

DOI 10.21603/2074-9414-2018-1-74-84
УДК 663.123.4

ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ ПРИ ХРАНЕНИИ С ПРИРОДНЫМИ МИНЕРАЛАМИ

Л. В. Пермякова

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»,
650000, Россия, г. Кемерово, ул. Красная, 6

e-mail: delf-5@yandex.ru

Дата поступления в редакцию: 26.01.2018

Дата принятия в печать: 16.03.2018

© Л. В. Пермякова, 2018

Аннотация. Условия хранения пивных семенных дрожжей до введения в следующий цикл брожения не всегда соответствуют рекомендуемым требованиям, что ухудшает биотехнологические показатели микробной культуры. Для устранения или сглаживания отрицательно влияющих на дрожжи факторов используют разнообразные способы и приемы. В работе рассмотрена возможность применения природных цеолитсодержащих туфов различных месторождений Сибири с целью предотвращения негативных изменений физиолого-биохимических свойств семенных дрожжей на стадии хранения. Объект изучения – производственные дрожжи низового брожения расы С34 и 308. Дрожжи суспендировали в воде, молодом пиве или 11%-ном пивном сусле (1:1), вносили цеолит в количестве 0,5–4 % к объему суспензии и хранили в течение 2–3 суток при температуре 2–4 °С. Установлено, что добавление минералов в среду инкубирования дрожжей повышает содержание в биомассе по отношению к исходному значению клеток почкующихся в 1,2–2,5 раза, клеток с наличием гликогена – от 9 до 85 %, увеличивает мальтазную и зимазную активность на 25–85 % в сравнении с контролем (хранение инокулята без туфа), снижает способность к флокуляции. Воздействие минералов эффективнее на дрожжи десятой и двенадцатой генерации, чем на молодую популяцию (четвертой и пятой генерации). Результативность влияния зависит от состава среды суспендирования, длительности хранения биомассы, дозы цеолита и его происхождения. Более существенные изменения исследуемых показателей наблюдаются при использовании Холинского минерала и шивыртуина, чем пегасина, что обусловлено особенностями химического состава и структуры минералов. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности применения природных цеолитов на этапе хранения семенной культуры как превентивной меры нежелательных изменений физиологической и биокаталитической активности дрожжей.

Ключевые слова. Дрожжи пивные семенные, хранение, среда инкубации, природные цеолитсодержащие туфы, физиологическое состояние, активность ферментов, способность к флокуляции, генерация дрожжей

Для цитирования: Пермякова, Л. В. Особенности физиолого-биохимических характеристик пивных дрожжей при хранении с природными минералами / Л. В. Пермякова // Техника и технология пищевых производств. – 2018. – Т. 48, № 1. – С. 74–84. DOI: 10.21603/2074-9414-2018-1-74-84.

PECULIARITIES OF PHYSIOLOGICAL AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF BREWER'S YEAST STORED WITH NATURAL MINERALS

L.V. Permyakova

Kemerovo State University,
6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russia

e-mail: delf-5@yandex.ru

Received: 26.01.2018

Accepted: 16.03.2018

© L.V. Permyakova, 2018

Abstract. Storage conditions of brewer's seed yeast before they start another fermentation cycle do not always meet necessary requirements. That leads to the decrease in biotechnological parameters of the microbial culture. Different methods are used to eliminate or moderate the effect of negative factors on yeast. The article considers the possibility of using natural tuffs containing zeolite taken from different deposits located in Siberia to prevent negative changes in physiological and biochemical properties of seed yeast during storage. The author studied industrial bottom fermentation yeast strains C34 and 308. The yeast was dispersed in water, schenk beer, or 11% beer mash (at the ratio of 1:1), then zeolite was introduced (0.5–4% to suspension volume) and stored for 2–3 days at 2–4°C. The author determined that using minerals in yeast incubation medium increases the proportion of budding cells in the biomass in relation to the initial number of budding cells in 1.2–2.5 times, the number of cells containing glycogen – from 9 to 85%. That also enhances maltase and zymase activity by 25–85% compared to the control sample (inoculum stored without tuff), decreases flocculating power. Minerals have more significant influence on yeast of 10th and 12th generations than on the young population (4th and 5th generations). Effectiveness of the influence depends on the composition of the suspending medium, length of biomass storage period, proportion of zeolite and its origin. More sufficient changes of the considered parameters took place when the author used minerals taken from Kholinsk and Shivyrtuin deposits rather than pegasin. The effect is due to the chemical composition and structure of the given minerals. The obtained results show that it is advisable to use natural zeolites during storage of the seed yeast as a way to prevent adverse changes in yeast physiological and enzymatic activity.

Keywords. Brewer's seed yeast, storage, incubation medium, natural tuffs containing zeolite, physiological state, enzyme activity, yeast flocculating power, yeast generation

For citation: Permyakova L.V. Peculiarities of Physiological and Biological Characteristics of Brewer's Yeast Stored with Natural Minerals. *Food Processing: Techniques and Technology*, 2018, vol. 48, no. 1, pp. 74–84 (In Russ.). DOI: 10.21603/2074-9414-2018-1-74-84.

Введение

Проведение процесса брожения сусла в оптимальном режиме, физико-химические и органолептические показатели готового пива в значительной мере обусловлены используемой культурой дрожжей. Даже при переработке хорошего сырья сложно получить готовый продукт высокого качества, если дрожжи имеют низкую жизнеспособную активность. Нарушения в работе с дрожжами, в частности на этапе хранения семенной биомассы (удлинение срока и повышенная температура хранения, неоптимальный состав среды инкубации), представляют реальную опасность жизнеспособности популяции [1–4].

Для устранения или нивелирования негативного влияния на дрожжи различных факторов применяют широкий набор средств и приемов. Одним из способов регулирования биотехнологических функций дрожжей является использование препаратов и добавок, трансформирующих состав питательной среды [5].

На практике для корректировки минерального состава сусла распространение получили дрожжевые пищевые подкормки, восполняющие дефицит тех или иных ионов (в основном фосфора, аммония, марганца, цинка, реже калия, магния, меди) [5, 6]. Причем в большинстве препаратов минеральные вещества присутствуют в форме неорганических соединений, чужеродных для пищевого продукта.

Предпочтительно использовать для оптимизации минерального состава питательной среды источники естественного происхождения. Рядом авторов показано применение в качестве биостимуляторов природного кремнезема в виде подготовленного песка бархана Сарыкум [7], геотермальной воды [8], металлоорганических соединений биогенных металлов (магния, марганца, железа, цинка, меди, селена), органической формы кремния в виде соединения кремний – углевод [9, 10].

Среди минеральных образований, обладающих биоактивными свойствами, выделяют большую группу природных минералов – цеолитсодержащие туфы (ЦТ). Наряду с биологическим воздействием на живые организмы они характеризуются и другими уникальными качествами: высокой избирательностью поглощения, способностью разделять по размерам ионы и молекулы различных веществ, ионообменными и сорбционными свойствами [11–14].

Туфы промышленно значимых месторождений Сибири: Шивыртуйское (Читинская область), Холинское (Республика Бурятия), Хонгуруу (Республика Саха), Пегасское (Кемеровская область) представлены главным образом минералами клиноптилолитом и гейландитом, частично перлитом и монтмориллонитом [13, 14].

Наибольшей биологической активностью обладают минералы, характеризующиеся

«рыхлым» кристаллическим строением, как у цеолита-клиноптилолита, и «подвижной» слоистой структурой, как у монтмориллонита, а также легкорастворимые соединения. Именно такие минералы отличаются повышенной сорбционной, ионообменной способностью и химической неустойчивостью. Большой частью они гидратизированы и содержат обменные комплексы наиболее подвижных элементов, которые легко освобождаются и могут участвовать в процессах жизнедеятельности организма.

Цель работы – изучение возможности применения природных цеолитов различных месторождений Сибири для минимизации негативных изменений биотехнологических свойств пивных семенных дрожжей в процессе хранения.

Объект и методы исследования

Объект исследования – производственные пивные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* низового брожения расы С34 четвертой и двенадцатой генерации и расы 308 третьей генерации (при оценке способности к флокуляции).

В качестве стимулирующей добавки использовали туфы Холинского (Холинский цеолит), Шивыртуйского (шивыртуин), Пегасского (пегасин) месторождений. Цеолиты предварительно были отмыты от пыли, отсушены при температуре 120 °С и раздроблены до частиц размером 50–140 мкм. Для выявления действия природных минералов на физиолого-биохимические и технологические характеристики микробной культуры семенные дрожжи смешивали со средой (водой, 11 % охмеленным пивным сусликом или молодым пивом) в соотношении 1:1, вносили ЦТ в количестве 0,5–4 % к объему суспензии и хранили в течение 2–3 суток при температуре не выше 4 °С. Выбор среды суспендирования, длительности и температуры хранения обусловлен принятыми в производстве пива условиями [1, 2, 4]. В качестве контроля взят образец дрожжей, хранившихся в среде без добавления туфа.

В исходных дрожжах и в процессе инкубирования оценивали физиологические показатели методом прямого микроскопирования с использованием красителей: раствора Люголя – при определении клеток с запасом гликогена, раствора метиленового синего – для подсчета количества жизнеспособных клеток. Способность дрожжей к флокуляции анализировали по объему осадка (в см³), образовавшегося через 10 мин отстаивания суспензии [6].

Определение активности дрожжевых ферментов α -глюкозидазы (мальтазы) и зимазного комплекса осуществляли по скорости ферментативного гидролиза мальтозы и потребления глюкозы соответственно с последующим поляриметрированием полученных растворов [15].

Оценку гранулометрического состава цеолитовых порошков проводили методом ситового анализа согласно ГОСТ Р 51641–2000.

Результаты эксперимента получены в 3–4-кратной повторности.

Результаты и их обсуждение

Внесение минералов в среду хранения дрожжей оказывает положительное влияние на качественные характеристики культуры (рис. 1). Результативность действия туфа зависит как от его дозы, так и от состава среды и длительности инкубации.

Известно, что хранение дрожжей под слоем воды, особенно длительное время, негативно

отражается на основных физиологических показателях дрожжей [1–3]. Это подтверждается и в контрольном варианте данной серии опытов (рис. 1). Однако минеральные добавки снижают отрицательное воздействие дефицитной по питательным веществам среды на дрожжевую популяцию. В опытных образцах с туфами в количестве 2–4 % к объему дрожжевой суспензии к третьим суткам хранения содержание клеток с гликогеном и почкующихся в среднем на 85 и 250 % соответственно больше по сравнению с контролем на этот же период времени (рис. 1а, б), в то время как количество нежизнеспособных особей снижается в 1,2 раза (рис. 1в).

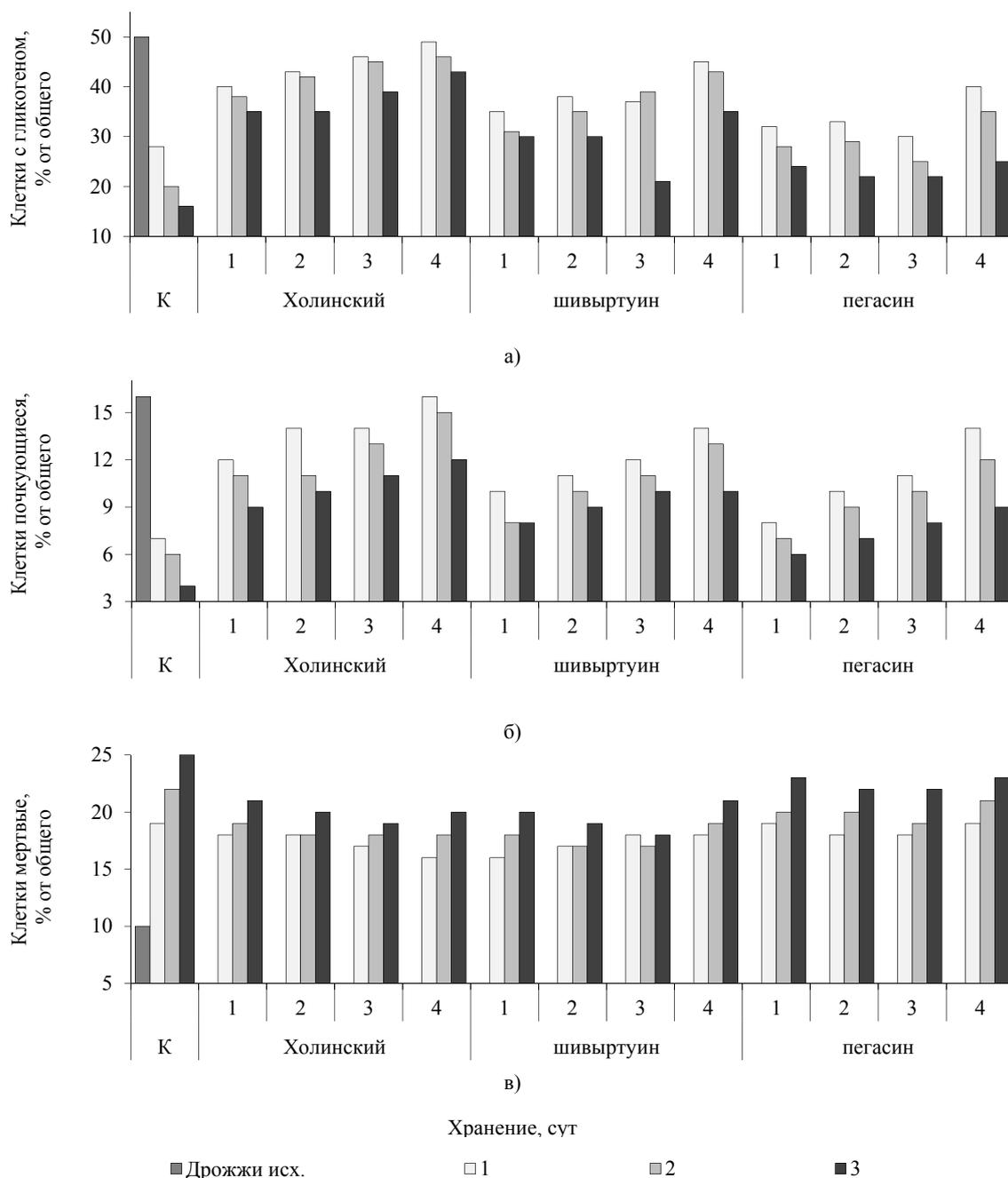
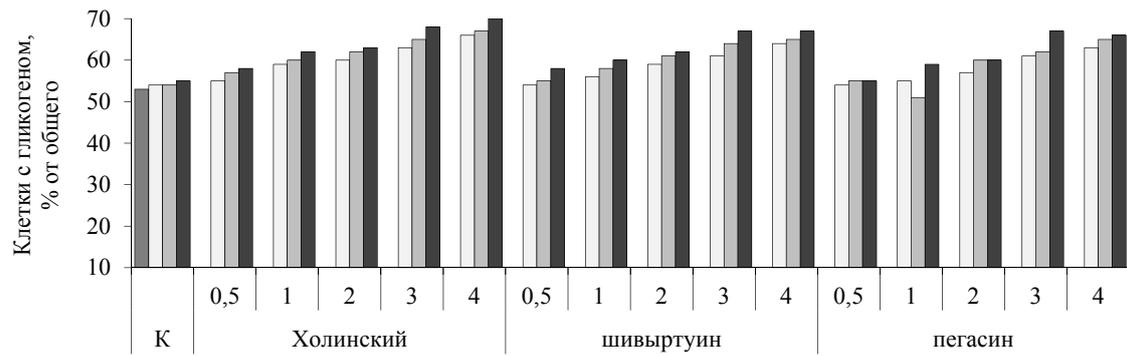
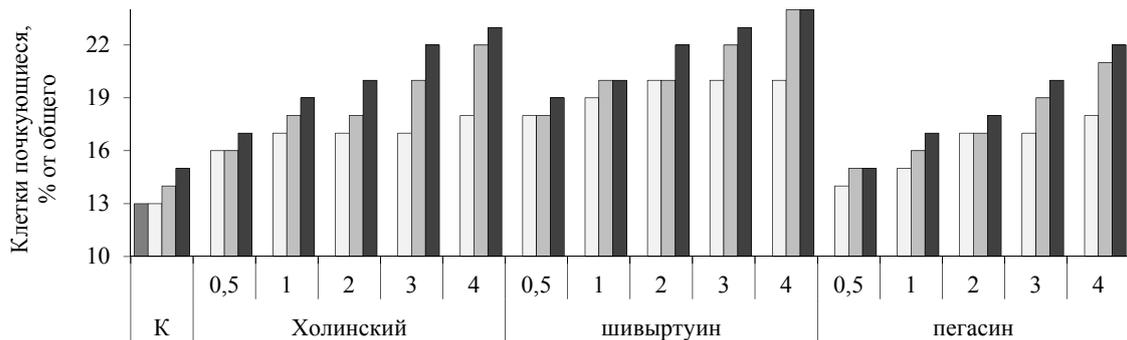


Рисунок 1 – Изменение количества а) клеток с гликогеном, б) почкующихся, в) мертвых при хранении дрожжей под слоем воды в присутствии природных минералов

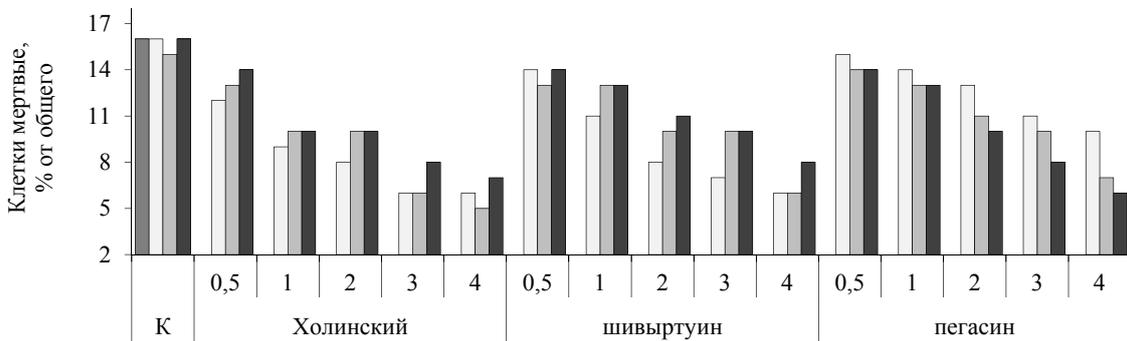
Figure 1 – Changes in the number of a) cells with glycogen, b) budding cells, в) dead cells when yeast was stored under the layer of water in the presence of natural minerals (K – control sample, numbers from 0.5 to 4 indicate the amount of mineral, % to the volume of suspension)



а)



б)



в)

Хранение, сут

■ Дрожжи исх. □ 1 ■ 2 ■ 3

Рисунок 2 – Изменение количества а) клеток с гликогеном, б) почкующихся, в) мертвых при хранении дрожжей в пивном сусле с цеолитами

Figure 2 – Changes in the number of a) cells with glycogen, b) budding cells, c) dead cells when yeast was stored in beer mash in the presence of zeolites (K – control sample, numbers from 0.5 to 4 indicate the amount of mineral, % to the volume of suspension)

Хранение дрожжей в пивном сусле с добавлением туфов повышает эффективность действия состава среды на качество культуры. Если в контроле содержание клеток с гликогеном к концу инкубации возросло незначительно (на 4 %) в сравнении с исходной величиной, то при внесении минералов прирост составил от 9 до 32 % (рис. 2а). К этому же моменту времени концентрация активно размножающихся клеток в контрольном образце увеличивается по отношению к первоначальному значению в

1,2 раза, а с использованием туфов – в 1,3–1,9 раза (рис. 2б). Количество мертвых клеток в опытных вариантах существенно снижается (на 19–63 %) (рис. 2в).

Изменения основных физиологических показателей дрожжей, инкубированных в молодом пиве с цеолитами, аналогичны предыдущей серии опытов (с сулом), но выражены в меньшей степени. Количество клеток с резервным углеводом возрастает на 15–38 % в сравнении с исходной величиной (в контроле на 8 %) (рис. 3а), почкующихся клеток –

на 15–30 %, однако в контроле происходит снижение этого показателя на 77 % (рис. 3б). Концентрация мертвых клеток при хранении биомассы в молодом пиве без ЦТ резко повышается (в 1,7 раза к исходному значению), но наличие минеральных добавок сглаживает этот процесс, и в опытных образцах прирост нежизнеспособных клеток составляет от 12 до 65 % (рис. 3в).

Независимо от среды суспендирования более значимые изменения в содержании клеток активно размножающихся, упитанных по гликогену, мертвых наблюдаются при использовании Холинского цеолита и шивыртуина в сравнении

с пегасином. Увеличение дозы минерала во всех вариантах существенно трансформирует анализируемые показатели дрожжей, особенно в диапазоне 2–4 % к объему суспензии. Поэтому дальнейшие исследования проводили в этом интервале дозировок цеолитов.

Флокуляция имеет огромное значение в технологии пивоварения, поскольку этот процесс способствует осветлению пива и созданию благоприятных условий для сбора дрожжей в конце главного брожения, а также протекания хода дображивания и последующего фильтрования готового напитка.

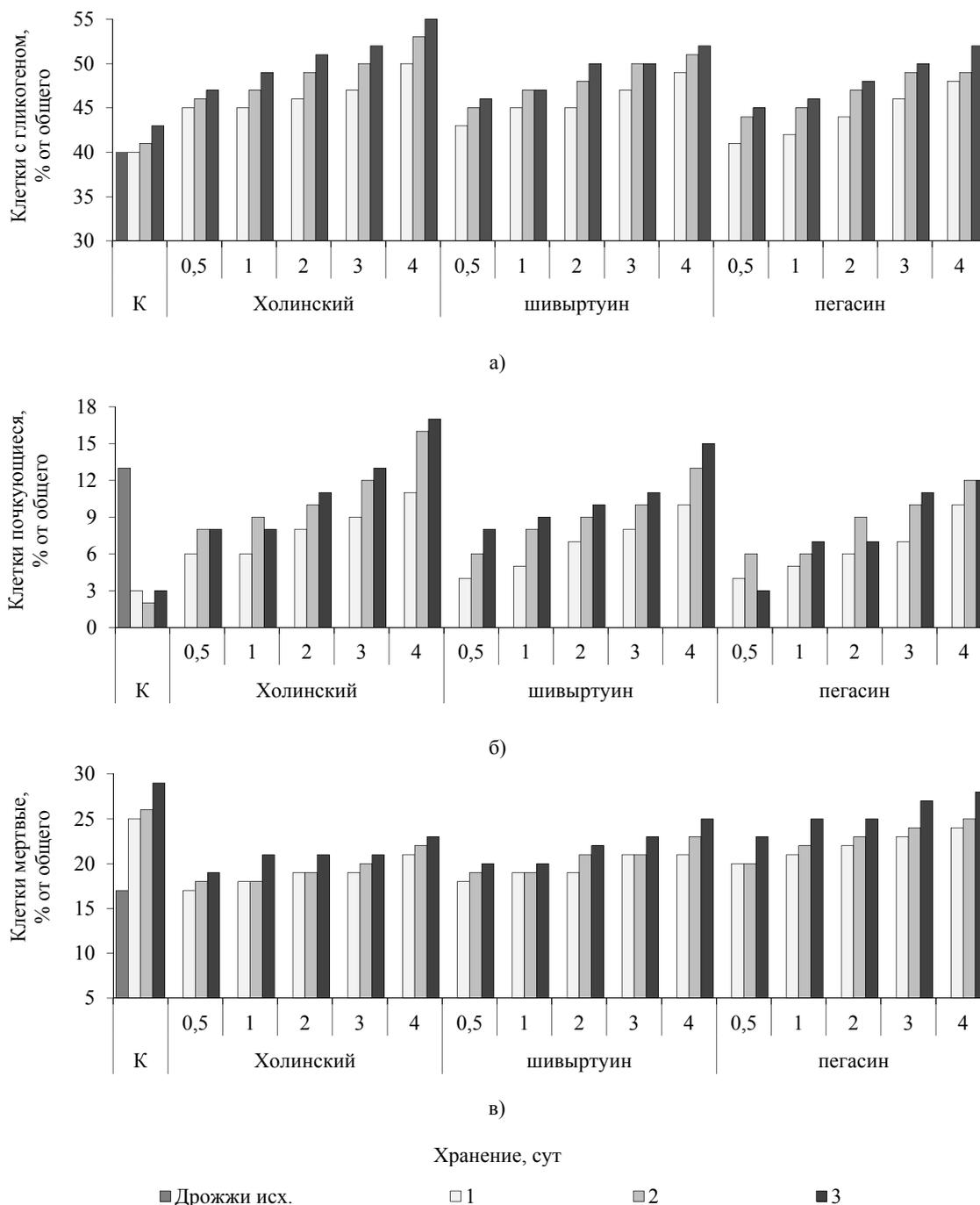


Рисунок 3 – Изменение количества а) клеток с гликогеном, б) почкующихся, в) мертвых при хранении дрожжей в молодом пиве с минералами (К – контроль, цифры от 0,5 до 4 – доза минерала, % к объему суспензии)

Figure 3 – Changes in the number of a) cells with glycogen, b) budding cells, c) dead cells when yeast was stored in schenk beer with minerals (K – control sample, numbers from 0.5 to 4 indicate the amount of mineral, % to the volume of suspension)

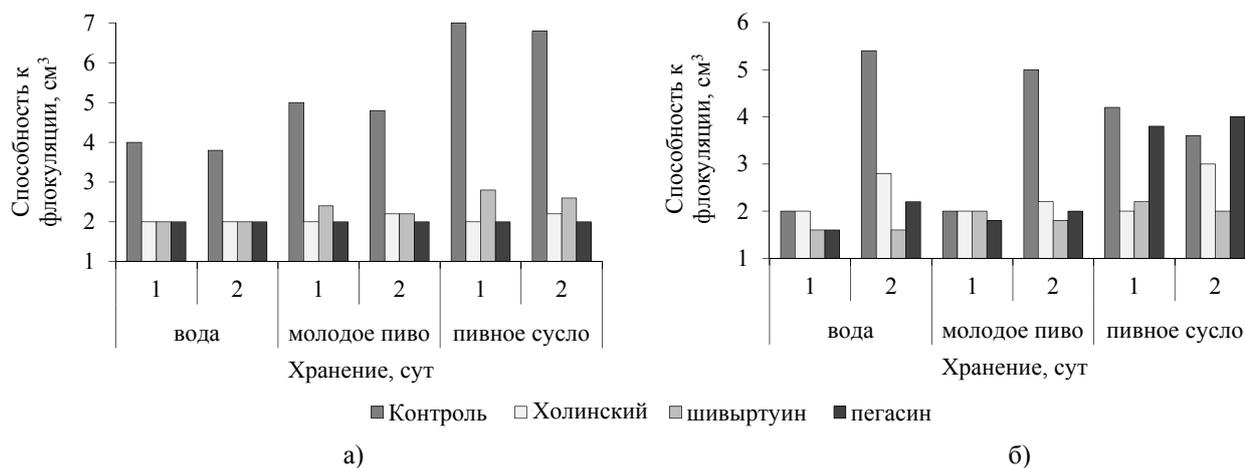


Рисунок 4 – Влияние минеральной добавки на флокуляционную способность дрожжей расы а) С34, б) 308 при хранении в разных средах

Figure 4 – Influence of the mineral additive on yeast flocculating power (yeast races а) С34, б) 308) during storage in different mediums

На способность дрожжей к флокуляции влияют внутренние и внешние факторы. К внутренним относится генетическая природа дрожжей. Однако флокуляционная способность культуры во многом определяется внешними факторами: составом среды ферментации, нормой введения семенных дрожжей, температурой главного брожения и дображивания, аэрацией и др. [1, 2, 4, 6].

Представляло интерес изучить влияние цеолитсодержащих туфов на флокуляционную способность дрожжевой культуры. Использовали дрожжи расы 308 третьей генерации и С34 шестой генерации. Минералы вносили в количестве 3 % к объему дрожжевой суспензии. Длительность инкубации составляла двое суток. После каждого суток отбирали пробы дрожжей на определение способности к оседанию. Дрожжи считаются хорошо флокулирующими при объеме образующегося за 10 мин осадка более 5 см³ [6].

Как видно из полученных данных (рис. 4), в процессе хранения флокуляционная способность клеток изменяется, что зависит от среды и длительности инкубирования, используемого минерала.

Внесение минеральных добавок в среду инкубации снижает флокуляцию клеток в сравнении с контролем, что наглядно видно на примере расы С34 (рис. 4а). В противовес этому полноценный состав среды приводит к улучшению флокуляционной способности, преимущественно в контрольном варианте дрожжей, хранившихся в пивном сусле. В последнем случае значение данного показателя для расы С34 в 1,8 раза, а для штамма 308 в 2,1 раза больше, чем при суспендировании биомассы в воде. В образцах с добавлением минералов этот эффект сглаживается, и увеличение составляет от 7 до 75 %.

Хранение в течение двух суток существенно изменяет способность к оседанию дрожжей контрольного образца, особенно расы 308, находящейся под слоем молодого пива или воды: флокуляция возрастает в 2,5 и 2,7 раза

соответственно по отношению к первым суткам (рис. 4б). В этом же варианте для расы С34 наблюдается обратный процесс – снижение флокуляции на 3–5 % в зависимости от среды инкубирования.

Агглютинация дрожжей ко вторым суткам выдержки с Холинским цеолитом и пегасином в сравнении с первыми в среднем на 33 и 18 % выше, но при инкубировании с шивиртуином уменьшается (на 9 %).

Наблюдаемые неоднозначные изменения способности дрожжей к оседанию в процессе их хранения могут по-разному отразиться на ходе дальнейшего технологического процесса и качестве готового пива [2, 4]. С одной стороны, существенное возрастание флокуляции клеток положительно влияет на осветление пива, с другой стороны, быстрое оседание дрожжей приведет к неполному сбраживанию экстракта сусла, ухудшению редукции диацетила.

Огромное влияние минеральный состав среды оказывает на ферментативную способность дрожжевой клетки. На примере дрожжей расы С34 третьей и четвертой генерации было изучено влияние минеральных добавок на активность некоторых ферментов дрожжей: мальтазы – катализатора подготовительной стадии гликолиза, зимазного комплекса – совокупности ферментов, осуществляющих спиртовое брожение. Доза минерала – 2 % к объему дрожжевой суспензии. В контрольном варианте инокулят выдерживали под слоем пивного сусла или молодого пива без цеолитов.

В процессе хранения дрожжевой культуры с туфами происходит возрастание активности исследуемых ферментов независимо от используемой среды (рис. 5).

Выдержка дрожжевой культуры в течение одних суток под слоем молодого пива/сусла с минералами способствует увеличению активности мальтазы в среднем на 25/27 % (рис. 5а), зимазного комплекса на 63/42 % (рис. 5б) по отношению к контролю.

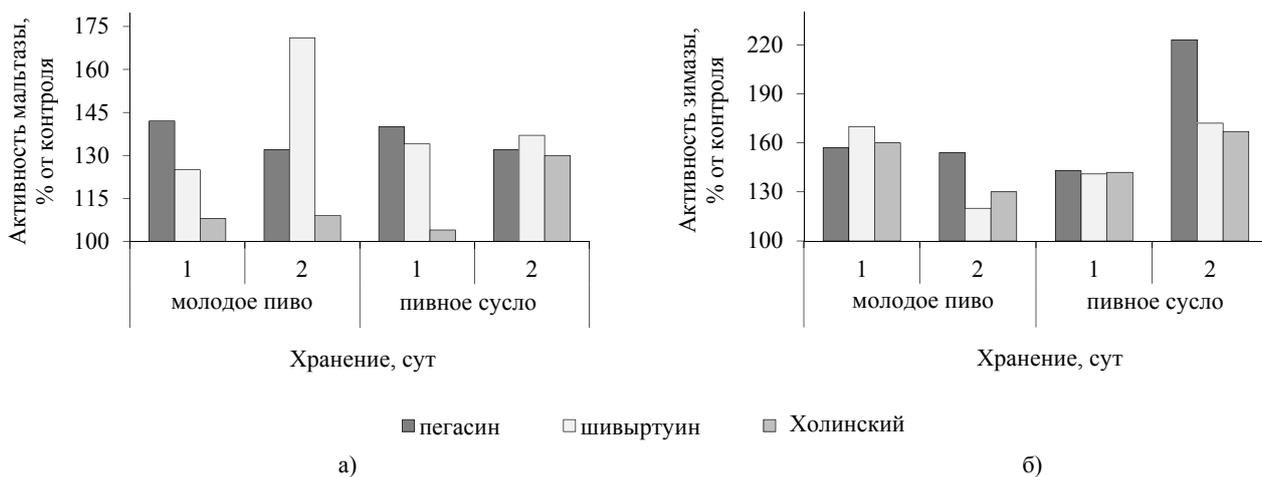


Рисунок 5 – Изменение а) мальтазной, б) зимазной активности дрожжей в присутствии цеолитов в среде инкубации
 Figure 5 – Changes in a) maltase, b) zymase activity of the yeast in the presence of zeolites in the incubation medium

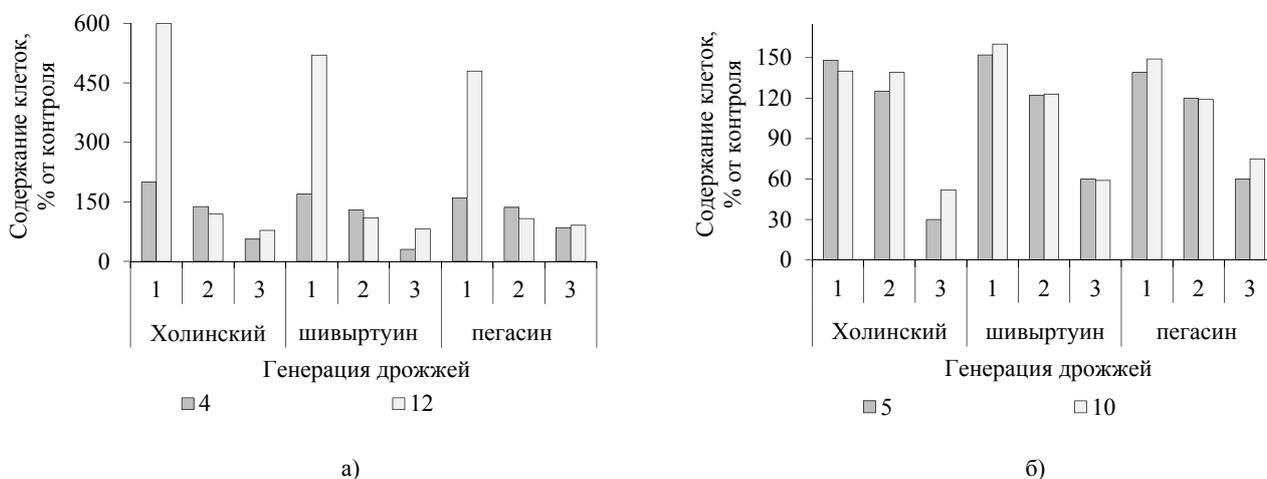


Рисунок 6 – Изменение количества клеток: 1 – почкующихся, 2 – с гликогеном, 3 – мертвых при хранении дрожжей в присутствии минералов в а) молодом пиве, б) пивном сусле в зависимости от генерации
 Figure 6 – Changes in the number of cells: 1 – budding cells, 2 – with glycogen, 3 – dead cells when yeast was stored in the presence of the minerals in a) schenk beer, b) beer mash depending on generation

Удлинение срока хранения дрожжей до двух суток приводит к дальнейшему росту активности ферментов по сравнению с контролем: мальтазы в среднем на 33 и 37 % при использовании соответственно сусле и молодого пива с минералами, зимазы – на 85 и 35 %.

Из исследуемых цеолитов большее влияние на ферментативную активность дрожжей оказывают Холинский туф и шивыртуин.

Известно, что свойства пивных дрожжей (бродильная активность, флокуляционная способность, физиологическое состояние и др.) подвержены изменениям в результате воздействия, причем одновременного, многих факторов: состава среды и способа ферментации и хранения, условий брожения, возраста культуры и т. п. Многократное использование дрожжей может привести к нестабильности качественных показателей культуры. Единого мнения о количестве циклов использования дрожжей в производстве нет. Если раньше на большинстве отечественных заводов при получении пива классическим способом

сбраживания сусле число используемых генераций дрожжей доходило до 15–20, иногда и больше, то в настоящее время при производстве продукта ускоренным методом в цилиндрикоконических аппаратах старше пятой генерации практически не применяют. Это связано с условиями проведения процесса в данном аппарате и негативном влиянии их на дрожжевую культуру [2, 16].

Была исследована восприимчивость дрожжей различных генераций к обработке природными минералами. Для этого сравнивали физиологические показатели дрожжей расы С34 четвертой и двенадцатой генераций, хранившихся в молодом пиве, и дрожжей пятой и десятой генераций, инкубированных в пивном сусле. Во всех случаях в среду были добавлены туфы в количестве 2 % к объему, результаты получены после двух суток хранения культуры.

Экспериментальные данные (рис. 6) свидетельствуют, что дрожжи, независимо от возраста, подвержены влиянию минеральной добавки при хранении, но в разной степени.

Большой эффект наблюдается в изменении физиологических характеристик во взрослой дрожжевой культуре (десятой и двенадцатой генерациях), чем в относительно молодой. При хранении дрожжей в молодом пиве с туфами различия значительно существеннее между генерациями, в то время как использование пивного сула эти отличия нивелирует. Воздействие Холинского минерала и шивыртуина на дрожжи разных генераций выражено заметнее по сравнению с пегасином.

Наблюдаемые изменения физиологических показателей культуры, ферментативной активности клеток, очевидно, связаны с химическим составом и свойствами используемых минералов. Кроме того, стимулирующее действие отдельных макро- и микроэлементов зависит от полноценности питательной среды, наличия в ней необходимых биологически активных веществ. Чем больше среда обеднена питательными компонентами, тем выше стимулирующий эффект добавок.

В природных минералах микро- и макроэлементы присутствуют в наиболее доступных формах для усвоения живым организмом.

Основная структурная составляющая цеолитсодержащих туфов – диоксид кремния [11]. Кремний – обязательный элемент животных и растительных тканей, жизненно необходим для нормального роста, развития живых существ, обеспечивает защитные функции и обменные процессы организма, особенно в метаболизме липидов [1, 17]. Присутствие кремния различных форм в среде культивирования способствует синтезу в клеточных мембранах липидов с ненасыщенными жирными радикалами [9], что улучшает текучесть мембран и массообмен между клеткой дрожжей и субстратом внешней среды.

Стимулирование процесса размножения дрожжей при внесении в среду инкубации природных цеолитов, возможно, связано также с более полным усвоением низкомолекулярных азотистых веществ. В работах по интенсификации метаболических процессов дрожжевой культуры с использованием барханного песка, геотермальной воды фенольного класса [7, 8] был отмечен рост активности клеточных ферментов, потребления макро- и микроэлементов, усиление липидного, азотного и углеводного обмена. Позитивный сдвиг физиологических и биохимических функций дрожжевой культуры аналогично отражается на процессах спиртового брожения и качестве готовой продукции.

Необходимо принять во внимание ионообменные свойства цеолитсодержащих туфов. В туфах Холинского и Шивыртуинского месторождений преобладающими обменными ионами являются калий и натрий, в пегасине – кальций [13, 14]. Указанные катионы будут участвовать в процессах обмена с ионами среды суспендирования дрожжей, влиять на активность биокатализаторов, синтез клеточной массы, способность к флокуляции [1, 17], что и нашло отражение в полученных результатах.

Существенная роль в окислительном фосфорилировании, процессах гликолиза и липидном обмене клетки отводится калию [18]. Данный макроэлемент выступает в роли активатора таких ферментов, как алкогольдегидрогеназа, альдолаза, пируваткарбоксилаза и др., стимулирует проникновение в клетку неорганического фосфора.

Натрий участвует в осуществлении «активного транспорта» веществ через клеточную мембрану, повышает бродильную активность дрожжей.

Основная функция ионов кальция – передача регуляторных сигналов, влияющих на клеточный метаболизм. Кроме того, кальций, наряду с активацией многочисленных биокатализаторов, стимулирует синтез белка, защищает клетку от стресса [1, 2, 19]. Нужно отметить роль ионов кальция в важнейшем процессе пивоварения – флокуляции дрожжевых клеток. Несмотря на существование разных точек зрения на механизм флокуляции [2, 6], доказано участие катионов кальция в процессе агрегации клеток, и никакие другие металлы не могут заменить его в этом плане. Агглютинация дрожжей происходит в результате образования ионных связей между ионами Ca^{2+} и карбоксильными и/или фосфатными группами на поверхности двух соседних клеток.

Исходя из этого можно предположить, что пегасин, основным обменным ионом которого является кальций, повышает способность дрожжей к агрегации при хранении. Холинский минерал и особенно шивыртуин из-за наличия в обменном комплексе в основном калия и натрия, в меньшей степени влияют на флокуляцию дрожжевых клеток. Необходимо отметить, что пегасин и Холинский туф содержат в качестве примеси магний и цинк [13, 14], также стимулирующие процесс агглютинации дрожжей, хотя их коагулирующая сила существенно ниже ионов кальция.

Таким образом, при выборе минеральной цеолитсодержащей добавки с точки зрения влияния на способность дрожжей к флокуляции необходимо обращать внимание на характеристики обменных ионов туфов.

Данный аспект можно рассмотреть и с иной точки зрения. Известно, что обработка инокулята на стадии его подготовки к сбраживанию среды кислотами, а также пропусканием через вибросито, за счет удаления с поверхности клеток осевших взвесей превращает флокулирующие дрожжи в нефлокулирующие [2, 4]. Использование для засева таких дрожжей позволяет сократить забраживание сула, улучшить процесс ферментации среды, ускорить восстановление диацетила. Поэтому в тех случаях, когда в процессе хранения или подготовки дрожжей к брожению сула происходит дефлокуляция клеток, возможно, это не всегда негативно будет отражаться на ходе технологических процессов.

В структуре цеолитов, а также в виде примеси находятся и другие катионы (магний, цинк, железо, марганец, медь и др.), которые могут переходить в среду хранения и оказывать влияние на дрожжи. Причем данный процесс тем значительнее, чем длительнее контакт с туфом и

выше его дозировка, что было показано нами в экспериментах по изучению катионного состава виноматериалов после обработки их указанными цеолитсодержащими минералами [12].

Магний – активатор практически всех важнейших ферментов брожения и дыхания. Отсутствие магния в среде обуславливает изменение клеточной проницаемости и торможение почкования клеток, что связано с трансформацией клеточной оболочки, замедлением синтеза белка [1, 17, 19]. Магний защищает клетки от температурного и осмотического стресса.

Марганец в качестве переносчика электронов участвует в окислительно-восстановительных реакциях, оказывает влияние на синтез витаминов, белков и некоторых незаменимых аминокислот, является неспецифическим активатором металлоферментных комплексов.

Медь также принимает участие в реакциях окисления-восстановления, повышает зимазную и в меньшей степени мальтазную активность, входит в состав многих оксидоредуктаз, может стимулировать размножение дрожжей, находясь в среде в незначительной концентрации [20].

Основные функции цинка связаны с углеводным, азотистым обменом, синтезом рибосом, ДНК, рибофлавина. В качестве кофермента цинк присутствует в ряде биокатализаторов. Цинк, наряду с марганцем и калием, стимулирует потребление мальтозы и мальтотриозы, активизирует α -глюкозидазу и зимазный комплекс дрожжевой клетки. Влияет на проницаемость мембран и их стабильность [1, 2, 20].

Одна из вероятных причин менее эффективного воздействия пегасина на биотехнологические и физиологические характеристики дрожжевой культуры – значительное содержание в минерале железа в сравнении с Холинским туфом и шивыртуином. Возможно, значительный переход в среду суспендирования ионов железа отрицательно влияет на дрожжевые

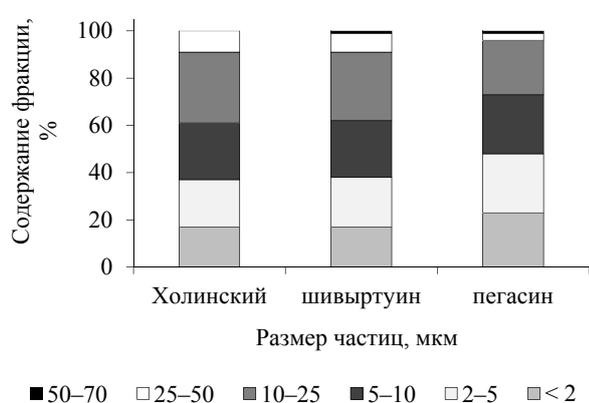
клетки. В то же время известно, что в отсутствие данного элемента дрожжи не растут, так как железо, наряду с цинком, медью, селеном, входит в состав многих металлоферментов, в частности антиоксидантных [1, 17].

Кроме того, пегасин характеризуется наличием таких микропримесей, как молибден, кобальт, олово, ванадий, которые в свою очередь при выходе в среду в результате ионного обмена могут оказывать токсичное действие на культуру.

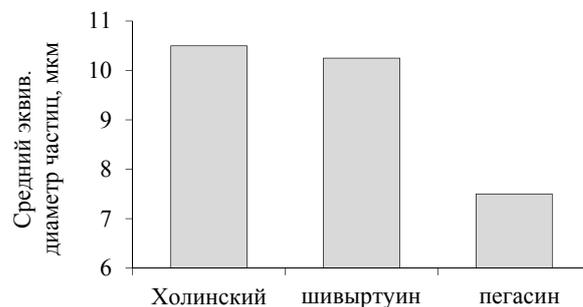
Как было отмечено ранее, эффективность и характер воздействия минерала-биотика на живой организм определяется не только его химическим составом, но и структурным строением. Чем больше в кристаллической решетке сравнительно крупных полостей, сообщающихся между собой сквозными каналами, что характерно для клиноптилолита, являющегося основным компонентом исследуемых туфов, или структура «подвижная», слоистая, как у монтмориллонита, тем выше ионообменные и сорбционные свойства минерала, сравнительно хорошая растворимость даже в слабых кислотах, относительно пониженная твердость.

Немаловажное значение играет и степень измельчения туфа. Даже на изломе минерала поверхность более активна за счет разорванных некомпенсированных структурных связей, чем в неповрежденных частях. Поэтому раздробленный минерал-биотик обладает большим биологическим действием [14].

Был проведен дисперсионный анализ цеолитовых порошков. Результаты показали (рис. 7), что в шивыртуине и Холинском минерале преобладали частицы с размером 10–25 мкм (соответственно, 29 и 30 % от общего содержания), а средний эквивалентный диаметр частиц в данной фракции составлял 10,25 и 10,50 мкм. В пегасине больше всего было фракций с мелкими частицами: менее 2 мкм (23 %), 2–5 мкм (25 %) и 5–10 мкм (25 %) со средним размером 7,50 мкм.



а)



б)

Рисунок 7 – Сравнительная характеристика минералов по: а) гранулометрическому составу, б) среднему эквивалентному диаметру частиц в преобладающей фракции

Figure 7 – Comparative characteristics of the minerals in relation to: a) particle size distribution, b) average equivalent diameter of the particles in the prevailing fraction

Исходя из этого можно предположить, что разная степень механического измельчения минералов так же, как и химический состав, способствует различному по эффективности воздействию исследуемых туфов на физиологические, ферментативные и технологические показатели дрожжевой культуры в процессе ее хранения.

Происходящие изменения с дрожжами в процессе инкубирования с природными минералами связаны, вероятно, не только с ионообменными, но и с адсорбционными свойствами цеолитов.

В работах [12–14] показана возможность использования цеолитсодержащих туфов разных месторождений как комплексообразователей и сорбентов для повышения микробиологической безопасности воды, безалкогольных напитков и пива, извлечения из жидких пищевых сред пестицидов, микотоксинов и нитрозаминов, тяжелых металлов и радиоактивных элементов. Природные минералы способствуют выведению из клетки и среды хранения/культивирования токсичных веществ экзогенного и эндогенного происхождения, выступающих в роли стрессовых факторов для дрожжевой культуры.

Все вышеуказанные свойства природных минералов необходимо принимать во внимание в случае оптимизации параметров применения туфов

для активации дрожжевой культуры и учитывать узкие интервалы перехода многих микро- и макроэлементов от стимулирования к торможению биосинтетических и ферментативных процессов клетки.

Таким образом, проведенные исследования позволяют говорить о возможности использования цеолитсодержащих туфов различных месторождений Сибири для предупреждения нежелательных изменений семенной культуры на этапе ее хранения до начала процесса ферментации. Внесение в инкубационную среду минералов улучшает физиолого-биохимические характеристики дрожжей, способствуя приросту клеток почкующихся в 1,2–2,5 раза, гликогенсодержащих – от 9 до 190 % в сравнении с исходным значением, повышению активности ферментов мальтазы и зимазы на 25–85 % по отношению к контролю и в зависимости от происхождения туфа, состава среды и длительности хранения. Трансформация физиологических характеристик дрожжей в присутствии цеолитов существенно проявляется для взрослой, чем молодой по возрасту культуры. Более эффективное действие на дрожжевую популяцию, особенно при суспендировании в дефицитных по питательным веществам средах (воде, молодом пиве), оказали Холинский цеолит и шивыртуин.

Список литературы

1. Annemuller, G. The yeast in the brewery / G. Annemuller, H.-J. Manger, P. Lietz. – Berlin : VLB Berlin, 2011. – 430 p.
2. Нарцисс Л. Краткий курс пивоварения / Л. Нарцисс, при уч. В. Бака ; пер. с нем. А. А. Куреленкова. – СПб. : Профессия, 2007. – 640 с.
3. Back, W. Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie / W. Back. – Hurnberg : Fachverlag Hans Carl, 2008. – 400 p.
4. Boulton, C. Brewing yeast and fermentation / C. Boulton, D. Quain. – Oxford : Blackwell Science, 2001. – 646 p.
5. Пермякова, Л. В. Классификация стимуляторов жизненной активности дрожжей / Л. В. Пермякова // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – Т. 42, № 3. – С. 46–55.
6. Меледина, Т. В. Сырье и вспомогательные материалы в пивоварении / Т. В. Меледина. – СПб. : Профессия, 2003. – 304 с.
7. Абрамов, Ш. А. Азотный обмен дрожжей рода *Saccharomyces* на кремнийсодержащих средах / Ш. А. Абрамов, О. К. Власова // Виноделие и виноградарство. – 2007. – № 4. – С. 16–17.
8. Халилова, Э. А. Некоторые особенности аминокислотного обмена в метаболизме дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-503 на питательной среде с геотермальной водой фенольного класса / Э. А. Халилова, Э. А. Исламмагомедова, С. Ц. Котенко // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2011. – № 2. – С. 9–12.
9. Поляков, И. В. Влияние химического состава дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на их физиолого-биохимическую активность / И. В. Поляков, В. Л. Лаврова, Ю. И. Шишков // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2007. – № 7. – С. 54–56.
10. Шишков, Ю. И. Регулирование метаболизма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Ю. И. Шишков // Индустрия напитков. – 2008. – № 2. – С. 52–55.
11. Handbook of Zeolite Science and Technology / S. M. Auerbach, K. A. Carrado, P. K. Dutta eds. – New York ; Basel : Marcel Dekker, Inc., 2003. – 1024 p.
12. Tzia, C. Zeolites in Food Processing Industries / C. Tzia, A. A. Zorpas // Handbook of Natural Zeolites; V. J. Inglezakis, A. A. Zorpas eds. – Bentham Science Publishers, 2012. – P. 601–651.
13. Хорунжина, С. И. Природные цеолиты в производстве напитков / С. И. Хорунжина, В. М. Позняковский. – Кемерово : Кузбассвузиздат, 1994. – 240 с.
14. Хатькова, А. Н. Перспективы модифицированных цеолитсодержащих пород основных месторождений Восточного Забайкалья / А. Н. Хатькова, К. К. Размахин // Вестник ЧитГАУ. – 2011. – № 3 (70). – С. 119–124.
15. Польшалина, Г. В. Определение активности ферментов / Г. В. Польшалина, В. С. Чередниченко, Л. В. Римарева. – М. : ДеЛи принт, 2003. – 375 с.
16. Thiele, E. Yeast quality distribution on cone of cylindro conical tanks / E. Thiele, A. Hartwing, W. Back. – Brewing Science. – June/Aug. 2008. – Vol. 61. – P. 148–161.
17. Коновалов, С. А. Биохимия дрожжей / С. А. Коновалов. – М. : Пищевая промышленность, 1980. – 271 с.
18. Key role for intracellular K^+ and protein kinases Sat4/Hal4 and Hal5 in the plasma membrane stabilization of yeast nutrient transporters / J. Perez-Valle [et al.] // Microbiology and Biotechnology. – 2007. – Vol. 27, № 16. – P. 5725–5736.

19. Magnesium, calcium and fermentative metabolism in industrial yeast / G. M. Walker [et al.] // Journal of the American Society of Brewing Chemists. – 1996. – Vol. 59. – P. 13–18.
20. Nweke, C. O. Effects of metals on dehydrogenase activity and glucose utilization by *Saccharomyces cerevisiae* / C. O. Nweke // Nigerian Journal of Biochemistry and Molecular Biology. – 2010. – Vol. 25, № 2. – P. 28–35.

References

1. Annemuller G., Manger H.-J., Lietz P. *The yeast in the brewery*. Berlin: VLB Berlin, 2011. 430 p.
2. Nartsiss L. *Kratkiy kurs pivovarenii* [A short course of brewing]. St. Petersburg: Professiya Publ., 2007. 640 p.
3. Back W. *Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie*. Hurnberg: Fachverlag Hans Carl, 2008. 400 p. (In German).
4. Boulton C., Quain D. *Brewing yeast and fermentation*. Oxford: Blackwell Science, 2001. 646 p.
5. Permyakova L.V. Klassifikatsiya stimulyatorov zhiznennoy aktivnosti drozhzhey [Classification of preparatiopns to promote yeast vital activity]. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv* [Food processing: Techniques and Technology], 2016, vol. 42, no. 3, pp. 46–55.
6. Meledina T.V. *Syr'e i vspomogatel'nye materialy v pivovarenii* [Raw materials and auxiliary materials in brewing: reference book]. St. Petersburg: Professiya Publ., 2003. 304 p.
7. Abramov Sh.A., Vlasova O.K. Azotnyy obmen drozhzhey roda *Saccharomyces* na kremniysoderzhashchikh sredakh [Nitrogen exchange of yeasts of the genus *Saccharomyces* on siliceous media]. *Vinodelie i vinogradarstvo* [Winemaking and viticulture], 2007, no. 4, pp. 16–17.
8. Khalilova E.A., Islammagomedova E.A., Kotenko S.Ts. Nekotorye osobennosti aminokislotnogo obmena v metabolizme drozhzhey *Saccharomyces cerevisiae* Y-503 na pitatel'noy srede s geotermal'noy vodoy fenol'nogo klassa [Some features of amino acid metabolism in the metabolism of yeast *Saccharomyces cerevisiae* Y-503 on nutrient medium with geothermal water of phenolic class]. *Proizvodstvo spirta i likerovodochnykh izdeliy* [Production of alcohol and alcoholic beverages], 2011, no. 2, pp. 9–12.
9. Polyakov I.V., Lavrova V.L., Shishkov Yu.I. Vliyaniye khimicheskogo sostava drozhzhey *Saccharomyces cerevisiae* na ikh fiziologo-biokhimicheskuyu aktivnost' [The effect of the chemical composition of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* on their physiological and biochemical activity]. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya* [Storage and processing of farm products], 2007, no. 7, pp. 54–56.
10. Shishkov Yu.I. Regulirovaniye metabolizma drozhzhey *Saccharomyces cerevisiae* [Regulation of the metabolism of yeast *Saccharomyces cerevisiae*]. *Industriya napitkov* [Beverage industry], 2008, no. 2, pp. 52–55.
11. Auerbach S.M., Carrado K.A., Dutta P.K. eds. *Handbook of Zeolite Science and Technology*. New York, Basel: Marcel Dekker, Inc., 2003. 1024 p.
12. Tzia C., Zorpas A.A. Zeolites in Food Processing Industries. *Handbook of Natural Zeolites*, ed. V.J. Inglezakis. Bentham Science Publishers, 2012, pp. 601–651.
13. Khorunzhina S.I., Poznyakovskiy V.M. *Prirodnye tseolity v proizvodstve napitkov* [Natural zeolites in the beverage industry]. Kemerovo: Kuzbassvuzizdat Publ., 1994. 240 p.
14. Khat'kova A.N., Razmakhin K.K. Perspektivy modifitsirovannykh tseolitsoderzhashchikh porod osnovnykh mestorozhdeniy Vostochnogo Zabaykal'ya [Zeolitecontain rocks base of east Zabaikalie and perspective directions of their application for ensure environmental security]. *Vestnik Chitinskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [The Bulletin of ChitGAU], 2011, no. 3(70), pp. 119–124.
15. Polygalina G.V., Cherednichenko V.S., Rimareva L.V. *Opredelenie aktivnosti fermentov* [Determination of enzyme activity]. Moscow: DeLi print Publ., 2003. 375 p.
16. Thiele E., Hartwing A., Back W. Yeast quality distribution on cone of cylindro conical tanks. *Brewing Science*, June/Aug, 2008, vol. 61, pp. 148–161.
17. Konovalov S.A. *Biokhimiya drozhzhey* [Biochemistry of yeast]. Moscow: Pishchevaya promyshlennost' Publ., 1980. 271 p.
18. Perez-Valle J., Jenkins H., Merchan S., et al. Key role for intracellular K⁺ and protein kinases Sat4/Hal4 and Hal5 in the plasma membrane stabilization of yeast nutrient transporters. *Microbiology and Biotechnology*, 2007, vol. 27, no. 16, pp. 5725–5736.
19. Walker G.M., Birch R.M., Chandrasena G., Maynard A.I. Magnesium, calcium and fermentative metabolism in industrial. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 1996, vol. 59, pp. 13–18.
20. Nweke C.O. Effects of metals on dehydrogenase activity and glucose utilization by *Saccharomyces cerevisiae*. *Nigerian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, vol. 25, no. 2, pp. 28–35.

Пермякова Лариса Викторовна

канд. техн. наук, доцент, доцент кафедры технологии броидильных производств и консервирования, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», 650000, Россия, г. Кемерово, ул. Красная, 6, тел.: +7 (3842) 39-68-55, e-mail: delf-5@yandex.ru

Larisa V. Permyakova

Cand.Sci.(Eng.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Technology of Fermentation Production and Conservation, Kemerovo State University, 6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russia, phone: +7 (3842) 39-68-55, e-mail: delf-5@yandex.ru

