

УДК 576.8:663.12

О.В. КУЗНЕЦОВА, І.А. ПЛАКСІЄНКО

## ЗДАТНІСТЬ ДРІЖДЖІВ ВИДУ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* НАКОПИЧУВАТИ ЙОДВІСНІ СПОЛУКИ

Український державний хіміко-технологічний університет, м. Дніпропетровськ

У статті розглядаються питання, пов'язані з вивченням можливості дріжджової клітини засвоювати йодвісні сполуки. Проаналізоване наростання біомаси дріжджів виду *Saccharomyces cerevisiae* у залежності від концентрації КІ у живильному середовищі, визначений коефіцієнт накопичення йодиду калію дріжджами.

За останні роки значно зросла захворюваність серед населення України, у тому числі і Придніпровського регіону, на гіперплазію щитовидної залози [1], особливо у дітей та жінок. Викликане це захворювання несприятливими екологічними факторами та недостатністю йоду в продуктах харчування. В Україні більше 35% населення страждає від йододефіциту. Йод — дуже необхідний елемент для життєдіяльності організму людини і тварин. Він входить до складу гормону щитовидної залози тироксину, який регулює обмін речовин в організмі (підсилює витрачання вуглеводів, ліпідів, білків). Одна молекула тироксину містить до 65% йоду (в щитовидній залозі знаходиться до 20 мг тироксину), а в нормі в крові людини знаходиться 12—5 мг йоду. Нестача йоду в гормонах щитовидної залози викликає зоб людини та тварин. Враховується, що добова потреба в йоді у людини складає 150 мкг [2,3]. Крім того, йод не затримується в організмі людини, постійно виділяється з потом, сечею, волоссям, тому потрібне щоденне надходження йоду в організм з харчами та рідинами. У необхідній кількості йод міститься в морепродуктах — рибі, крабах, ікрі, морській капусті та ін., які не завжди доступні більшості населення України. У районах, де в ґрунтах міститься недостатня кількість йоду, яким є і Дніпропетровська область, у корм свійських тварин вводять йодовану поварену сіль зі вмістом 7,5 г йодистого калію на тону повареної солі [4].

Для підвищення кількісного вмісту йоду в раціоні харчування людини пропонують застосовувати йодовану сіль, йодовані молочнокислі продукти, харчові добавки — йодовані дріжджі [5], йод-актив та ін.

У літературі зустрічаються відомості про стимулюючу дію сполук йоду на ріст біологічних об'єктів. Наприклад, на проростання спор базидіальних грибів позитивно впливає йодистий калій [6].

За даними вчених, некореневе підживлення рослин і передпосівна обробка насіння порошком КІ дають додаток врожаю зернових культур на 30—34%, овочевих — на 11—19%, коренеплодів цукрового буряку — на 14—24%. Застосування йодних добрив дозволяє забезпечити необхідний щодобовий вміст йоду у рослинних харчах людини (100—200 мкг) та сільськогосподарських тварин (0,07—1,2 мкг/кг сухої речовини корму) [7].

У хлібопекарській промисловості застосовується йодат калію ( $KIO_3$ ) для поліпшення якості хліба при переробці слабого борошна, він є окиснювачем та знижує активність протеїну з борошна [8].

Відомі розробки з введення йоду в дріжджову клітину у виді КІ і створення йодованих дріжджів для заповнення дефіциту йоду в організмі людини. Більшість йодованих продуктів отримана обробкою біомаси або введенням йодиду калію (КІ) або йодату калію ( $KIO_3$ ) у готовий продукт [5]. Однак в організмі людини йод знаходиться у поєднанні з білками, тому вважається, що найкращими йодованими препаратами є такі, де йод входить у склад білкових речовин. З цієї точки зору дріжджова клітина є ідеальним об'єктом для йодування.

Враховуючи все вищесказане, метою даної роботи було дослідження відношення дріжджів виду *Saccharomyces cerevisiae* до йодвісних сполук та їх здатності накопичувати ці сполуки, зокрема, КІ.

### Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були пресовані дріжджі виду *Saccharomyces cerevisiae*. Для культивування дріжджів використовували глюкозо-пептонне середовище (середовище Сабуро) наступного складу (г): глюкоза — 40; пептон — 10; агар — 20; вода водопровідна — 1000 мл [9]. Живильні середовища стерилізували в паровому стерилізаторі ВК-75 при 0,5 атм. протягом 60 хвилин [10].

Здатність дріжджів накопичувати КІ вивча-

лась в процесі безприточного глибокого та поверхневого культивування в умовах постійного перемішування та без перемішування у рідкому живильному середовищі [10], а також на агаризованому живильному середовищі.

Концентрації КІ у живильному середовищі складали: 0,001%; 0,004%; 0,01%; 0,1%; 0,5%. Контрольна проба не містила КІ. При культивуванні у рідкому живильному середовищі агар не додавали. За допомогою іономера універсального ЕВ-74 перевіряли рН живильного середовища та доводили його до 4,5 (молочною чи сірчаною кислотою) [11]. Простерилізоване живильне середовище розливали в конічні колби (на 250 мл) по 150 мл. Дослід здійснювали у трьох повторностях. Живильне середовище засівали пресованими дріжджами (вологістю 75%) по 0,5 г в кожену колбу — при культивуванні на рідкому живильному середовищі. При поверхневому твердофазному культивуванні живильне середовище розливали в чашки Петрі по 15 мл і засівали дріжджовою суспензією методом штриха мікробіологічною петлею [10]. Посів дріжджів здійснювали в стерильних умовах у полум'ї спиртової горілки.

Вирощування дріжджів здійснювали: при постійному перемішуванні на мікробіологічній термостатованій качалці УВМТ-12-250 (глибинне культивування) при температурі 30°C протягом 24 год, 200 об./хв; без перемішування (поверхневе культивування) на рідкому середовищі при температурі 30°C протягом 24 год у термостаті ТС-80; на агаризованому живильному середовищі (твердофазне культивування) у чашках Петрі при температурі 30°C протягом 48 год у термостаті.

Після закінчення процесу культивування методом фільтрування відділяли біомасу дріжджових клітин від культуральної рідини за допомогою паперового фільтра. Відфільтровану біомасу промивали підкисленою водою (1 мл НСІ на 1 л дистильованої  $H_2O$ ) декілька разів для видалення залишків КІ [9]. Морфологічний аналіз дріжджових клітин здійснювали методом мікроскопування без фарбування за допомогою мікроскопа МБІ-9.

Для аналізу наявності КІ у дріжджових клітинах готували водний екстракт із дріжджів: 1 мг

дріжджової біомаси розтирали у фарфоровій ступці зі склом, додавали 10 мл дистильованої води (стерилізованої), перемішували, фільтрували, фільтрат аналізували. Біомасу визначали методом зважування на аналітичних терезах АДВ-200. Якісні реакції для визначення йоду у культуральній рідині та біомасі здійснювали за пробою Бельштейна та з нітратом срібла [12].

Контроль кількісного накопичування КІ здійснювали методом прямої потенціометрії за допомогою срібного індикаторного електрода та насиченого хлорсрібного електрода порівняння із допоміжним містком ( $KNO_3$  (насич.) + агар-агар). Іонна сила розчинів підтримувалась постійною. Були побудовані калібрувальні графіки залежності потенціалу срібного електрода від концентрації йодид-іона в стандартних розчинах в інтервалі концентрацій КІ: 0,001–0,01%; 0,01–0,1%; 0,1–0,5% [12].

Математична обробка результатів дослідження здійснювалась методами математичної статистики. Всі вибірки підкорялися закону нормального розподілення [13]. Розраховувались такі статистичні показники: середнє арифметичне ( $M$ ), середнє квадратичне відхилення ( $d$ ), середня арифметична похибка ( $m$ ). Дані враховувались вірогідними при  $p < 0,05$  (за коефіцієнтом Ст'юдента).

#### Результати та обговорення

У результаті здійснених досліджень встановлене наступне.

Йодистий калій (КІ) у досліджуваних концентраціях не інгібує наростання дріжджової біомаси, але ж і не стимулює явно ріст клітин у порівнянні з контролем: середня біомаса дріжджів в умовах культивування на рідких живильних середовищах у колбах з різною концентрацією КІ була приблизно однаковою. У табл. 1 наведені результати накопичення біомаси дріжджів при різних умовах культивування.

Як видно із табл. 1, накопичення дріжджової біомаси в умовах без перемішування відбувалось значно повільніше. У цих умовах наростання біомаси дріжджів було майже у два рази менше у порівнянні з біомасою, накопиченою в умовах постійного перемішування на качалці.

Аналіз отриманих даних накопичення біома-

Таблиця 1

Накопичення біомаси дріжджів у різних умовах культивування

| Концентрація КІ у живильному середовищі, % | Середня біомаса дріжджів в умовах постійного перемішування на рідкому живильному середовищі, г ( $M \pm m$ ) | Середня біомаса дріжджів в умовах без перемішування на рідкому живильному середовищі, г ( $M \pm m$ ) | Середня біомаса дріжджів на агаризованому живильному середовищі, г ( $M$ ) |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 0,001                                      | $4,01 \pm 0,38$                                                                                              | $1,56 \pm 0,22$                                                                                       | 0,07                                                                       |
| 0,004                                      | $3,96 \pm 0,80$                                                                                              | $2,08 \pm 0,56$                                                                                       | 0,03                                                                       |
| 0,010                                      | $4,05 \pm 0,52$                                                                                              | $2,74 \pm 0,56$                                                                                       | 0,04                                                                       |
| 0,100                                      | $4,42 \pm 0,71$                                                                                              | —                                                                                                     | 0,06                                                                       |
| 0,500                                      | $4,00 \pm 0,34$                                                                                              | —                                                                                                     | 0,08                                                                       |
| Контроль                                   | $4,08 \pm 0,50$                                                                                              | $2,69 \pm 0,36$                                                                                       | 0,01                                                                       |

си дріжджів при твердофазному культивуванні по-казав, що дріжджова клітина навіть на середовищах з високою концентрацією KI здатна накопичувати біомасу (концентрація 0,5%). У цьому досліді спостерігається деяка стимулююча дія KI на наростання дріжджової біомаси у порівнянні з контрольним дослідом.

За даними табл. 1 виявлено, що найчастіше за все накопичення біомаси дріжджів відбувається в умовах глибинного культивування при постійному перемішуванні на качалці. Біомаса дріжджів зросла майже у вісім разів, а у порівнянні з умовами наростання біомаси без перемішування у термостаті — у два рази. Біомаса дріжджів в умовах поверхневого культивування на рідкому живильному середовищі зросла у порівнянні з початковою у чотири рази.

Таким чином, умови культивування дріжджів безпосередньо впливають на наростання їх біомаси.

Якісними реакціями була визначена наявність йоду у дріжджах. Позитивна проба Бельштейна була отримана у дріжджових клітинах, які культивувались на живильних середовищах з концентрацією KI 0,001%; 0,004%; 0,01%; 0,1%. Помітно було яскраве зелене світло полум'я пальника, що свідчило про наявність йоду. Реакція з нітратом срібла показала наявність йоду у клітинах, де концентрація KI у живильному середовищі складала 0,004% (видав жовтий осад).

Методом прямої потенціометрії був визначений вміст I<sup>-</sup>-іонів у культуральній рідині та водних екстрактах дріжджів для початкових концентрацій KI у живильному середовищі від 0,001% до 0,5%. Коефіцієнт накопичення KI визначали як відношення процентної концентрації йодиду калію у водному екстракті та культуральній рідині. Кількісні характеристики накопичення дріжджовими клітинами йоду наведені у табл. 2. Коефіцієнт накопичення KI залежить від його вихідної концентрації у живильному середовищі, зменшуючись з ростом  $C_{KI}$ , тобто найбільш інтенсивним є накопичення KI дріжджовими клітинами на середовищі з  $C_{KI}=0,001\%$  (коефіцієнт накопичення — 0,25).

Таким чином, дріжджові клітини здатні накопичувати йодисті сполуки, зокрема, йодид калію, та здатні нарощувати біомасу у живильному сере-

довищі, яке містить йод.

При порівнянні впливу KI на наростання біомаси міцеліальних грибів встановлено, що дана сіль інгібує ріст міцелію гливи звичайної навіть у низьких концентраціях — 0,002%; ріст колонії міцелію на агаризованому живильному середовищі з йодистим калієм був відсутній [14].

Морфологічне дослідження дріжджової клітини методом мікроскопування показало, що дріжджові клітини на середовищі, яке містить йодисті сполуки, та на контролі не мають особливих різниць. Форма дріжджової клітини — округла, зустрічаються клітини як великі так і малі, а також ті, що брунькуються. Колонії дріжджів на агаризованому середовищі — округлі, білі, однорідні, легко знімаються з агару, ріст колоній інтенсивний.

Аналіз морфологічного опису показав, що йодисті сполуки не впливають на морфологію та фізіологію дріжджової клітини: на середовищах з різною концентрацією KI, навіть високою (0,1% та 0,5%), дріжджі нормально розвиваються, ростуть та розмножуються.

### Висновки

За результатами здійснених досліджень можна зробити наступні висновки.

Дріжджі виду *Saccharomyces cerevisiae* здатні накопичувати йодвімісні сполуки із живильного середовища. Ці сполуки, зокрема KI, не впливають на морфологію та фізіологію дріжджової клітини: на середовищах з різною концентрацією KI, навіть з високою — 0,5%, особливих змін дріжджових клітин у порівнянні з контролем не виявлено.

Найбільша біомаса дріжджів отримана у процесі безприточного культивування в умовах постійного перемішування на качалці: біомаса клітин збільшилась майже у вісім разів (в умовах без перемішування — у чотири рази).

Встановлено, що KI в досліджуваних концентраціях на різних живильних середовищах (рідких і твердих) та при різних умовах культивування не інгібує наростання дріжджової біомаси, але і не стимулює явно ріст клітин у порівнянні з контролем. При порівнянні впливу KI на наростання біомаси міцеліальних грибів (гливи звичайної) на агаризованому твердому середовищі відмічено, що

Таблиця 2

Змінення концентрації KI у культуральній рідині та водному екстракті дріжджів у процесі глибинного культивування на качалці

| Концентрація KI у живильному середовищі, % | Концентрація KI у культуральній рідині, % | Концентрація KI у водному екстракті дріжджів, % | Коефіцієнт накопичення KI |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------|
| 0,500                                      | 0,4980                                    | 0,0020                                          | 0,004                     |
| 0,100                                      | 0,0993                                    | 0,0007                                          | 0,007                     |
| 0,010                                      | 0,0096                                    | 0,0004                                          | 0,042                     |
| 0,004                                      | 0,0038                                    | 0,0002                                          | 0,053                     |
| 0,001                                      | 0,0008                                    | 0,0002                                          | 0,250                     |

дана сіль інгібує ріст міцелію навіть у низьких концентраціях (0,002%).

Ступінь накопичення КІ залежить від концентрації цієї солі у живильному середовищі: більш інтенсивно дріжджові клітини накопичують КІ на середовищах з низькими концентраціями КІ — 0,001%; 0,004% (коефіцієнт накопичення — 0,25 та 0,053). Це підтверджує дані, отримані Т.О. Лагутіною зі співавторами [5].

Результати дослідження можуть бути застосовані для отримання біомаси йодованих хлібопекарських дріжджів виду *Saccharomyces cerevisiae* у процесі глибинного культивування при виробництві пресованих або рідких дріжджів. Застосування йодованих дріжджів у хлібопекарській промисловості дозволить підвищити кількісний вміст йоду у продуктах харчування людини у регіонах, бідних на цей важливий елемент.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гербильский А.В. Здравостроительство и управление адаптацией населения зоны высокой техногенной нагрузки // Здоровье человека: Сб. науч. тр. конф. — Днепропетровск, 1995. — Вып.2. — С.43-45.

2. Человек. Медико-биологические данные. — М.: Медицина, 1977. — 496 с.

3. Добрынина В.И. Биологическая химия. 2-е изд., испр. и доп. — М.: Медицина, 1976. — 504 с.

4. Справочник по химии. — М.: Просвещение, 1970. — 352 с.

5. Лагутіна Т.О., Петров І.П., Сінкевич І.В. Вплив фізіологічно-активних речовин на якість дріжджової біомаси // Тези доп. І Всеукр. наук.-практ. конф. — Київ: Політехніка. — 10-11 лютого 2003 р. — С.54-55.

6. Сухомлин М.Н. Изучение условий прорастания спор базидиомицетов для получения моноспоровых культур // Микробиологический журнал. — 2000. — № 3. — Т.62. — С.25-28.

7. Химическая энциклопедия. Т. 2. — М.: Советская энциклопедия, 1990. — 671 с.

8. Цыганова Т.Б. Технология хлебопекарного производства: Учеб. — М.: ПрофОбрИздат, 2001. — 432 с.

9. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Под. ред. Н.С. Егорова. — 2-е изд. — М.: МГУ, 1983. — 215 с.

10. Практикум по микробиологии. — 3-е изд., перераб. и доп. / Теншер Е.З. и др. — М.: Агропромиздат, 1987. — 239 с.

11. Производство хлебопекарных дрожжей. 2-е изд. перераб. и доп. / Семихатова Н.М., М.Ф. Лозенко, Л.Д. Билова и др. — М.: Агроиздатель, 1987. — 272 с.

12. Калинина А.С. Качественный анализ полимеров — М.: Химия, 1975. — 248 с.

13. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1980. — 293 с.

14. Кузнецова О.В., Ганкова О.С. Дія стимулюючих речовин на ріст міцелію гливи звичайної у залежності від складу живильного середовища / Тези доповідей І Міжнарод. наук.-техн. конф. студ. і асп. "Хімія і сучасні технології". — Дніпропетровськ: УДХТУ. — 26-28 травня 2003. — С.263-264.

Надійшла до редакції 22.12.2003