

Instytut Przemysłu Fermentacyjnego w Warszawie,
Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowywania
Akademii Rolniczej w Lublinie

Helena GÓRECKA, Stanisław BUJAK,
Ewa KISIELEWSKA

**Wzrost drożdży w podłożach o różnej zawartości ekstraktu,
wyosobnionych z zagęszczanego soku jabłkowego**

Рост дрожжей в высокоэкстрактных питательных средах, выделенных из
концентрированного яблочного сока

Growth of Yeasts in the Media of Different Content of the Extract, Separated from
Thickened Apple Juice

Postęp w technologii produkcji zagęszczonych soków owocowych przyczynił się do intensyfikacji ich wytwarzania. Wśród przesłanek uzasadniających rozwój tej produkcji największe znaczenie miały: zwiększenie trwałości gotowego produktu, eliminowanie chemicznych konserwantów, wreszcie obniżenie kosztów transportu soków z baz surowcowych i produkcyjnych do dużych ośrodków konsumpcji. Jednakże wyniki licznych badań wykonanych na temat uzdolnień drożdży osmofilnych pozwalają sądzić, że zagęszczone soki owocowe mogą ulegać zmianom na skutek rozwoju i działalności drożdży.

Dłużewski (3) badał drożdże powodujące fermentację syropów owocowych i soku gronowego, Faville i wsp. (4) oraz Ingram (6) badali drożdże zagęszczonych soków pomarańczowych. Przynależność systematyczną drożdży wyosobnionych z zagęszczonych soków jabłkowych badali Bombalov (1), Górecka i Bujak (5). Obszerne studium o drożdżach osmofilnych opracował Onishi (9). Okazało się, że drożdże osmofilne mogą rozwijać się nie tylko w zagęszczonych sokach, ale również i w środowiskach zawierających nawet ponad 20% chlorku sodu (10). Uzdolnienia takie znalazły odzwierciedlenie i w taksonomii drożdży (8).

Celem tej pracy było zbadanie możliwości rozwoju drożdży w sokach jabłkowych o różnym stopniu zagęszczenia, zawierających od 20 do 60% ekstraktu. Drożdże wyosobniono ze świeżego soku jabłkowego, a po określeniu ich przynależności systematycznej okazało się, że nie należą do grupy drożdży typowo osmofilnych.

MATERIAŁY I METODY

W badaniach użyto sok jabłkowy świeży, niezagęszczony oraz zagęszczany do zawartości 20%, 40% i 60% ekstraktu.

Drożdże wyosobnione z soku jabłkowego należały do następujących gatunków: *Saccharomyces florentinus*, 16 szczepów; *S. italicus*, 4 szczepy; *S. microellipsodes*, 1 szczep; *Kluyveromyces lactis*, 8 szczepów; *Candida sake*, 2 szczepy; *C. tropicalis*, 4 szczepy; *Torulopsis candida*, 1 szczep i *T. versatilis*, 1 szczep. Przynależność rodzajową i gatunkową szczepów określano według Lodder (8).

Zawartość ekstraktu w sokach oznaczano przy pomocy refraktometru, a rozwój drożdży przez liczenie komórek w komorze Thoma, według polskiej normy PN-A-75055/66.

PRZEBIEG I WYNIKI BADAŃ

Podłoża stanowiące soki jabłkowe, zagęszczone do różnej zawartości ekstraktu, po ich wyjałowieniu szczepiono zawiesiną 24-godzinnej hodowli badanych gatunków drożdży. Trzy podłoża zaszczipione zawiesiną drożdży wstawiano do termostatu o temperaturze 28°C, w czwartej zaś określano liczbę komórek w cm³ bezpośrednio po zaszczipieniu. Liczbę komórek w kombinacjach doświadczalnych w objętości cm³ określano po 48, 96 i 120 godzinach hodowli.

W przypadku badania kilku lub kilkunastu szczepów jednego gatunku wyniki oznaczeń liczby komórek podawano — najmniejszą i najwyższą.

Wyniki badań przedstawiono w tab. 1, 2, 3 i 4. Z danych zawartych w tab. 1 widać, że w soku jabłkowym, zawierającym 12% ekstraktu, najintensywniej rozmnażały się drożdże *S. florentinus* i niektóre szczepy z gatunku *Kluyveromyces lactis*, natomiast najslabiej szczep *T. candida*. Dopiero po 120 godzinach hodowli, w zasadzie, liczba komórek w cm³ badanych drożdży była prawie jednakowa (tab. 1).

Podobną dynamikę rozmnażania się jak w soku zawierającym 12% ekstraktu obserwowano w hodowlach prowadzonych w soku jabłkowym zagęszczonym do 20% zawartości ekstraktu. Po 120 godzinach hodowli w cm³ stwierdzano 2,5 do 3 mln komórek. I w tym podłożu drożdże *T. candida* rozwijały się najslabiej (tab. 2).

Tab. 1. Rozwój drożdży w soku jabłkowym zawierającym 12% ekstraktu
Growth of yeasts in apple juice containing 12% extract

Gatunek drożdży	Liczba szcze- pów	Czas hodowli w godz.			
		0	48	96	120
		komórek $n \times 10^4$	komórek $n \times 10^6$	komórek $n \times 10^6$	komórek $n \times 10^6$
<i>Saccharomyces florentinus</i>	16	2,5	0,4-1,44	0,7-3,14	0,4-3,10
<i>Saccharomyces italicus</i>	4	3,6	0,6-1,40	0,6-1,5	0,95-2,50
<i>Saccharomyces microellipsodes</i>	1	3,6	1,7	1,50	1,70
<i>Kluyveromyces lactis</i>	8	3,6	0,37-2,6	0,63-2,90	0,60-2,90
<i>Candida sake</i>	2	3,6	0,62-1,5	1,2-1,80	2,0-2,50
<i>Candida tropicalis</i>	4	3,6	0,42-1,7	0,95-13,3	1,1-2,50
<i>Torulopsis candida</i>	1	3,6	1,25	0,70	0,33
<i>Torulopsis versatilis</i>	1	3,6	1,45	1,78	2,10

Natomiast w soku zawierającym 40% ekstraktu badane szczepy drożdży, z wyjątkiem *T. candida*, rozmnażały się najintensywniej. Po 120 godzinach w cm^3 podłoża stwierdzono obecność 70 do 120 mln komórek, tylko szczepy należące do rodzaju *Torulopsis* różniły się wyraźnie słabą intensywnością rozmnażania się (tab. 3). W wielu przypadkach drożdże hodowane w soku zagęszczonym do 40% ekstraktu osiągały wyższą liczbę komórek po 48 godzinach hodowli niż po 120 godzinach w soku zawierającym 20% ekstraktu.

Intensywność rozmnażania się szczepów badanych gatunków drożdży, hodowanych w soku zawierającym 60% ekstraktu była po 120 godzinach hodowli podobna do obserwowanej w soku zawierającym 20% ekstraktu. Tylko drożdże *C. sake* odznaczały się dziesięciokrotnie większym wgiem rozmnażania od innych. I w tej kombinacji doświadczalnej *C. tropicalis* i *C. versatilis* wyraźnie ujemnie reagowały na wysokie stężeniu ekstraktu przez zwolnienie tempa rozmnażania się (tab. 4).

Tab. 2. Rozwój drożdży w soku jabłkowym zawierającym 20% ekstraktu
Growth of yeasts in apple juice containing 20% extract

Gatunek drożdży	Liczba szcze- pów	Czas hodowli w godz.			
		0	48	96	120
		komórek $n \times 10^4$	komórek $n \times 10^6$	komórek $n \times 10^6$	komórek $n \times 10^6$
<i>Saccharomyces florentinus</i>	16	3,40	1,04-2,07	1,20-2,60	2,07-2,69
<i>Saccharomyces italicus</i>	4	3,40	1,90-2,30	1,40-2,30	1,14-2,30
<i>Saccharomyces microellipsodes</i>	1	3,40	1,40	1,90	1,80
<i>Kluyveromyces lactis</i>	7	3,40	3,06-2,16	0,76-2,50	0,40-2,50
<i>Candida sake</i>	2	3,40	1,50-2,10	1,16-1,50	1,0-2,10
<i>Candida tropicalis</i>	4	3,40	1,50-3,00	1,00-2,50	0,60-3,60
<i>Torulopsis candida</i>	1	3,40	2,00	1,50	1,40
<i>Torulopsis versatilis</i>	1	3,40	1,00	1,40	2,30

DYSKUSJA

Szczepki badanych gatunków drożdży według oceny systematyków (8) nie należą do typowych gatunków osmofilnych, które wykazują biologiczną aktywność w podłożach zawierających powyżej 60% cukru.

Do typowych gatunków drożdży osmofilnych zalicza się *S. rouxii* oraz *S. bailii* var. *osmophilus* (2 i 8), a według Leveau i Bouix (7) rozwijające się przy aktywności wodnej $aw=0,65$. Jednakże można dopatrzeć się podobieństwa pomiędzy badanymi naszymi szczepami drożdży i gatunkami drożdży osmofilnych. Do takich podobnych właściwości Ingram (6) zaliczał ich intensywniejszy rozwój w podłożu zawierającym 40% zawartości ekstraktu niż w środowisku zawierającym 20% ekstraktu. Takie właściwości zostały stwierdzone w toku przedstawionych badań.

Jeżeli przyjąć, że oprócz zagęszczonych soków podobne stężenia cukru zawierają i inne przetwory owocowe, których $aw=0,80$ do 0,75, to i wyosobnione przez nas badane drożdże mogą powodować psucie tych wyrobów. Takie wnioski wysuwali również francuscy badacze (7).

Tab. 3. Rozwój drożdży w soku jabłkowym zawierającym 40% ekstraktu
Growth yeasts in apple juice containing 40% extract

Gatunek drożdży	Liczba szcze- pów	Czas hodowli w godz.			
		0	48	96	120
		komórek $n \times 10^4$	komórek $n \times 10^7$	komórek $n \times 10^7$	komórek $n \times 10^7$
<i>Saccharomyces florentinus</i>	16	3,5	0,25-4,30	1,00-7,20	7,60-7,00
<i>Saccharomyces italicus</i>	4	3,5	1,10-2,15	1,75-7,10	4,70-7,00
<i>Saccharomyces microellipsodes</i>	1	3,5	2,10	4,50	7,00
<i>Kluyveromyces lactis</i>	8	3,5	0,50-2,60	1,85-6,65	4,70-7,00
<i>Candida sake</i>	2	3,5	0,30-0,60	7,00-11,0	7,00-12,0
<i>Candida tropicalis</i>	3	3,5	0,60-3,00	1,10-6,00	5,80-8,10
<i>Torulopsis candida</i>	1	3,5	0,20	0,15	0,14
<i>Torulopsis versatilis</i>	1	3,5	0,23	4,50	3,60

Tab. 4. Rozwój drożdży w soku jabłkowym zawierającym 60% ekstraktu
Growth of yeasts in apple juice containing 60% extract

Gatunek drożdży	Liczba szcze- pów	Czas hodowli w godz.			
		0	48	96	120
		komórek $n \times 10^4$	komórek $n \times 10^5$	komórek $n \times 10^5$	komórek $n \times 10^6$
<i>Saccharomyces florentinus</i>	14	6,8	3,00-13,60	3,60-15,0	0,30-2,50
<i>Saccharomyces italicus</i>	4	6,8	1,20-11,00	1,00-21,00	0,04-2,40
<i>Saccharomyces microellipsodes</i>	1	6,8	12,00	17,00	1,80-2,30
<i>Kluyveromyces lactis</i>	7	6,9	2,40-7,30	3,30-10,50	0,20-1,20
<i>Candida sake</i>	2	6,8	3,00-6,70	1,20-7,30	0,67-12,00
<i>Candida tropicalis</i>	4	6,5	2,00-6,70	0,10-9,30	0,20-0,27
<i>Torulopsis versatilis</i>	1	6,40	4,70	6,50	0,72

WNIOSKI

1. Intensywność rozmnażania się badanych drożdży w sokach zawierających 12 i 20% ekstraktu była podobna.

2. Największy przyrost komórek badanych szczepów drożdży w okresie 120-godzinnej hodowli występował w soku zawierającym 40% ekstraktu.

3. Podłoże zawierające 60% ekstraktu umożliwiało rozmnażanie się drożdży wyosobnionych z soku jabłkowego na poziomie obserwowanym w kombinacji z 20% ekstraktu.

4. Spośród badanych szczepów drożdży należących do czterech rodzajów i 8 gatunków jedynie należące do rodzaju *Torulopsis* odznaczały się mniejszym od innych wigorem rozmnażania się w sokach jabłkowych o podwyższonych stężeniach ekstraktu.

5. Wydaje się celowe zbadanie ciepłoporności drożdży soków jabłkowych, dla określenia optymalnych parametrów utrwalania tego wyrobu.

PIŚMIENNICTWO

1. Bombalov G.: Veränderung des Verhältnisses Glukose: Fruktose im Traubenkonzentrat durch Hefen der Gattung Zygosaccharomyces. Weinberg u. Keller, 17, 37, 1970.
2. Dąbkowski W.: Drożdże osmofilne miodów pszczelich i ich uzdolnienia do wytwarzania alkoholi wielowodorotlenowych. Praca doktorska, WSR, Lublin 1965.
3. Dłużewski M.: Charakterystyka drożdży wywołujących fermentację syropów owocowych i stężonego soku gronowego. Acta Microb. Polon. 5, 241, 1956.
4. Faville L. W., Hill E. C., Parish E. C.: Survival of microorganisms in concentrated orange juice. Food Techn. 1, 33, 1951.
5. Górecka H., Bujak S.: Osmofilne drożdże zagęszczonych soków jabłkowych. Cz. I. Botaniczny skład drożdży występujących w zagęszczonych sokach jabłkowych oraz wpływ składu podłoża na zarodnikowanie tych drożdży. Prace Instyt. Lab. Przem. Spoż. XXIII, 2, 245, 1973.
6. Ingram M.: Comparisons of Different Media for Counting Sugar Tolerant Yeasts in Concentrated Orange Juice. J. Appl. Bact. 22, 234, 1959.
7. Leveau J. V., Bouix M.: Etude des conditions extrêmes de croissance des levures osmophiles. Industr. Aliment. Agric. 1147, 1979.
8. Lodder J.: The Yeasts. A Taxonomic Study. North-Holland Publ. Comp., Amsterdam 1970.
9. Onishi H.: Osmophilic Yeasts. Adv. Food Res. 12, 53, 1963.
10. Sheena S. R., Morris E. O.: Effect of Sodium Chloride on the Growth of Certain Yeasts of Marine Origin. J. Sci. Food. Agric. 13, 467, 1962.

РЕЗЮМЕ

Исследовали интенсивность размножения 37 штаммов дрожжей в яблочных соках, содержащих 12, 20, 40 и 60% экстракта. Дрожжи принадлежали к следующим видам: *Saccharomyces florentinus*, *S. italicus*, *S. microellipsodes*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida sake*, *C. tropicalis*, *Torulopsis candida*, *T. versatilis*.

В результате выращивания штаммов дрожжей в течение 48, 96 и 120 часов было установлено, что со сходной интенсивностью размножались дрожжи в соках, содержащих 12 и 20% экстракта. Самое интенсивное развитие наблюдалось в соке, содержащем 40% экстракта.

Интенсивность размножения этих штаммов дрожжей в соке, содержащем 60% экстракта, была сходна с интенсивностью, наблюдаемой в неконденсированном и конденсированном (содержание экстракта до 20%) соках.

SUMMARY

Intensity of the reproduction of 37 straining yeasts in apple juice containing 12%, 20%, 40% and 60% extract. Yeasts belonged to the following species: *Saccharomyces florentinus*, *S. italicus*, *S. microellipsodes*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida sake*, *C. tropicalis*, *Torulopsis candida* and *T. versatilis*. It was stated during 48, 92 and 120 hours that yeasts multiplied with similar intensity in juice containing 12 and 20% extract. The most intensive growth was observed in the juice containing 40% extract.

In the juice containing 60% extract, intensity of reproduction of the investigated strains of yeasts was similar to that observed in thickened and non-thickened juices with 20% extract.