

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЛОКУЛЯЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* VAR. *BOULARDII*

Неустроев А. К. (ИТМО), Маньшин Д. В. (ИТМО)

Научный руководитель - д.т.н., профессор, Меледина Т.В. (ИТМО)

Введение.

В последние годы дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* вызывают интерес научного сообщества в сфере пищевой биотехнологии [3], в частности для применения в качестве стартовой культуры в пивоварении [2], что обусловлено функциональными свойствами данной дрожжевой культуры такими как: повышение антиоксидантной активности, снижение концентрации этанола, более высокая жизнеспособность дрожжей, более быстрый рост в культуре [1]. Для успешного внедрения новых культур дрожжей в технологию пива и пивных напитков необходимо иметь представления о технологических свойствах, которыми они характеризуются: ферментативная, биосинтетическая и флокуляционная активность. На сегодняшний день ферментативная и биосинтетическая активность *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* при ферментации солодового сусла хорошо изучены, в то время как научно-исследовательские данные касательной флокуляционной активности – отсутствуют. По этой причине цель работы заключалась в исследовании флокуляционной активности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* в сравнении с пивоваренными дрожжевыми культурами верхового и низового брожения.

Основная часть.

В качестве объектов исследования выступали дрожжевые культуры: *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Y-3925 (коллекция ВКПМ, Россия), *Saccharomyces cerevisiae* W-68 и *Saccharomyces pastorianus* 34/70 (коллекция Hefebank Weihenstephan, Россия).

Флокуляционная активность дрожжей в исследовании определялась при помощи метода Хелма [4], суть которого заключается в измерение поглощающей способности суспензии дрожжей, предварительно очищенной от супернатанта и обработанной ЭДТА, а также суспензии дрожжей, полученной обработкой биомассы раствором сульфата кальция и буферным раствором (0,51 г CaSO_4 , 6,8 г CH_3COONa , 4,05 г CH_3COOH на 1 л воды). Измерения при этом проводятся с использованием фотометра КФК-3-«ЗОМЗ» при длине волны 600 нм. Затем на основе полученных значений рассчитывается значение флокуляционной активности. Также проводилось установление влияния факторов внешней среды (рН, концентрация этанола, температура) на флокуляционную активность *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Y-3925. Помимо этого, было проведено исследование на гидрофобность клеточной поверхности, которая может влиять на способность дрожжей к флокуляции. Для определения микроморфологических характеристик дрожжевых культур был использован микроскоп Axio Lab.A1 FL-LED.

Было установлено, что дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Y-3925, характеризуются чрезвычайно низкой флокуляционной активностью – $2,40 \pm 0,03$ % в сравнении с пивоваренными штаммами *Saccharomyces pastorianus* 34/70 и *Saccharomyces cerevisiae* W-68, для которых флокуляционная активность составляла $95,98 \pm 0,02$ % и $26,92 \pm 0,36$ %, соответственно. При этом у штамма с самой низкой флокуляционной активностью было выявлено самое низкое значение гидрофобности клеточной поверхности. Согласно результатам микроскопии, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Y-3925 не образуют флоккул на ранней и поздней стационарной стадии роста, в то время как размер флоккул контрольных штаммов *Saccharomyces pastorianus* 34/70 и *Saccharomyces cerevisiae* W-68 на ранней стационарной стадии роста составлял $58,94 \times 43,58$ мкм (в среднем 47 клеток) и $33,52 \times 23,05$ мкм (в среднем 11 клеток), соответственно. Полученные результаты позволяют охарактеризовать исследуемый штамм как слабифлокулирующий и отнести его к группе пылевидных дрожжей.

При изменении кислотности среды были значения флокуляционной активности варьировались: при рН 4,5 флокуляционная активность составила $2,40 \pm 0,03$ %, в более кислой

среде, при pH 3,5, она стала равна $4,04 \pm 0,07$ %, повышение значения pH до 5,5 к увеличению флокуляционной активности до $9,46 \pm 0,19$ %.

При рассмотрении влияния концентрации спирта на флокуляцию дрожжей штамма *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* было установлено, что при повышении концентрации спирта значение флокуляционной активности падает. Были исследованы концентрации 2,5 % об., 5,0 % об., 7,5 % об., при которых значения флокуляционной активности составили $12,11 \pm 0,14$ %, $5,59 \pm 0,05$ %, $2,11 \pm 0,05$ %, соответственно.

Было выявлено, что путем расхоложивания возможно интенсифицировать седиментацию, соизмеримую с пивными штаммами. Этот вывод был сделан на основании того, что значение флокуляционной активности охлажденных до 4°C дрожжевых суспензий по тесту Хелма значительно возросло в сравнении с исходными показателями. У *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Y-3925 разность в показателе флокуляционной активности составила 96,18 %, у *Saccharomyces pastorianus* 34/70 – 14,71 %, у *Saccharomyces cerevisiae* W-68 – 97,04%.

Выводы.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что флокуляционная активность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Y-3925 низкая, таким образом, их можно отнести к группе пылевидных дрожжей. Дрожжи, обладающим таким типом флокуляции также возможно использовать в пивоварении для производства нефiltroванных и неосветленных стилей пива, например, пшеничного.

Помимо этого, были рассмотрены факторы, которыми можно влиять на флокуляционную активность дрожжей, тем самым позволяя более точно воздействовать на процессы сбраживания.

Список использованных источников:

1. Capece, A., Romaniello, R., Pietrafesa, A., Siesto, G., Pietrafesa, R., Zambuto, M., & Romano, P. (2018). Use of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in co-fermentations with *S. cerevisiae* for the production of craft beers with potential healthy value-added. *International Journal of Food Microbiology*, 284, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.028>
2. Mulero-Cerezo, J., Briz-Redón, Á., & Serrano-Aroca, Á. (2019). *Saccharomyces cerevisiae* var. *Boulardii*: Valuable probiotic starter for craft beer production. *Applied Sciences* (Basel, Switzerland), 9(16), 3250. <https://doi.org/10.3390/app9163250>
3. Ryabtseva S.A., Sazanova S.N., Dubinina A.A. *Saccharomyces boulardii*, as a potential probiotic for innovative food. *Modern Science and Innovations*. 2019; (2):138-150. (In Russ.) <https://doi.org/10.33236/2307-910X-2019-2-26-138-150>
4. Technical Committe, A. (2011). Flocculation. In *ASBC Methods of Analysis*. American Society of Brewing Chemists. <https://doi.org/10.1094/ASBCMOA-Yeast-11>