

УДК 663.12

Глицерин – антистрессовый метаболит дрожжей *S.cerevisiae*

А.Т. ДЕДЕГКАЕВ, Д. АФОНИН,
ОАО «Пивоваренная компания «Балтика»
Т. В. МЕЛЕДИНА, С.А. ЧЕРЕПАНОВ

Санкт-Петербургский государственный университет низкотемпературных и пищевых технологий

As a result of the investigation of metabolism of glycerol in the strains of beer yeast differing in their resistance to osmosis, it was established that the contents of glycerol in the beer depended both upon the density of the wort, and on the peculiar features of the yeast strains: thus, in the strains resistant to osmosis, the increase in the mass share of solids from 11 to 17 % leads to the increase of the contents of glycerol in the medium by 1,5 – 1,6 times, while in the yeast sensible to osmosis – by 2,4 times. These results confirm the conclusion about resistance to osmosis of the strains 95, 34 and 129.

Пивоварение является наиболее динамично развивающейся отраслью пищевой промышленности. Применение современных технологий и высокоеэффективного оборудования позволило значительно увеличить производство этого напитка.

Одновременно расширяется ассортимент пива, определенную долю в котором занимают сорта с высокой массовой долей сухих веществ (более 13 %). Кроме того, в современном пивоварении широко используют технологию высокоплотного пивоварения, суть которой заключается в том, что сусло с высокой экстрактивностью разбавляют стерильной деаэрированной водой до желаемого содержания массовой доли сухих веществ до или после брожения. Этот процесс привлекает все большее внимание со стороны специалистов, поскольку применение высокоплотного пивоварения позволяет повысить экономическую эффективность предприятия.

При сбраживании плотного сусла возникает ряд проблем, связанных с изменением активности дрожжевых клеток в результате повышения осмотического давления среды.

Осмотическое давление возникает из-за стремления воды проникнуть через полупроницаемую мембрану в сторону более концентрированного из двух разделенных этой мембраной растворов. Это давление прямо пропорционально концентрации молекул, которые не могут пройти через мембрану. В зависимости от природы микроорганизмов осмотическое давление содеримого клеток равно осмотическому давлению раствора сахара с массовой долей сухих веществ 10 – 20 %.

В дрожжевой клетке роль осмотического барьера выполняет цитоплазматическая мембрана, которая в отличие от клеточной стенки проницаема для низкомолекулярных соединений. Обычно концентрация осмотически активных веществ внутри клетки выше, чем в окружающей среде. Когда концентрация среды очень низка, клетка испытывает гипоосмотический стресс и стремится впитать воду. В плотной среде проявляется гиперосмотический стресс – клетка теряет воду, протопласт сморщивается и цитоплазматическая мембрана отделяется от клеточной стенки, т.е. происходит процесс, называемый плазмолизом. В результате клетки, помещенные в плотную среду, не способны перейти к ак-

тивной жизнедеятельности. В частности, увеличивается длительность лаг-фазы, снижается интенсивность размножения дрожжей, а следовательно, увеличивается синтез побочных продуктов брожения и соответственно сенсорный профиль пива. Степень стресса зависит от плотности сусла и типа сахаров, а также от штаммовых особенностей дрожжей и их физиологического состояния.

Оценка осмоустойчивости дрожжей по величине константы скорости деления клеток. Так как реакция дрожжей на тоничность среды определяется их генетическими особенностями, исследовали интенсивность размножения дрожжей в сусле с массовой долей сухих веществ 15 %, выше которой разбавление пива деаэрированной водой не рекомендуется.

Сбраживание сусла проводили при температуре 10 ± 1 °C. Начальная концентрация дрожжей в аппарате составляла 20 ± 2 млн клеток/мл. Ежесуточно определяли концентрацию клеток и рассчитывали по (1) и (2) константу скорости деления клеток (v , ч⁻¹), по величине которой судили о влиянии осмотического давления на дрожжи разных штаммов.

$$n = (\lg N - \lg N_0)/\lg 2; \quad (1)$$

$$v = n/\tau, \quad (2)$$

где N – концентрация клеток в конце процесса;

N_0 – концентрация клеток в начале процесса;

τ – длительность процесса брожения, ч.

На рис. 1 приведены данные об интенсивности размножения различных штаммов дрожжей до достижения максимальной концентрации в бродящем сусле. Интенсивность размножения дрожжей штаммов 1-го поколения намного превышает таковую для штамма 776. На основании этого изученные штаммы пивных дрожжей низового брожения можно разделить на две группы: осмоустойчивые – 34, 95, 129 и чувствительный к осмотическому стрессу – 776. Для подтверждения данного вывода был изучен метabolizm глицерина, который синтезируется в первые часы культивирования дрожжей.

Метabolizm глицерина у дрожжей, характеризующихся разной осмоустойчивостью. Известно, что для преодоления гиперосмотического стресса необходим оп-

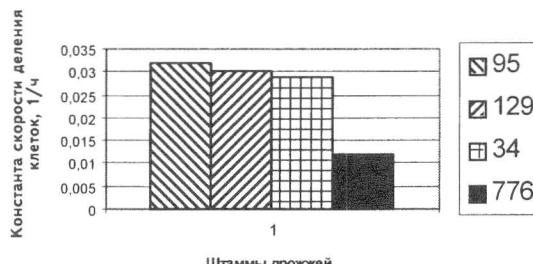


Рис. 1. Константа скорости деления клеток при сбраживании сусла с массовой долей сухих веществ 15 %

ределенный адаптационный период. В это время существенно возрастает синтез глицерол-3-фосфатдегидрогеназы [3], что приводит к увеличению внутриклеточной концентрации глицерина. В обычных условиях глицерин может проникнуть через цитоплазматическую мембрану, но при гиперосмотическом стрессе поры, через которые он выходит, закрываются и глицерин в период лаг-фазы не выделяется в среду. В процессе брожения стресс снимается и внутриклеточная концентрация глицерина уменьшается.

С синтезом глицерина тесно связан метаболизм побочных продуктов брожения, так как каждый раз, когда происходит образование одной молекулы глицерина, одна молекула пирувата (или ацетальдегида) накапливается в клетке и не превращается в этиловый спирт (или молочную кислоту), а идет далее на образование многих вторичных метаболитов. Таким образом, процессы глицерино-пищевиноградного и спиртового брожения тесно связаны между собой.

Метаболизм глицерина хорошо изучен для винных дрожжей. Установлено, что при сбраживании виноградного сусла около 8 % молекул сахара идет на глицерино-пищевиноградное брожение, а 92 % – на спиртовое [2]. Но при этом не учитывается тот факт, что синтез глицерина увеличивается при культивировании дрожжей в средах с повышенным осмотическим давлением.

Сведений о синтезе глицерина различными штаммами пивных дрожжей, применяемых в настоящее время в отечественном пивоварении, не обнаружено, как и данных о характере изменения метаболизма глицерина у этих дрожжей при повышении плотности сусла. Между тем эти знания необходимы при высокоплотном пивоварении, когда для сохранения сенсорного профиля пива предпочтительнее использовать дрожжи, образующие меньше глицерина, а следовательно, и меньше побочных продуктов брожения.

В связи с этим были проведены исследования содержания глицерина при сбраживании сусла разной плотности.



Рис. 2. Синтез глицерина штаммами дрожжей в средах с различным содержанием сухих веществ

Конечная степень сбраживания (КСС) и содержание сенсорноважных компонентов в пиве с массовой долей сухих веществ 11 % [1]

Показатель	Штамм 34	Штамм 129	Штамм 145	Штамм 776
КСС пива, %	81,4	79,8	79,4	71,7
Компонент	Содержание компонентов, мг/л			
Ацетальдегид	–	7,05	13,8	–
Этилацетат	17,7	12,5	9,0	–
п-Пропанол	18,9	19,1	11,8	7,9
Изоамиловый спирт	41,0	40,3	44,5	41,5
2,3-Пентодион	0,09	0,07	0,10	–
Диацетил	0,07	0,09	0,28	–

Примечание. "–" – нет сведений.

В опытах было использовано несколько штаммов дрожжей, отличающихся по синтезу сенсорноважных компонентов и бродильной активности (см. таблицу). Штамм 776 можно отнести к штаммам 1-го поколения, которые широко использовали до 1990 г., а штаммы 34, 95 и 129 – ко 2-му поколению (последние три штамма широко используют в настоящее время в пивоваренной отрасли).

Концентрацию глицерина в пиве определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с рефрактометрическим детектором путем прямого ввода разбавленной и отфильтрованной пробы в хроматографическую колонку. Пробы пива помещают в автодозатор. Идентификация компонентов смеси осуществляется программой по времени удерживания, зафиксированному для этих компонентов при градуировке прибора. Концентрацию компонента в пробах измеряют с помощью программы обработки результата.

Из полученных данных (рис. 2) следует, что синтез глицерина увеличивается с повышением массовой доли сухих веществ, причем для штаммов нового поколения (34, 95 и 129) содержание глицерина в пиве при увеличении содержания сухих веществ в сусле с 11 до 18 мас.% возрастает примерно в 1,5 раза, в то время как для штамма 776 (1-е поколение) – в 2,4 раза.

По приведенным на рис. 1 и 2 данным можно сделать заключение, что большей осмоустойчивостью обладают дрожжи 34, 95 и 129 штаммов. Эти культуры также метаболизировали меньше глицерина по сравнению с осмоустойчивым штаммом 776. Таким образом, подтверждается антестрессовая значимость биосинтеза глицерина у гиперчувствительных дрожжей.

Список литературы

- Меледина Т.В. Сыре и вспомогательные материалы в пивоварении. – СПб.: Профессия, 2003.
- Риберо-Гайон Ж., Лейно Э., Риберо-Гайон П., Сюдро П. Теория и практика виноделия. Т.2 / Пер. с французского. 1979.
- Boulton C. and Quain D. Brewing yeast and fermentation, Blackwell Science, 2002.