

**Серба Елена Михайловна, д.б.н., доцент, проф. РАН,  
Оверченко Марина Борисовна, в.н.с., к.т.н.,  
Игнатова Надежда Иосифовна, н.с.,  
Римарева Любовь Вячеславовна, гл.н.с., д.т.н., академик РАН**  
ВНИИПБ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности  
пищи», г. Москва

**СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ  
*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ  
СБРАЖИВАНИЯ КОНЦЕНТРИРОВАННОГО ЗЕРНОВОГО СУСЛА<sup>6</sup>**

*Аннотация. Жизнедеятельность дрожжей определяется ростом, размножением, обменом веществ, адаптационными свойствами культуры и зависит от штамма дрожжей, питания и других внешних условий среды. При сбраживании концентрированного сусла клетки дрожжей испытывают стресс, что негативно сказывается на уровне синтеза этанола. В работе представлены результаты исследований термотолерантности, осмофильности и спиртоустойчивости дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* рас 985-Т и 1039. Установлено, что испытанные расы спиртовых дрожжей различаются по отношению к температуре брожения и концентрации питательной среды. Осмотермотолерантные дрожжи 985-Т выдерживают температуру брожения 35 °С при концентрации сусла 21 % РСВ. Дрожжи р. 1039 обладают повышенной осмофильностью, спиртоустойчивостью и сбраживают концентрированное сусло с образованием спирта в среде до 17 об.%.  
Ключевые слова: дрожжи, ферменты, зерновое сусло, брожение, осмос.*

**Serba Elena Mikhaylovna, Doctor of Biological Science, Docent, Professor of  
RAS,  
Overchenko Marina Borisovna, Leading Researcher, Candidate of Technical  
Science,  
Ignatova Nadezhda Iosifovna, Researcher  
Rimareva Lyubov Vyacheslavovna, Chief Researcher, Doctor of Technical  
Science, Academician of RAS**  
All-Russian Research Institute of Food Biotechnology – branch of V.M. Gorbатов  
Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Mos-  
cow, Russia

---

<sup>6</sup> Исследования проведены за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы Фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 г.г. (тема № 0529-2019-0066).

## COMPARATIVE STUDIES OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* YEAST STRAINS, PROMOSING FOR CONCENTRATED GRAIN WORT FERMENTATION

*Annotation.* Yeast vital activity is determined by growth, reproduction, metabolism, adaptive properties of culture and depends on yeast strain, nutrition, and other external environmental conditions. During concentrated wort fermentation, yeast cells are under stress, which negatively affects the ethanol synthesis level. The paper presents studies results of thermotolerance, osmophilicity and alcohol resistance of *Saccharomyces cerevisiae* yeast races 985-T and 1039. Established that tested races of alcoholic yeasts differ in relation to the fermentation temperature and the nutrient medium concentration. Osmothermotolerant yeast 985-T withstands fermentation temperature of 35 °C with wort concentration of 21% of soluble solids (SS). Yeast race 1039 have increased osmophilicity, alcohol resistance and ferment concentrated wort with alcohol formation in environment up to 17% by vol.

*Key words:* yeast, enzymes, grain wort, fermentation, osmosis.

Введение. Технология пищевого спирта-ректификата основана на биотехнологических методах конверсии зернового сырья в этанол с использованием биокатализаторов и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Ранее для приготовления зернового сусла применяли ферменты солода, а сбраживание полученного сусла осуществляли дрожжами р.ХII, при этом концентрация спирта в бражке составляла не более 8% [1]. В существующем промышленном производстве спирта в качестве биокатализаторов используют ферменты микробного происхождения, а сбраживаемое зерновое сусло содержит, в основном, 18-22% растворимых сухих веществ (РСВ), при этом концентрация спирта в бражке повысилась до 10-12% [2]. Использование зернового сусла с более высокой концентрацией (28-30%) позволяет увеличить содержание этанола в бражке до 15% и существенно сократить объем образования барды [3]. Для эффективного сбраживания такого сусла в ресурсосберегающей технологии необходимы дрожжи, обладающие осмофильными свойствами, и обеспечивающие высокую степень конверсии углеводов в этанол. Применение дрожжевых клеток, толерантных к основному продукту их жизнедеятельности, одна из возможностей интенсифицировать биохимические процессы спиртового брожения.

Используемые в производстве спирта промышленные расы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* различаются по отношению к температуре и осмосу. Достаточно широко известная раса 985-T обладает способностью сбраживать концентрированное зерновое сусло и устойчива к повышенным температурам (до 37°C); селекционированная во ВНИИПБТ раса дрожжей 1039 также является осмофильной [4].

Поэтому целью данной работы являлось проведение сравнительных исследований двух перспективных штаммов дрожжей *S. cerevisiae* по отношению к температуре и эффективности сбраживания концентрированного зернового сусла.

Материалы и методы исследований. Объектами исследований служили промышленный штамм спиртовых дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 985-T как

осмотермотолерантный и селекционированный осмофильный штамм *S. cerevisiae* 1039, полученный методами селекции и мутагенеза [4, 5].

Сравнительные исследования физиологической активности дрожжей осуществляли методом постановки бродильных проб [6]. Для биокаталитической конверсии полимеров зернового сырья при приготовлении суслу использовали комплексные ферментные препараты (ФП). Подготовку зернового сырья осуществляли по «мягкой» механико-ферментативной схеме при температуре до 90-95°C и гидромодуле 1:3,0 и 1:1,8 [2]. Концентрацию суслу, дрожжей, общих и редуцирующих углеводов, спирта определяли согласно инструкции технохимического и микробиологического контроля спиртового производства [6]. Динамическую вязкость зернового суслу оценивали методом вибрационной вискозиметрии с использованием синусоидального вибровискозиметра серии SV-10 и программного обеспечения RsVisco. Определение концентрации аминного азота в подготовленном для сбраживания сусле осуществляли медным способом [7].

Результаты работы и их обсуждение. Известно, что дрожжевые клетки практически не синтезируют внеклеточные ферменты, поэтому биокатализ распада высокомолекулярных соединений питательной среды: крахмала, белков, гемицеллюлоз, липидов, происходит без их участия. Для жизнедеятельности дрожжей необходимы простые соединения (гексозы, пентозы, аминокислоты, фосфаты, глицерин и др.), которые, проникая в цитоплазму, участвуют в процессах метаболизма [1,5]. Поэтому для приготовления зернового суслу использовали ФП, содержащие энзимы с различной субстратной специфичностью, обладающие амилолитической, гемицеллюлазной, фитолизической и протеолитической способностью [8-10].

Результаты исследований биохимического состава концентрированного зернового суслу, приготовленного из зерна пшеницы, подтвердили существенную роль субстратной специфичности ферментов в формировании качественных показателей суслу. Ферментативные системы, используемые при подготовке зернового сырья к сбраживанию, по-разному влияли на реологические свойства суслу, а также на процессы генерации дрожжей и брожения. Гемицеллюлазы совместно с протеазами оказывали наиболее существенное влияние на реологические свойства пшеничного суслу, вязкость которого снижалась более чем в 3 раза (с 385 мПа·с до 115 мПа·с в 30%-ном пшеничном сусле). Существенную роль в процессах генерации дрожжей играли протеазы и фитаза, катализирующие глубокий гидролиз белковых веществ и фитатов, тем самым обеспечивая дрожжевые клетки необходимым азотистым и фосфорным питанием (табл.1). Концентрация ассимилируемых дрожжами азотистых веществ и фосфатов в 30%-ном пшеничном сусле возросла в 2 раза (аминного азота - с 29,8 до 61,8 мг%; ионов фосфора – с 923,6 до 1895,1 мг/дм<sup>3</sup>).

При выращивании дрожжей на средах, не обработанных ферментами протеолитического и фитолизического действия, снижалась концентрация клеток, в т.ч. почкующихся и повышалось количество мертвых клеток (табл.1). Наиболее резко эта тенденция проявлялась на средах с более высокой концентрацией растворимых сухих веществ (РСВ), особенно при генерации дрожжей р.985-Т. Повышенный осмос суслу оказывал неблагоприятное воздействие на развитие этой

расы дрожжей: снижался процент почкующихся клеток, повышалось количество мертвых клеток. В то же время высокая концентрация сусла практически не влияла на физиологическую активность селекционированной расы 1039. Дрожжи *S. cerevisiae* р. 1039 проявили более высокие осмофильные свойства (табл.1, рис. 1).

Таблица 1 – Сравнительная характеристика дрожжей *S. cerevisiae* р.р. 985-Т и 1039, выращенных на средах, обработанных ферментами протеолитического и фитолитического действия

Показатели	985-Т				1039			
	Комплекс без ПС и ФС		Комплекс с ПС и ФС		Комплекс без ПС и ФС		Комплекс с ПС и ФС	
	21% РСВ	30% РСВ	21% РСВ	30% РСВ	21% РСВ	30% РСВ	21% РСВ	30% РСВ
Концентрация клеток, млн/см <sup>3</sup>	61	27	80	81	141	75	166	235
Почкующиеся клетки, %	8	3	8	9	9	7	1	9
Мертвые клетки, %	2	9	2	19	11	21	0	3

Температура генерации дрожжей по-разному сказывалась на росте и развитии дрожжевых клеток (рис.1). Раса дрожжей 985-Т проявляла термотолерантные свойства, особенно при сбраживании сусла с концентрацией РСВ 21%. Оптимальной температурой для развития р. 1039 является 30°C. Повышение температуры до 35°C замедляло развитие дрожжей р. 1039, особенно на высококонцентрированном сусле (30%), их концентрация в среде уменьшалась при этом в 3 раза.

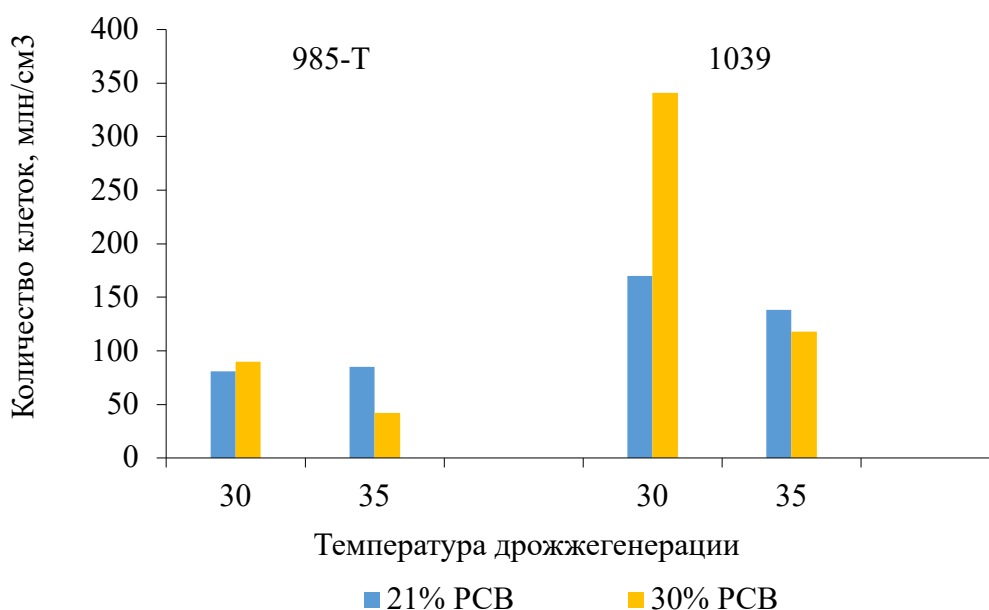


Рисунок 1 – Влияние температуры на концентрацию дрожжевых клеток *S. cerevisiae* р.р. 985-Т и 1039

Исследования по устойчивости дрожжей расы 985-Т и 1039 к повышенным концентрациям спирта и осмосу показали, что раса 985-Т устойчива к концентрациям спирта до 15%, а раса 1039 – до 17% (рис.2).

Эти данные были подтверждены при сбраживании зернового сусла с концентрацией 20% РСВ с введением в бражку дополнительного количества спирта на 24 часа брожения в количестве 5 и 7 об.% (рис. 2). Добавление спирта в количестве 5 об.% в суточную бражку не оказало негативного влияния на развитие дрожжей р.р. 985-Т и 1039. Они полностью сбродили сусло с концентрацией РСВ 20% и общая концентрация спирта к концу брожения составила 14,8 и 15,2 об.% соответственно. В то же время при сбраживании расой 985-Т добавление 7 об.% спирта в бражку действовало угнетающе на дрожжевую культуру: снижалась бродильная активность дрожжей, повышалась концентрация мертвых клеток (до 26%), общая концентрация спирта к концу брожения составила лишь 14,1 об.%. При этом раса 1039 полностью сбродила сусло, общая концентрация спирта составила 16,8 об.%.

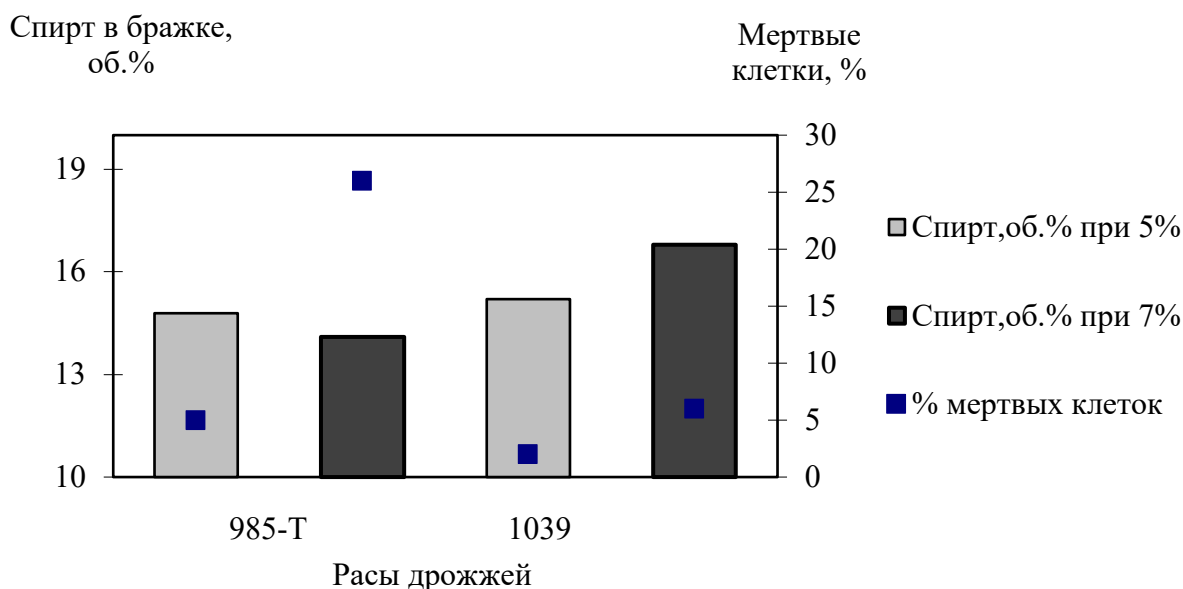


Рисунок 2 – Спиртоустойчивость осмофильных рас дрожжей

Использование дрожжей расы 1039 при сбраживании концентрированного сусла (21 и 30% РСВ) при 30°C обеспечивало нормативные показатели брожения с образованием спирта 11,4 и 15,9 об.% соответственно, при этом его выход составил 68,0 см<sup>3</sup>/100 г крахмала (табл.2).

Показатели бражки, полученной с использованием дрожжей р. 985-Т, несколько отличались: концентрация спирта при сбраживании 30%-ного сусла составила 14,6 об.%, выход спирта – 61,8 см<sup>3</sup>/100 г крахмала. При этом повышение температуры до 35 °С не оказывало негативного влияния на выход спирта при сбраживании 21%-ного сусла.

Таблица 2 – Показатели сбраживания зернового суслу дрожжами *S. Cerevisiae* p.p. 985-Т и 1039 в различных условиях

Сусло, % РСВ	Раса дрожжей	Т брожения, °С	Показатели брожения			
			РВ, г/100 см <sup>3</sup>	ОРВ г/100 см <sup>3</sup>	Конц. спирта, % об.	Выход спирта, см <sup>3</sup> /100 г крахмала
21,0	985	30	0,38	0,47	11,3	68,1
		35	0,38	0,48	11,2	68,2
	1039	30	0,37	0,66	11,4	68,1
		35	0,41	0,55	11,4	68,0
30,0	1039	30	1,25	1,30	15,9	68,0
		35	6,3	6,6	11,9	51,0
	985	30	3,2	3,5	14,6	61,8
		35	8,8	9,0	10,5	45,6

Закключение. В результате исследований установлено, что испытанные расы спиртовых дрожжей различаются по отношению к температуре брожения и концентрации питательной среды. Осмотермотолерантные дрожжи 985-Т выдерживают температуру брожения 35 °С при концентрации суслу 21 % РСВ. Дрожжи p. 1039 обладают повышенной осмофильностью и спиртоустойчивостью, сбраживая высококонцентрированное сусло при 30 °С с образованием спирта в среде до 17 об.%.

Рациональных выбор расы дрожжей, соответствующей производственным условиям спиртового завода, и использование ферментов, субстратная специфичность которых обеспечивает глубокую конверсию полимеров зернового сырья, позволит:

- повысить эффективность производства в результате переработки зернового суслу с концентрацией РСВ более 20%;
- улучшить качественные показатели зернового суслу;
- сократить производственные отходы в виде после спиртовой барды;
- интенсифицировать технологический процесс сбраживания концентрированного зернового суслу.

#### Список литературы

1. Яровенко В.Л., Маринченко В.А., Смирнов В.А. Технология спирта. Под ред. проф. В. Л. Яровенко. М.: Колос-Пресс. 2002. 465 с.
2. Туршатов М.В., Леденев В.П., Кононенко В.В., Моисеева Н.Д., Кривченко В.А., Корженко Л.Г. Современная технология производства спирта// Производство спирта и ликероводочных изделий. 2011. № 1. С. 28-29.
3. Римарева Л.В. и др. Особенности селекционированных рас спиртовых дрожжей с осмофильными и термотолерантными свойствами // Хранение и переработка сельхозсырья. 2016. № 10. С. 29-34.
4. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Серба Е.М. Осмофильный штамм спиртовых дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 1039 для сбраживания

концентрированного зернового сусла // Производство спирта и ликероводочных изделий. 2012. № 3. С. 8-11.

5. Серба Е.М., Оверченко М.Б., Римарева Л.В. Биотехнологические основы микробной конверсии концентрированного зернового сусла в этанол // Монография ISBN 9785-9500501-6-9.) М.: «БИБЛИОГЛБУС». 2017. 120 с.

6. Поляков В.А., Абрамова И.М., Польшалина Г.В., Римарева Л.В., Корчагина Г.Т., Пискарева Е.Н. Инструкция по технохимическому и микробиологическому контролю спиртового производства. Москва: ДеЛипринт. 2007. 480 с.

7. ОФС.1.2.3.0022.15 Определение аминного азота методами формольного и йодометрического титрования.

8. Серба Е.М., Абрамова И.М., Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Грунин Е.А. Влияние ферментных препаратов на технологические показатели зернового сусла и качество спирта // Пиво и напитки. 2018. № 1. С. 50-54. DOI: 10.24411/2072-9650-2018-00002

9. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Кривова А.Ю., Погорельская Н.С., Серба Е.М. Генерация спиртовых дрожжей на средах, приготовленных из зерновых культур с различным содержанием фитата // Пищевая промышленность. 2019. № 4. С. 83-85. DOI: 10.24411/0235-2486-2019-10042.

10. Римарева Л.В. и др. Исследование ферментов фитолитического действия на показатели зернового сусла и процесс спиртового брожения // Сб. трудов «Актуальные вопросы индустрии напитков», ВНИИПБиВП. 2018. № 2. С. 136-140. DOI: 10.21323/978-5-6041190-3-7-2018-2-136-140.