

Елена Николаевна Соколова<sup>1✉</sup>, Елена Михайловна Серба<sup>2</sup>, Любовь Вячеславовна Римарева<sup>3</sup>, Наталья Александровна Фурсова<sup>4</sup>, Галина Сергеевна Волкова<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup>Всероссийский НИИ пищевой биотехнологии – филиал ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

<sup>1</sup>elenaniksokolova@inbox.ru

<sup>2</sup>serbae@mail.ru

<sup>3</sup>irimareva@mail.ru

<sup>4</sup>pekardroj@yandex.ru

<sup>5</sup>galina.volkova@bk.ru

### СОВРЕМЕННЫЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ ШТАММА ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ, ПЕРСПЕКТИВНОГО ДЛЯ СОЗДАНИЯ ОБОГАЩЕННЫХ ПИЩЕВЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ

Цель исследования – использование современных микробиологических подходов для получения нового штамма хлебопекарных дрожжей. Объекты исследования – штаммы хлебопекарных дрожжей лаборатории биотехнологии пекарных дрожжей Института пищевой биотехнологии. Селекцию и скрининг штамма дрожжей осуществляли путем клонального рассева клеток исходного штамма на агаризованные среды с глюкозо-аспарагиновой средой (8 % СВ) и солодовым сусликом (12 и 18 % СВ). Содержание сырого протеина в дрожжевой биомассе определяли методом Кьельдаля на автоматической установке BEGER (Словения). Накопление биомассы определяли весовым методом после культивирования, разделяя центрифугированием твердую и жидкую фракции. Мальтазную, зимазную и протеолитическую активности определяли согласно известным методикам. Содержание эргостерина – спектрофотометрическим методом, основанным на экстракции этанолом и серной кислотой с тритерпеновыми соединениями, при длине волны  $\lambda = 328$  нм. Биомассу (твердая фракция) отделяли от фильтрата центрифугированием на лабораторной центрифуге ОПМ-16 в течение 15 мин при скорости вращения ротора 6000 об/мин. Проведены сравнительные исследования для выбора наиболее продуктивного в отношении биохимических показателей штамма хлебопекарных дрожжей. Сравнительная характеристика штаммов дрожжей позволила отобрать наиболее перспективный – *Saccharomyces cerevisiae* Y-581, характеризующийся способностью к более высокому уровню синтеза белка, мальтазной, зимазной активностей, а также показателей эргостерина и осмочувствительности. С отобранным штаммом были проведена двухступенчатая селекция и скрининг по вышеуказанным показателям. В результате микробиологических подходов относительно исходного штамма *S. cerevisiae* Y-581 была выделена популяция *Saccharomyces cerevisiae* 581-ГА-21с, отличающаяся более высокой биосинтетической способностью не только по отношению к эргостерину и белку, но и к синтезу ферментов, особенно протеолитических. Выделенный штамм обладал более высокой проницаемостью клеточной мембраны, о чем свидетельствовали показатели его осмочувствительности. Также новый штамм имел отличительные особенности и по морфологическим признакам. Данный штамм будет использован в области получения обогащенных ингредиентов для разработок новых видов пищевой продукции.

**Ключевые слова:** хлебопекарные дрожжи, новые виды продукции, селекция, микробиологические подходы, штамм хлебопекарных дрожжей, обогащение пищевых ингредиентов

**Для цитирования:** Современные микробиологические подходы к получению штамма хлебопекарных дрожжей, перспективного для создания обогащенных пищевых ингредиентов / Е.Н. Соколова [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2024. № 7. С. 243–250. DOI: 10.36718/1819-4036-2024-7-243-250.

**Благодарности:** исследования проведены за счет средств субсидии на выполнение ПНИ № FGMF-2023-0010.

**Elena Nikolaevna Sokolova**<sup>1✉</sup>, **Elena Mikhailovna Serba**<sup>2</sup>, **Lyubov Vyacheslavovna Rimareva**<sup>3</sup>,  
**Natalia Alexandrovna Fursova**<sup>4</sup>, **Galina Sergeevna Volkova**<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup>All-Russian Research Institute of Food Biotechnology – branch of the FRC of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

<sup>1</sup>elenaniksokolova@inbox.ru

<sup>2</sup>serbae@mail.ru

<sup>3</sup>lrimareva@mail.ru

<sup>4</sup>pekardroj@yandex.ru

<sup>5</sup>galina.volkova@bk.ru

### MODERN MICROBIOLOGICAL APPROACHES TO OBTAINING A STRAIN OF BAKER'S YEAST PROMISING FOR THE CREATION OF ENRICHED FOOD INGREDIENTS

*The aim of the study is to use modern microbiological approaches to obtain a new strain of baker's yeast. The objects of the study were strains of baker's yeast from the Laboratory of Baker's Yeast Biotechnology of the Institute of Food Biotechnology. Selection and screening of the yeast strain were carried out by clonal plating of the original strain cells on agar media with glucose-asparagine medium (8 % DM) and with malt wort (12 and 18 % DM). The content of crude protein in the yeast biomass was determined by the Kjeldahl method on an automatic BEGER unit (Slovenia). Biomass accumulation was determined by the gravimetric method after cultivation, separating the solid and liquid fractions by centrifugation. Maltase, zymase and proteolytic activities were determined according to known methods. Ergosterol content – spectrophotometric method based on extraction with ethanol and sulfuric acid with triterpene compounds, at a wavelength of  $\lambda = 328$  nm. The biomass (solid fraction) was separated from the filtrate by centrifugation in a laboratory centrifuge OPM-16 for 15 min at a rotor speed of 6000 rpm. Comparative studies were conducted to select the most productive strain of baker's yeast in terms of biochemical parameters. Comparative characteristics of yeast strains allowed us to select the most promising one – *Saccharomyces cerevisiae* Y-581, characterized by the ability to a higher level of protein synthesis, maltase, zymase activities, as well as ergosterol and osmosensitivity indicators. A two-stage selection and screening for the above indicators were carried out with the selected strain. As a result of microbiological approaches relative to the original strain *S. cerevisiae* Y-581, a population of *Saccharomyces cerevisiae* 581-GA-21c was isolated, characterized by a higher biosynthetic capacity not only in relation to ergosterol and protein, but also to the synthesis of enzymes, especially proteolytic ones. The isolated strain had a higher permeability of the cell membrane, as evidenced by its osmosensitivity indicators. The new strain also had distinctive features in morphological characteristics. This strain will be used in the field of obtaining enriched ingredients for the development of new types of food products.*

**Keywords:** baker's yeast, new types of products, selection, microbiological approaches, baker's yeast strain, enrichment of food ingredients

**For citation:** Modern microbiological approaches to obtaining a strain of baker's yeast promising for the creation of enriched food ingredients / E.N. Sokolova [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2024;(7): 243–250 (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2024-7-243-250.

**Acknowledgments:** research has been carried out at the expense of the subsidy for the implementation of PNI № FGMF-2023-0010.

**Введение.** В современном динамическом развитии общества вопрос получения и внедрения новых видов обогащенных пищевых продуктов требует безотлагательного решения представителей научных, технических и технологических представителей сообществ. Основой решения данного вопроса являются научные исследования и полученные на их основе разработки, в результате которых будут получены новые знания в виде новых экспериментальных данных, а также разработаны новые подходы, методы и способы для формирования базы новых технологий [1–3].

Новая структура питания человека подразумевает ряд обстоятельств, с изменением которых необходимо корректировать методологию обогащения пищевых продуктов. Эти условия связаны с пищевой ценностью продуктов, их усвояемостью, изменениями экологии и климата, питанием в регионах, а также пополнением рынка новыми продуктами с различными функциональными особенностями [4–6].

Программы профилактики микронутриентной недостаточности были сформулированы в начале 80-х гг. XX в. В основе Государственной политики здорового питания проводится мониторинг данных эпидемиологического состояния, пищевых предпочтений населения, а также профилактических мероприятий [7].

Целенаправленное обогащение культуральной среды микроэлементами позволит повысить уровень органической формы металла в дрожжевой биомассе за счет аккумуляции неорганических солей в процессе выращивания. Уровень обогащения хлеба при использовании фортифицированных микроэлементами дрожжей позволит обеспечить не менее 15 % от суточной потребности в эссенциальных микроэлементах. При использовании в рецептуре обогащенных дрожжей их количество значительно меньше, чем при использовании в рецептуре приготовления обогащенного хлеба [8–10].

Современные микробиологические методы, включая многоступенчатую селекцию и скрининг микроорганизмов, – один из важнейших путей получения перспективных штаммов для использования в технологиях получения пищевых ингредиентов.

**Цель исследования** – использование современных микробиологических подходов для получения нового штамма хлебопекарных дрожжей.

**Объекты и методы.** В качестве объектов для исследования были выбраны штаммы хлебопекарных дрожжей лаборатории биотехнологии пекарных дрожжей Института пищевой биотехнологии. Селекцию и скрининг штамма дрожжей осуществляли путем клонального рассева клеток исходного штамма на агаризованные среды с глюкозо-аспарагиновой средой (8 % СВ) и солодовым сусликом (12 и 18 % СВ).

Содержание сырого протеина в дрожжевой биомассе определяли методом Кьельдаля на автоматической установке BEGER (Словения) [11]. Накопление биомассы определяли весовым методом после культивирования, разделяя центрифугированием твердую и жидкую фракции [12]. Мальтазную, зимазную и протеолитическую активности определяли согласно известным методикам [13]. Содержание эргостерина – спектрофотометрическим методом, основанном на экстракции этанолом и серной кислотой с тритерпеновыми соединениями при длине волны  $\lambda = 328$  нм [14].

Биомассу (твердая фракция) отделяли от фильтрата центрифугированием на лабораторной центрифуге ОПМ-16 в течение 15 мин при скорости вращения ротора 6 000 об/мин.

Для статистической обработки экспериментальных данных, полученных не менее, чем в 3 повторностях, использовали метод однофакторного дисперсионного анализа с апостериорным критерием Тьюки при  $p < 0,05$  и программы Statistica 6.0.

**Результаты и их обсуждение.** На первом этапе проводили сравнительные исследования количественных и качественных характеристик хлебопекарных дрожжей *S. cerevisiae* с целью установления перспективного для обогащения штамма.

В результате сравнительной характеристики штаммов *Saccharomyces cerevisiae* был выбран Y-581, характеризующийся способностью к более высокому уровню синтеза белка, мальтазной, зимазной активностей, а также показателей эргостерина и осмочувствительности (табл. 1).

Таблица 1

## Сравнительная оценка штаммов хлебопекарных дрожжей по биохимическим показателям

Номер штамма <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Сырой протеин, % на а.с.в.	Осмочувствительность, мин	Мальтазная активность, мин	Зимазная активность, мин	Эргостерин, % на а.с.в.	Накопление биомассы, %
Y-576	41,0±2,0	18±0,8	76±3,8	69±3,4	7,6±0,3	5,8±0,3
Y-501	42,4±2,1	13±0,5	80±3,9	48±2,8	9,8±0,5	5,5±0,2
Y-53	42,5±2,2	16±0,6	85±4,2	52±2,5	5,5±0,2	5,2±0,2
Y-1218	42,0±2,0	19±0,8	68±3,0	63±3,3	5,2±0,2	4,7±0,2
<b>Y-581</b>	42,6±2,2	12±0,4	89±4,8	45±2,2	10,8±0,6	5,9±0,3
Y-3439	41,8±2,2	20±0,5	65±3,2	58±2,8	6,2±0,3	4,3±0,2
Y-59	40,4±2,0	20±0,5	64±3,0	70±3,3	4,7±0,2	4,0±0,1
Y-722	41,2±2,1	22±0,5	72±3,6	72±3,5	4,3±0,2	4,8±0,2

Здесь и далее: данные представлены в виде средних ± стандартное отклонение.

На следующем этапе работы была проведена многоступенчатая селекция и скрининг отобранного штамма *S. cerevisiae* Y-581 для выделения более активного варианта, перспективного к обогащению железом и медью. Основными биохимическими признаками для фортификации дрожжей являются содержание белка и осмочувствительность (проницаемость клеточной стенки дрожжей).

Первым этапом селекционных работ являлся отбор активных вариантов по содержанию бел-

ка и осмочувствительности. При клональном расसेве клеток стабильного исходного дрожжевого штамма Y-581 на агаризованную среду наблюдали рост однотипных по цвету и морфологии колоний, различающихся размером. В результате рассева данного штамма на глюкозо-аспарагиновую среду с концентрацией СВ 8,0 % были выделены 12 активных колоний на 144 ч выращивания при температуре 30 °С, показатели которых представлены в таблице 2.

Таблица 2

Сравнительная характеристика активных вариантов *Saccharomyces cerevisiae* Y-581

Вариант	Сырой протеин, % на а.с.в.	Осмочувствительность, мин
581-ГА-7	42,0±2,1	14,0±0,7
581-ГА-12	45,2±2,2	18,5±0,9
581-ГА-14	38,2±1,9	17,5±0,8
581-ГА-18	41,5±2,0	20,5±1,0
<b>581-ГА-21</b>	<b>46,2±2,3</b>	<b>10,5±0,5</b>
581-ГА-29	35,0±1,7	17,5±0,8
581-ГА-35	37,8±1,8	13,5±0,6
581-ГА-37	36,9±1,8	18,0±0,9
581-ГА-41	41,2±2,0	15,5±0,7
581-ГА-45	45,3±2,2	13,5±0,6
581-ГА-52	42,2±2,1	14,5±0,7
581-ГА-61	39,5±1,8	11,9±0,5
Исх. 581	42,3±2,1	12,5±0,6

В результате проведенных селекционных исследований отобрана наиболее активная популяция *Saccharomyces cerevisiae* 581-ГА-21, обладающая способностью к повышенному синтезу белка (46,2 %) и более низким уровнем осмочувствительности (10,5 мин) по сравнению с контрольным вариантом (табл. 2).

На втором этапе селекции было исследовано влияние различных концентраций агаризован-

ных сред, используемых для рассева выделенного варианта *S. cerevisiae* 581-ГА-21, на изменения его биосинтетических свойств. Для отбора колоний использовали агаризованные среды с концентрацией солодового суслу с 12 и 18 % СВ. Отобранные клоны тестировали по уровню синтеза белка и осмочувствительности (табл. 3).

**Сравнительная характеристика активных вариантов дрожжей  
*Saccharomyces cerevisiae* 581-ГА-21**

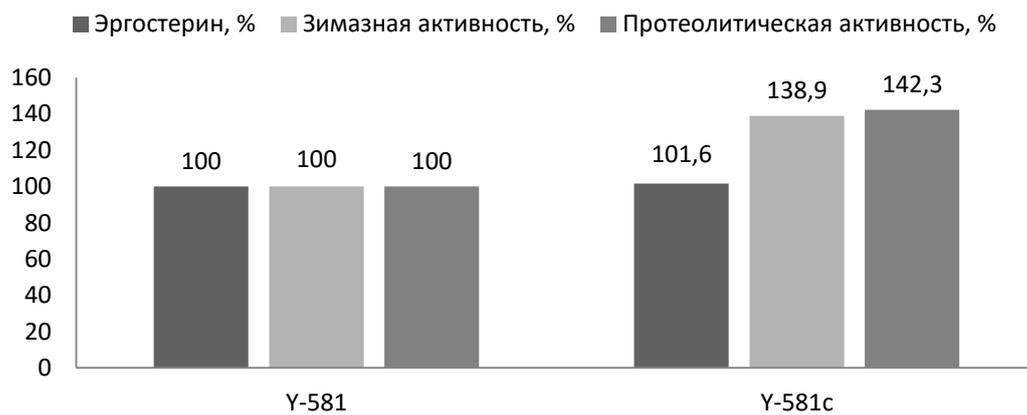
Вариант	12 % СВ		18 % СВ		Вариант
	Сырой протеин, % на а.с.в.	Осмочувствительность, мин	Сырой протеин, % на а.с.в.	Осмочувствительность, мин	
581-ГА-3с	43,2±2,1	15,5±0,7	42,0±2,1	14,0±0,7	581-ГА-5с
<b>581-ГА-11с</b>	<b>47,0±2,3</b>	<b>13,5±0,6</b>	<b>46,2±2,3</b>	<b>11,5±0,5</b>	<b>581-ГА-13с</b>
581-ГА-14с	39,2±1,9	14,5±0,7	39,9±1,9	11,9±0,5	581-ГА-17с
581-ГА-17с	41,7±2,0	19,5±0,9	42,5±2,1	10,8±0,5	581-ГА-19с
<b>581-ГА-23с</b>	<b>52,1±2,6</b>	<b>7,0±0,3</b>	<b>53,6±2,6</b>	<b>5,5±0,2</b>	<b>581-ГА-21с</b>
581-ГА-29с	42,3±2,1	17,5±0,8	35,0±1,8	14,5±0,7	581-ГА-27с
581-ГА-33с	39,0±1,9	18,5±0,8	37,8±1,9	13,5±0,6	581-ГА-30с
581-ГА-40с	39,9±1,9	12,5±0,6	36,9±1,9	12,3±0,6	581-ГА-32с
581-ГА-44с	41,8±2,0	14,5±0,7	44,2±2,2	15,1±0,7	581-ГА-42с
581-ГА-48с	42,6±2,1	17,1±0,8	45,3±2,5	9,5±0,4	581-ГА-47с
<b>581-ГА-51с</b>	<b>46,5 ±2,3</b>	<b>12,5±0,6</b>	43,2±2,3	6,9±0,3	581-ГА-50с
581-ГА-57с	43,2±2,1	19,0±0,9	39,5±1,9	0,9±0,4	581-ГА-56с
Исх. 581	44,2±2,2	10,7±0,5	44,8±2,2	10,0±0,5	Исх. 581

При культивировании дрожжей в глубинных условиях на стандартной питательной среде при температуре 30 °С в течение 48 ч установлено, что более высокой биосинтетической способностью по отношению к белку обладали 3 популяции, выделенные при расщепе на средах с концентрацией РСВ 12 %, и 2 клон Y – 18 %, из которых клон *Saccharomyces cerevisiae* 581-ГА-21с (выделенный со среды с 18 % СВ) проявил наилучшие показатели по содержанию белка и осмочувствительности (см. табл. 3). В этом варианте содержание белка составило 53,6 % и осмочувствительность – 5,5 мин, что превысило показатели исходного штамма по белку на 19,6 %, а осмочувствительность снизилась в 1,8 раза.

Результаты сравнительных исследований биосинтетической способности выделенного и исходного штамма показали, что уровень синтеза эргостерина увеличился несущественно, но по содержанию белка клон *S. cerevisiae* Y-581-

ГА-21с превосходил показатели исходного штамма. При этом осмочувствительность снизилась на 45 %; отмечено также некоторое повышение его зимазной (на 38,9 %) и протеолитической (на 42,3 %) активностей по сравнению с показателями, полученными при тестировании исходного штамма дрожжей (рис. 1, а, б).

Таким образом, в результате многоступенчатой селекции исходного штамма *S. cerevisiae* Y-581 была выделена популяция *Saccharomyces cerevisiae* 581-ГА-21с, несколько отличающаяся по морфологическим признакам (рис. 2) и с более высокой биосинтетической способностью не только по отношению к эргостерину и белку, но и к синтезу ферментов, особенно протеолитических. Кроме того, выделенный штамм обладал более высокой проницаемостью клеточной мембраны, о чем свидетельствовали показатели его осмочувствительности.

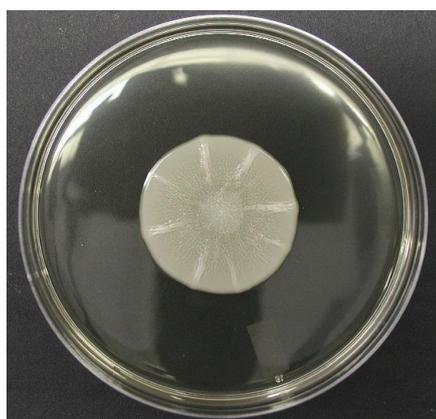


а

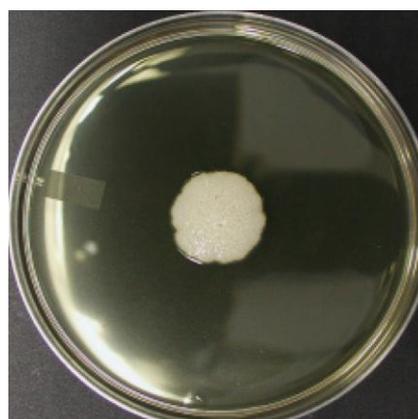


б

Рис. 1. Биохимические показатели исходного и селекционированного штамма *S. cerevisiae* Y-581c



*S. cerevisiae* Y-581



*S. cerevisiae* Y-581-FA-21c (Y-581c)

Рис. 2. Штаммы дрожжей *S. cerevisiae* Y-581 и *S. cerevisiae* Y-581-FA-21c

**Заключение.** Селекционированный штамм *S. cerevisiae* Y-581c был выбран в качестве перспективного объекта по основным признакам, необходимым для фортификации микроэлементами (высокое содержание белка и эргостерина, низкая осмочувствительность и повышенная протеолитическая активность).

На основании современных микробиологических подходов получен новый штамм хлебопекарных дрожжей *S. cerevisiae* Y-581-с, который будет использован в дальнейших исследованиях по созданию ингредиентов различного состава.

#### Список источников

1. *Маюрникова Л.А., Новоселов С.В., Болховитина Е.Н.* Формирование потребительских предпочтений к новационным продуктам питания в региональных условиях // Ползуновский вестник. 2010. № 4–2. С. 13–19.
2. *Корнен Н.Н., Викторова Е.П., Евдокимова О.В.* Методологические подходы к созданию продуктов здорового питания // Вопросы питания. 2015. Т. 84, № 1. С. 95–99.
3. *Третьяк Л.Н., Явкина Д.И.* Дополнительные требования к качеству и безопасности пищевых продуктов, обогащенных добавками // Пищевая промышленность. 2018. № 5. С. 18–21.
4. *Коденцова В.М.* Обоснование уровня обогащения пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами // Вопросы питания. 2010. Т. 79, № 1. С. 23–33.
5. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы / *В.М. Коденцова* [и др.] // Вопросы питания. 2017. Т. 86 (4). С. 113–124.
6. *Коденцова В.М., Рисник Д.В., Бессонов В.В.* Соединения железа для обогащения пищевых продуктов: сравнительный анализ эффективности // Микроэлементы в медицине. 2023. Т. 24 (1). С. 10–19.
7. Биотехнологические аспекты получения функциональных ингредиентов на основе конверсии биомассы *Saccharomyces cerevisiae* 985-T / *Е.М. Серб* [и др.] // Биотехнология. 2020. Т. 36, № 4. С. 34–41. DOI: 10.21519/0234-2758-2020-36-4-34-41.
8. Перспективные расы хлебопекарных дрожжей для получения пищевых ингредиентов, обогащенных селеном и хромом / *Е.М. Серб* [и др.] // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 6. С. 48–57.
9. *Дроздов В.Н.* Рациональное возмещение дефицита витаминов и микроэлементов // Лечебное дело. 2009. № 3. С. 34–40.
10. Нутриом как направление «главного удара»: определение физиологических потребностей в макро- и микронутриентах, минорных биологически активных веществах пищи / *В.А. Тутельян* [и др.] // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 4. С. 24–34.
11. ГОСТ 13496.4-2019. Корма. Комбикорма. Комбикормовое сырье. Метод определения содержания азота и сырого протеина. М., 2019.
12. Культивирование микроорганизмов как основа биотехнологического процесса / *С.Е. Алешина* [и др.]. Оренбург, 2017.
13. *Чернова А.П., Батжаргал Х.* Метод оценки ферментативной активности хлебопекарных дрожжей // Пищевая промышленность. 2019. № 8. С. 84–88.
14. Использование экстрактов яблочного жмыха для интенсификации биосинтеза эргостерина / *И.В. Калинина* [и др.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Сер. «Пищевые и биотехнологии». 2021. Т. 9, № 2. С. 75–82.

Статья принята к публикации 18.05.2024 / The article accepted for publication 18.05.2024.

Информация об авторах:

**Елена Николаевна Соколова**<sup>1</sup>, ведущий научный сотрудник отдела биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и биологически активных добавок, кандидат биологических наук  
**Елена Михайловна Серб**<sup>2</sup>, заместитель директора по научной работе, доктор биологических наук, доцент, член-корреспондент Российской академии наук

**Любовь Вячеславовна Римарева**<sup>3</sup>, главный научный сотрудник, доктор технических наук, академик Российской академии наук

**Наталья Александровна Фурсова**<sup>4</sup>, заведующая лабораторией биотехнологии пекарных дрожжей

**Галина Сергеевна Волкова**<sup>5</sup>, заведующая лабораторией биотехнологии органических кислот, пищевых и кормовых добавок, главный научный сотрудник, доктор технических наук

Information about the authors:

**Elena Nikolaevna Sokolova**<sup>1</sup>, Leading Researcher at the Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids and Biologically Active Additives, Candidate Biological Sciences

**Elena Mikhailovna Serba**<sup>2</sup>, Deputy Director for Research, Doctor of Biological Sciences, Docent, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences

**Lyubov Vyacheslavovna Rimareva**<sup>3</sup>, Chief Researcher, Doctor of Technical Sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences

**Natalia Alexandrovna Fursova**<sup>4</sup>, Head of the Laboratory of Baker's Yeast Biotechnology

**Galina Sergeevna Volkova**<sup>5</sup>, Head of the Laboratory of Biotechnology of Organic Acids, Food and Feed Additives, Chief Researcher, Doctor of Technical Sciences

