым лазером продолжительностью 5 мин крепость дистиллята после 72 ч брожения на 1,5 % больше, чем в контроле, а при облучении лазером в течение 2,5 мин этанола в бражном дистилляте на 1,0 % больше, чем в контроле. Выявлено, что использование гелий-кадмиевого лазера при экспозиции облучения 2,5 и 5 мин более эффективно с точки зрения повышения продуктивности спиртовых дрожжей по суммарному накоплению биомассы и спирта, чем гелий-неоновый. Повышение выхода биомассы по сравнению с ее выходом в контроле на 8,6 % наблюдалось при обработке дрожжевой

суспензии в течение 5 мин гелий-кадмиевым лазерным излучением (см. табл. 4).

Наблюдение за накоплением летучих примесей этанола (см, табл. 2 и 3) показало, что лазерная гелий-кадмиевая обработка дрожжевых суспензии при экспозиции 2,5 мин уменьшает сумму примесей на 5,3 % по отношению к их содержанию в контроле. При лазерной обработке исследуемых дрожжей наблюдалось некоторое увеличение по сравнению с контролем содержания высших спиртов в дистиллятах, что обусловлено повышенным накоплением биомассы. По отношению к другим примесям этанола какой-либо закономерности не установлено.

Выявлено влияние лазерного облучения на подъемную силу спиртовых дрожжей, выделенных из полученной бражки (см. табл. 4).

Видно, что выбранный режим обработки дрожжей улучшает их качество, причем наибольший эффект наблюдается при меньшей дозе лазерного облучения. Так, предварительная активация дрожжей излучением при λ 632,8 нм повышает их подъемную силу на 9—21 %, а при излучении λ 441,6 нм — на 19—40 %.

Установлено, что размер колоний спиртовых дрожжей, подвергнутых лазерному воздействию, на 25—50 % уменьшается по сравнению с их размерами в контроле, а по ряду таких показателей как форма, блеск, цвет, поверхность, профиль, край, структура, консистенция, способность к змуглированию — изменений не наблюдалось.

Таблица 1
Технологические показатели меласной бражки в зависимости от экспозиции облучения дрожжей гелий-неоновым лазером

Время облучения дрожжевой суспензии, мин	Крепость дистиллята, Об. %	Биомасса, г/л	Несброженные сахара, г/100 мл
<i>S. cerevisiae</i> раса Г-639			
Контроль	7,26	26,84	0,644
0,5	6,98	26,86	0,640
1	7,22	27,57	0,567
2	7,39	27,09	0,534
3	7,69	25,66	0,525
6	7,74	25,49	0,559
10	7,70	23,42	0,546
20	7,56	27,10	0,539
30	7,86	24,65	0,524
40	7,84	24,25	0,514
<i>S. cerevisiae</i> раса М-5			
Контроль	7,21	25,30	0,429
0,5	6,81	25,59	0,416
1	7,44	25,37	0,356
Чу £'	7,49	25,83	0,348
3	7,51	26,17	0,338
6	7,75	25,85	0,343
10	7,71	25,98	0,325
20	7,73	23,72	0,324
30	7,66	23,09	0,313
40	7,70	22,24	0,319

Таблица 2

Показатели процесса брожения при облучении дрожжей рас У-30 с экспозицией 2,5 мин

Режим облучения, нм	Количество выделившегося CO ₂	Бражка				Бражный дистиллят, мг/л					
		Видимый наброд	pH	Кислотность, град.	Наброженный сахар	Этанол'	Кислоты	Сложные эфиры	Альдегиды	Высшие спирты	Сумма
Контроль 632,8	8,54	11,9	5,45	0,68	1,150	7,75	445,59	18,34	35,42	396,4	895,75
	8,65	11,8	5,60	0,60	0,590	7,66	378,93	18,34	35,42	396,4	829,09

	8,97	12,0	5,40	0,700,725 7,43	407,39	18,34	31,25	408,2	865,18
				Длительность брожения 48 ч					
Контроль	8,86	11,8	5,24	0,67 0,690 7,77	637,90	36,68	44,79	399,4	1118,77
632,8	9,01	11,4	5,26	0,69 0,528 7,78	443,10	18,34	41,67	396,4	904,51
441,6	9,03	11,7	5,24	0,69 0,518 7,90	470,66	18,34	40,63	411,2	940,83
				Длительность брожения 69 ч					
Контроль	8,95	11,6	5,18	0,67 0,232 7,78	757,86	55,02	48,83	394,0	1255,7
632,8	9,05	11,4	5,25	0,65 0,201 7,86	682,07	55,02	50,00	426,0	1213,0
441,6	9,04	11,4	5,20	0,66 0,161 8,15	690,03	36,68	54,17	411,8	1192,6

Показатели процесса брожения при облучении дрожжей рас

Таблица 3

Режим облучения, нм	Количество выделившегося CO ₂	Бражка				бражный дистилат, мг/л					
		Видимый наброд	pH	Кислотность, град.	Наброженный сахар	Этанол*	Кислоты	Сложные эфиры	Альдегиды	Высшие спирты	Сумма
Контроль	8,67	12,0	5,09	0,88 0,390 7,72	467,35	18,34	41,67	189,3	716,66		
632,8	8,79	12,1	5,25	0,70 0,443 7,76	492,61	27,50	37,50	189,3	746,91		
441,6	8,84	11,8	5,10	0,76 0,426 7,58	568,39	110,58	39,58	236,6	955,15		
				Длительность брожения 48 ч							
Контроль	9,08	11,5	5,03	0,77 0,300 7,86	555,76	91,71	37,50	118,3	803,27		
632,8	9,06	11,5	5,13	0,69 0,296 7,80	555,76	116,05	41,67	207,1	914,58		
441,6	8,93	11,6	5,05	0,69 0,299 7,80	606,29	128,39	33,30	189,3	957,28		
				Длительность брожения 72 ч							
Контроль	9,14	11,2	4,88	0,70 0,296 7,94	783,12	64,19	41,67	118,3	1007,2		
632,8	9,53	11,4	4,86	0,66 0,267 8,06	757,86	55,02	41,67	295,9	1130,4		
441,6	9,44	11,3	4,87	0,66 0,277 8,08	884,1 /	73,36	33,30	189,3	1804,3		

Таблица 4

Влияние лазерного излучения на накопление биомассы и подт>- смную силу дрожжей рас V-30

Режим облучения	Экспозиция, мин	Биомасса, г/л	Подъемная сила	
				% от контроль'
Контроль	-	27,6	75	
632,8	2,5	28,6	59	+ 21,3
632,8	5,0	29,2	61	+ 18,7
441,6	2,5	28,8	45	+40,0
441,6	5,0	30,0	61	+ 18,7

Таким образом, низкоинтенсивная лазерная обработка спиртовых дрожжей вида *S. cerevisiae* рас XII, V-30, Г-639 и Af-5 позволяет повысить их продуктивность по этанолу и биомассе. Длительность экспозиции, при которой достигнуты наи-лучшие результаты, зависят как от вида излучения, так и от расы дрожжей.

Получено 03.06.91

ЛИТЕРАТУРА

1. А. с. СССР № 778259. С 12 О 1/02, 1982.

2. А. с. СССР № 902462, С 12 N 13/00, 1982.
3. А. с. СССР № 1089121. С 12 N 13/00. 1/20, 1984.
4. Гамалея Н. Ф., Рудих З. Л., Стадник В. Я. Лазеры в медицине. Сер.: Советы врача.— Киев: Здоровья, 1988.— 48 с.
5. Далгатова Б. И., Абрамов Ш. А., Котенко С. Ц. и др. // Хлебопекарная и кондитерская промышленность.— 1986.— № 1,— С. 39—40.
6. Дорохов Г. П. Перспективы применения электромагнитных полей в растениеводстве: Информационное обеспечение научно-технических программ. Аналитический обзор.— Алма-Ата: КазНИИНТИ, 1984.— 59 с.
7. Козлов Ю. Г. Применение лазеров в технической микробиологии: Обзорная информация. Сер. II.— М.: ОНТИТЗИмикробиопром.— 1983,— № 4.— 36 с.
8. Котенко С. Ц., Абрамов Ш. А., Далгатова Б. И. и др. // Хлебопекарная и кондитерская промышленность.— 1986.— № 4,— С. 39—40.
9. Рубин Л. Б. Лазерная техника в современной биологии. Сер.: Биология.— М.: Знание, 1978.— № 2.— 64 с.
10. Федорова Н. Н., Усембаева Ж. К., Нусупкулова А. Н. и др. // Хлебопекарная и кондитерская промышленность.— 1986.— № 2,— С. 31—32.

A. M. KUTS, T. I. ROMANOVSKAYA, I. A. ROMANOVSKY, V. F. SUKHODOL

Kiev Technological Institute of Food Industry, 252601

Research of the Influence of Low-Intensive Laser Beams on Yeast of *Saccharomyces cerevisiae*

The treatment of yeast of *Saccharomyces cerevisiae* with the low-intensive laser beams at a 632,8 and 441.6 nm and various expositions allowed to improve their productivity in the field of biomass and ethanol making. The efficiency of laser beams depended on the period of exposition and the race (type) of the yeast under treatment.

Время облучения дрожжевой су- спензии, мин	Крепость дистил- лята, об. %	Биомасса, г/л	Несброженные сахара, г/100мл
<i>S. cerevisiae</i> раса Г-639			
Контроль	7,26	26,84	0,644
0,5	6,98	26,86	0,640
1	7,22	27,57	0,567
2	7,39	27,09	0,534
3	7,69	25,66	0,525
6	7,74	25,49	0,559
10	7,70	23,42	0,546
20	7,56	27,10	0,539
30	7,86	24,65	0,524
40	7,84	24,25	0,514

