

IRSTI: 62.09.99

G.M. KALDYBEKOVA¹, SH.N. AKHMETSADYKOVA²,
A.A. SAPARBEKOVA¹, M. VINCEKOVIĆ³

¹M. Auezov South Kazakhstan University, Shymkent, Kazakhstan

²Kazakh research institute of livestock and fodder production, Almaty, Kazakhstan

³University of Zagreb, Zagreb, Croatia

*e-mail: freelife.1986@mail.ru

OBTAINING PROTEIN HYDROLYZATE FROM RESIDUAL BREWER'S YEAST FOR USE AS A FEED ADDITIVE

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.15

Abstract

The object of study was yeast waste from a brewery located in Shymkent. The amount of waste produced from yeast of the species *Saccharomyces cerevisiae* currently ranks second in beer production. When producing one dal of beer, on average, about 3 kg of residual yeast is formed, which, in modern brewery capacities, results in hundreds of tons of waste per month. This waste has a short shelf life, which is further shortened in summer due to the heat. The problem is compounded by the fact that to meet consumer demand in the summer, manufacturers increase production. The application of spent yeast as animal feed in the form in which it leaves production is complicated by the presence of a bitter taste.

In this work, yeast was used up to the 10th generation inclusive, similar to the generation numbers directly in production. During the experiment, the initial bitterness of the yeast, with a value of 84.2 BU, was completely eliminated through treatment with a complex of chemical and physical methods. During the production process up to and including the 3rd generation, the number of surviving cells of the treated yeast was 100-98%, but by the 10th generation this figure dropped to 30%. After treating the residual yeast of 4-10 generations with ultrasound, the activity of the yeast cells completely stops. During the experiment, a protein hydrolyzate was obtained, and data on its physicochemical parameters were obtained. The protein content was 61.5%, including the essential amino acid of lysine 9.3%, and fat content was 2.85%.

Keywords: waste, residual yeast, generation, *S. cerevisiae*, vitamins.

In the modern world, one of the pressing problems is the effective use of production waste as secondary resources. Many types of production in our country are accompanied by the generation of waste, which has a negative impact on the environment [1]. One of the byproducts of production is residual yeast generated in the course of beer production, primarily composed of *S. cerevisiae* cells. These cells play a pivotal role in converting sugars present in the wort into ethyl alcohol and carbon dioxide, as well as in the generation of secondary compounds throughout the fermentation stages. [2].

Due to its composition, *S. cerevisiae* yeast can be used as animal feed, having a positive effect on animal health and productivity [3-4]. In addition, the trend towards reducing and stopping the use of antibiotics contributes to the active search for natural compounds that improve the health and productivity of animals [5]. The yeast *S. cerevisiae* can be used in active, inactive and enriched forms [6]. Currently, the use of residual yeast formed during the brewing process is widely used as a cheap source of protein, minerals and B vitamins in animal feed. Residual yeast can be supplied as a liquid suspension or in dry form [7].

Nevertheless, a significant issue is linked to the restricted shelf life of residual yeast. Simultaneously, the utilization of cells in their entirely native form may pose complications when fully assimilated within the body [8].

Another noteworthy obstacle hindering the utilization of these byproducts as feed is the apparent bitterness of residual yeast, which arises from the iso-alpha acids formed in hops when added to the wort [9].

To address these challenges, methodologies are employed with the objective of deactivating cell membranes and extending the vitality of yeast cells. This facilitates an enhancement in the concentration of nutritional components and an improvement in the digestibility of cellular substances [10]. In this context, unconventional approaches are applied for the elimination of residual brewer's yeast, specifically employing diverse techniques to compromise the membranes of yeast cells [11].

The purpose of the work is to investigate the properties of residual yeast for use as a secondary resource material.

Materials and methods of research

Materials of research

The material of investigation encompasses residual yeast byproducts derived from a brewery situated in the city of Shymkent. The primary strain of dry yeast employed in beer production is *S.cerevisiae*, constituting a living microorganism characterized as a non-pathogenic, single-celled microscopic fungus. The residual yeast cells undergo separation at the culmination of the bulk fermentation process, with a minor portion designated for re-fermentation and the remainder classified as waste. In the course of beer production, yeast is utilized for up to the 10th generation. Notably, the production of 550 hectoliters of beer results in the generation of approximately 1600 kilograms of residual brewer's yeast.

Methods of research

The moisture content of residual yeast, mass fractions of ash, crude protein and lipids were determined according to GOST 28178-89.

Staining of *S.cerevisiae* cells was carried out using the Gram method [13].

Determination of acidity of residual brewer's yeast.

To extract acidic substances, 10 ml of residual yeast, 1 ml of 3N hydrochloric acid and 20 ml of isooctane were added to a centrifuge flask with a capacity of 50 ml, after shaking on a laboratory shaker for 10 minutes at 1250 rpm, shaken, then centrifuged at 3000 rpm for 4 minutes, kept in the dark for 30 minutes, and then the optical density of the clear extract was measured using a spectrophotometer (Cary-50 dual beam scanning spectrophotometer (Varian)) at a wavelength of 275 nm relative to pure isooctane.

Throughout the course of the study, procedures were implemented to mitigate the bitter taste of the yeast. This involved a sequence of steps, commencing with the washing of the yeast using water, followed by centrifugation for a duration of 5 minutes at a velocity of 3000 revolutions per minute (rpm). Subsequently, homogenization was conducted under a pressure of 20 atmospheres utilizing an ultrasonic homogenizer (HD 410). Following the homogenization process, the yeast underwent immersion in an alkaline solution for a duration of 10 minutes at a temperature of 60 °C. Subsequent to this immersion, neutralization was achieved by employing hydrochloric acid to adjust the pH to 7, and the yeast was subsequently subjected to drying through a freeze-drying process, utilizing a freeze dryer model LGJ-1A-80 (refer to Figure 1).

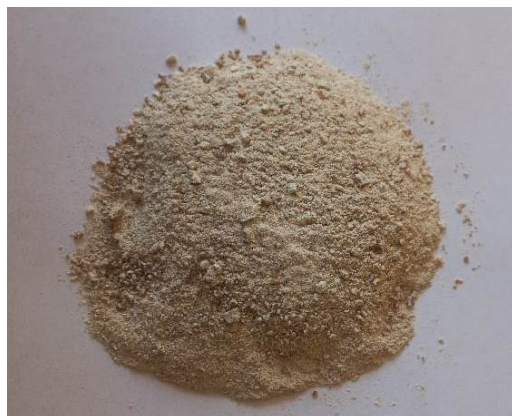


Figure 1 - Dried yeast in a freeze dryer

The content of vitamins and amino acids in residual brewer's yeast was determined using a high-performance liquid chromatograph (Varian ProStar (Varian, Australia)).

Results and discussion

In the course of the brewing process, hops are introduced to the wort, imparting a bitter taste to the beer attributed to the presence of alpha and beta isoacids in its composition. Following fermentation, the discarded yeast retains this bitter taste, rendering it unsuitable for utilization as feed for livestock.

During the experimental phase, the initial bitter taste of residual yeast, quantified at 84.2 Bitterness Units (BU), was completely eradicated, resulting in a measure of 0 BU. Post-lyophilization, the integrity of the yeast cells was scrutinized employing a JSM-6490LM scanning electron microscope equipped with an INCA Energy 350 energy-dispersive microanalysis system (refer to Figure 2).

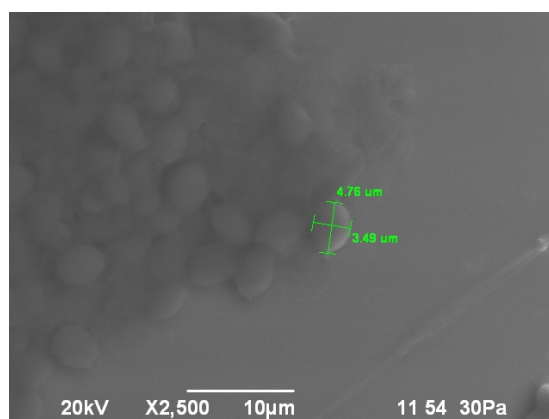


Figure 2 - Appearance of yeast after lyophilization

As can be seen, after processing and drying the residual yeast, the yeast cell membrane was not damaged.

Optical microscope observations showed that residual yeast survived the treatment and remained active afterwards (Figure 3). The number of living yeast cells from the 1st to the 10th generation was studied separately. Living cells in 1 ml of a suspension of treated residual yeast were detected using a Goryaev chamber. If the number of surviving cells after the 1st and 3rd generations of treated yeast was 100-98%, then it can be observed that by the 10th generation this figure dropped to 30%.

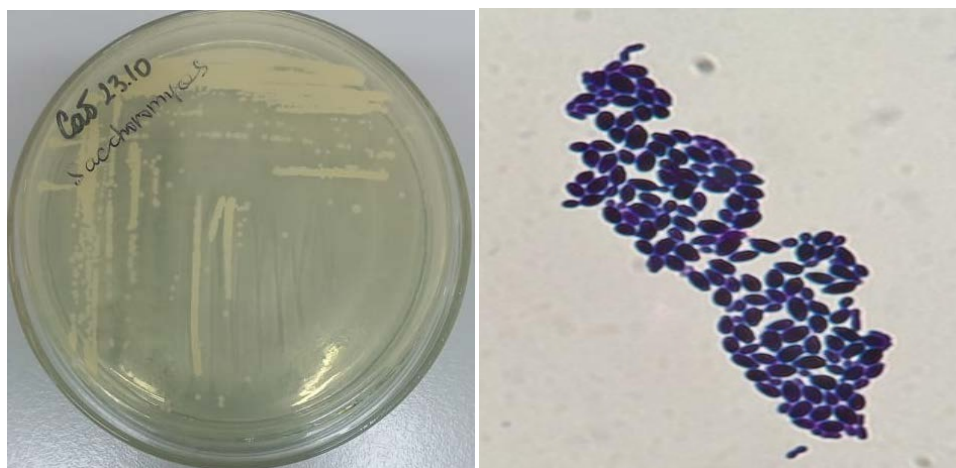


Figure 3- *S.cerevisiae*: a) colonies on Sabouraud agar;b) microphotography (magnification x 1000)

On Sabouraud agar medium, *S.cerevisiae* manifests as diminutive circular colonies exhibiting a white or grayish-white hue, characterized by smooth peripheries, convex topography, and a soft consistency.

Adding live yeast *S.cerevisiae* to the feed ration improves nutrient and nitrogen absorption [13], as this yeast strain accelerates the growth of fibrolytic bacteria in the rumen of animals [14]. In this regard, in the future, the possibilities of using yeast cells of 1-3 generations as a probiotic will be studied. The possibility of using protein hydrolysate as a source of biologically active substances has been studied for yeast cells of 4-10 generations.

To increase the release of intracellular metabolites from generation 4-10 cells by damaging their cell membrane, the ultrasonic disintegration method was used (200W ultrasonic device UP200St). This method allows the release of intracellular components from the cell with the least energy expenditure.

The viability of yeast after using the ultrasonic disintegration method was checked by sowing them on Sabouraud agar medium. As a result, the vital activity of the cells was not observed, which indicates the effectiveness of the method for destroying the cell membrane.

The chemical composition of residual brewer's yeast that has undergone decomposition has been studied, the results are presented in Table 1. According to the results, liquid waste from brewing production should be considered as a valuable secondary raw material, since it contains a sufficient amount of nitrogenous compounds, carbohydrates, fats, minerals and vitamins [15].

Table 1 - Chemical and mineral composition of yeast after ultrasonic disintegration

Indicator name	Content
Mass fraction of protein, %	62,3
Mass fraction of lipid, %	2,7
Sodium, mg /100g	1118
Potassium, mg /100g	8037
Calcium, mg /100g	26,1
Magnesium, mg /100g	259

One of the arguments in favor of processing beer waste into animal feed is its high content of vitamins necessary for the organism. The composition of water-soluble vitamins in brewer's yeast was studied using a Varian ProStar high-performance liquid chromatograph on a reverse-phase column. The results of the study are presented in Table 2. As the number of generations increased, a quantitative change in the content of a number of water-soluble vitamins was observed, while their qualitative composition remained the same.

Table 2 - Vitamin composition of yeast after ultrasonic disintegration

Indicator name	Generation number							Average value
	4	5	6	7	8	9	10	
	Content							
Vitamin B1, mg/kg	1,14	1,12	1,11	1,11	1,08	1,08	1,06	1,1±0,03
Vitamin B2, mg/kg	10,2	10,2	10,5	10,5	11,0	11,0	11,0	10,63±0,37
Vitamin B3, mg/kg	45	45	45	43	43	43	43	43,86±1,07
Vitamin B6, mg/kg	2,5	2,5	2,5	2,6	2,6	2,6	2,6	2,66±0,05
Vitamin B12, mg/kg	0,6	0,6	0,6	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59±0,005

To assess the protein value of the resulting hydrolysate, its amino acid composition was studied on a Varian ProStar high-performance liquid chromatograph on a reverse-phase column. The results of the study are presented in Table 3. As can be seen from the table, the hydrolysate contains all the proteinogenic amino acids necessary for animals.

Table 3 - Amino acid composition of residual brewer's yeast after ultrasonic disintegration

Amino acids	Amino acids, g/100 g dry product							Average value
	generation number							
	4	5	6	7	8	9	10	
Essential amino acid	35,1	34,1	34,9	34,5	35,3	35,5	35,3	34,96±1,54
Cysteine	1,8	1,7	1,8	1,6	1,8	1,9	1,8	1,77±0,1
Histidine	2,8	2,6	2,8	2,7	2,9	2,8	2,8	2,77±0,1
Arginine	4,9	4,9	4,8	4,7	5,0	4,8	4,9	4,85±0,1
Alanin	0,7	0,6	0,8	0,6	0,7	0,7	0,7	0,69±0,07
Asparticacid	0,7	0,7	0,8	0,8	0,6	0,7	0,8	0,73±0,74
Glutamicacid	13,5	13,4	13,5	13,3	13,4	13,5	13,5	13,44±0,08
Serin	1,3	1,2	1,1	1,3	1,3	1,4	1,3	1,27±0,1
Glycine	3,7	3,6	3,6	3,7	3,8	3,8	3,9	3,73±0,11
Tyrosine	5,7	5,4	5,7	5,8	5,8	5,9	5,6	5,7±0,16
Nonessential amino acids	26,6	26,4	26,2	26,2	26,5	26,7	26,8	26,49±0,49
Threonine	5,5	5,5	5,3	5,5	5,4	5,5	5,4	5,44±0,08
Methionine	2,3	2,3	2,2	2,1	2,3	2,3	2,4	2,27±0,1
Lysine	9,3	9,2	9,2	9,3	9,4	9,5	9,5	9,34±0,13
Valin	5,4	5,4	5,3	5,2	5,2	5,3	5,5	5,32±0,11
Phenylalanine	4,1	4,0	4,2	4,1	4,2	4,1	4,0	4,1±0,08

Based on the results of the research, the following stages have been identified in the process of extracting protein hydrolysate from brewer's yeast residues:

- reception of raw materials;
- eliminating the bitterness of brewer's yeast residues;
- ultrasonic treatment;
- drying the hydrolysate in a spray dryer;
- packaging and storage.

The physicochemical characteristics of the proposed product in the form of a protein hydrolysate are given in Table 4.

Table 4 - Physico-chemical characteristics of the product offered in the form of protein hydrolysate

Product	Mass fraction, %			
	moisture	minerals	protein	fat
Proteinhydrolysate	7,5	5,4	61,5	2,85

The protein hydrolysate derived from residual brewer's yeast byproducts may subsequently serve as a comprehensive animal feed, distinguished by its elevated protein content and vitamin composition.

Conclusion

Based on the results obtained, the following conclusions can be drawn: when processing yeast waste, the bitterness of yeast was completely eliminated. When processing and drying yeast residues in a lyophilizer after the 1st and 3rd generations, the survival rate of yeast remained at the level of 100-98%, and after the 10th generation this figure decreased to 30%. After the 4th and 10th generation, when residual yeast is treated with ultrasound, the activity of yeast cells completely stops. The content of individual vitamins changes as the number of generations increases, while the qualitative vitamin composition is maintained. The protein content in the product offered in the form of protein hydrolysis is 61.5%, including the essential amino acid lysine 9.3%

References:

- 1 Schlabit C., Lehn D., Volken de Souza C.F. A review of *Saccharomyces cerevisiae* and the applications of its byproducts in dairy cattle feed: Trends in the use of residual brewer's yeast. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 332: 130059 (doi:10.1016/j.jclepro.2021.130059)
- 2 Maicas S. The Role of Yeasts in Fermentation Processes. *Microorganisms*, 2020, 8: 1142 (doi:10.3390/microorganisms8081142)
- 3 Pang Y., Zhang H., Wen H., Wan H., Wu H., Chen Y., Li S., Zhang L., Sun X., Li B. and Liu X. Yeast Probiotic and Yeast Products in Enhancing Livestock Feeds Utilization and Performance: An Overview. *Journal Fungi (Basel)*, 2022, 8: 1191 (doi:10.3390/jof8111191)
- 4 Elghandour M. M. Y., Tan Z. L., Abu Hafsa S. H., Adegbeye M. J., Greiner R., Ugbogu E. A., Cedillo Monroy J., Salem A. Z. M. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* as a probiotic feed additive to non and pseudo-ruminant feeding: a review. *Journal Appl Microbiol*, 2020, 128(3): 658-674 (doi: 10.1111/jam.14416)
- 5 Alugongo G. M., Xiao J. X., Chung Y. H., Dong S. Z.; Li S. L., Yoon I., Wu Z. H., Cao Z.J. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on dairy calves: Performance and health. *Journal Dairy Science*, 2017, 100(2): 1189-1199 (doi.org/10.3168/jds.2016-11399)
- 6 Jiang Y., Ogunade I.M., Arriola K.G., Qi M., Vyas D., Staples C.R., Adesogan A.T.(2017). Show more Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Ruminal fermentation, performance of lactating dairy cows, and correlations between ruminal bacteria abundance and performance measures. *Journal of dairy science*, 2017, 100,(10): 8102-8118 (doi: 10.3168/jds.2016-12371)
- 7 Mosoni P., Chaucheyras-Durand F., Béra-Maillet C., Forano E. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *Appl Microbiol*, 2007, 103(6): 2676-85 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x)
- 8 Tao Z., Yuan H., Liu M., Liu Q., Zhang S., Liu H., Jiang Y., Huang D., Wang T. Yeast Extract: Characteristics, Production, Applications and Future Perspectives. *Journal Microbiol Biotechnology*, 2023, 33(2):151–166 (doi: 10.4014/jmb.2207.07057)
- 9 Guedes C.M., Gonçalves D., Rodrigues M.A.M., Dias-da-Silva A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 145(s 1–4):27–40 (doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.037)
- 10 Faradzheva E. D., SHahov S. V., Korablin R. V., Pribytkov A. V. (2002). Novye vidy biologicheskii aktivnykh dobavok iz vtorichnykh resursov pivovareniya. *Sb. nauch. tr. Voronezh. gos. tekhnol. akad.*, 12, 59 – 61.
- 11 Liu D., Ding L., Sun J., Boussetta N., Vorobiev E. Yeast cell disruption strategies for recovery of intracellular bio-active compounds — A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2016, 36:181-192 (doi:10.1016/j.ifset.2016.06.017)
- 12 GOST - 28178-87. Fodder yeast. Test methods. (<https://docs.cntd.ru/document/1200024383>).
- 13 Eremina I.A., Kriger O.V. *Laboratornyj praktikum po mikrobiologii. Uchebnoe posobie. Kemerovskij tehnologicheskij institute pishhevoj promyshlennosti*. Kemerovo, 2005.
- 14 Bitencourt L.L., Silva J.R.M., de Oliveira B.M.L., Dias Júnior G.S., Lopes F., Siécola Júnior S., Zaccaroni O., de F., Pereira M.N. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Scientia Agricola*, 2011, 68: 301-307 (doi.org/10.1590/S0103-90162011000300005)
- 15 Mosoni P., Chaucheyras-Durand F., Béra-Maillet C., Forano E. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *J. Appl. Microbiol*, 2007, 103: 2676–2685 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x.)
- 16 Mahneva, E. YU., Pavlov I. N. (2013). Perspektivy ispol'zovaniya i ocenka pivnykh drozhzhej. *Bijskij tekhnologicheskij institut (filial) Altajskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta im. I. I. Polzunova*, g. Bijsk : sb. tr. konf., 489 – 493.

Г.М. КАЛДЫБЕКОВА^{1*}, Ш.Н. АХМЕТСАДЫКОВА²,
А.А. САПАРБЕКОВА¹, М. ВИНЦЕКОВИЧ³

¹М. Әуезов атындағы Оңтүстік-Қазақстан университеті, Шымкент, Қазақстан

²Қазақ мал шаруашылығы және жемшөп өндірісі ғылыми зерттеу институты, Алматы,
Қазақстан

³ Загреб Университеті, Загреб, Хорватия

*e-mail:freelife.1986@mail.ru

АЗЫҚТЫҚ ҚОСПА РЕТІНДЕ ҚОЛДАНУҒА АРНАЛҒАН АҚУЫЗ ГИДОЛИЗАТЫН ҚАЛДЫҚ СЫРА АШЫТҚЫЛАРЫНАН АЛУ

Түйін

Зерттеу нысаны ретінде Шымкент қаласында орналасқан сыра қайнату зауытының қалдық ашытқылары қолданылды. *Saccharomyces cerevisiae* ашытқы түрлерінен өңделіп шығатын қалдық мөлшері, бүгінгі таңда, сыра өндірісінде екінші орынға ие. Бір дал сыра қайнату үшін, орташа есеппен 3 кг қалдық ашытқылары түзіледі, ал заманауи сыра қайнату зауыттардың көлеміне байланысты бұл қалдық бір айда жүздеген тоннаға дейін жетеді. Бұл қалдықты сақтау мерзімі өте қысқа, ал жазғы уақыттың ыстығына байланысты қосымша қысқарады. Мұнда туындап тұрған мәселе, тұтынушылық сұранысты қанағаттандыру үшін, жазғы уақытта өндіріс қуаттылығы жоғарлайды. Қалдық сыра ашытқыларын, тікелей өндірістен шыққан күйінде малға азық ретінде қолдануда, оның өткір жағымсыз дәміне байланысты күрделене түсті.

Жұмыста 10-шы генерацияға дейінгі ашытқылар қолданылды, тікелей өндірістің генерация нөміріне сәйкес. Зерттеу барысында қалдық сыра ашытқылардың бастапқы өткір дәмінің мәні 84,2 BU болды, оны химиялық және физикалық әдістермен кешенді өңдеу арқылы толығымен жойылды. Өндіріс орындарындағы 3-ші генерацияға дейінгі өңделген ашытқы жасушалардың өміршеңдігі 100-98% құрайды, дегенімен 10-шы генерацияға дейін бұл көрсеткіш 30%-ға дейін түседі. 4-10 генерациядан кейінгі қалдық ашытқыларды ультрадыбыспен өңдегеннен кейін, жасушалардың белсенділігі толығымен тоқтайды. Зерттеу барысында ақуыз гидролизаты алынды және оның физика-химиялық көрсеткіштері туралы мәліметтер алынды: ақуыз мөлшері 61,5%, соның ішінде алмастырылмайтын амин қышқылы 9,3%, май мөлшері 2,85 %.

Кілтті сөздер: қалдықтар, қалдық ашытқылар, генерация, *S. cerevisiae*, дәрумендер.

МРНТИ: 62.09.99

Г.М. КАЛДЫБЕКОВА^{1*}, Ш.Н. АХМЕТСАДЫКОВА²,
А.А. САПАРБЕКОВА¹, М. ВИНЦЕКОВИЧ³

¹Южно-Казахстанский университет им. М. Ауэзова, Шымкент, Казахстан

²Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства,
Алматы, Казахстан

³ Университет Загреб, Загреб, Хорватия

*e-mail:freelife.1986@mail.ru

ПОЛУЧЕНИЕ БЕЛКОВОГО ГИДРОЛИЗАТА ИЗ ОСТАТОЧНЫХ ПИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.15

Аннотация

В качестве объекта исследования были использованы отходы дрожжей пивоваренного завода, расположенного в городе Шымкент. Количество производимых отходов из дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* на сегодняшний день занимают второе место в производстве пива. При производстве одного дала пива, в среднем, образуется около 3 кг остаточных дрожжей, что, при современных мощностях пивоваренных заводов, сотни тонн отходов в месяц. Эти отходы имеют

малый срок хранения, который в летний период дополнительно сокращается из-за жары. Проблема усугубляется тем, что для удовлетворения потребительского спроса летом производители наращивают производство. Применение отработанных дрожжей в качестве корма для животных в том виде, в каком они выходят с производства, осложнено наличием у них горького вкуса.

В работе использовались дрожжи до 10-й генерации включительно, аналогично номерам генераций непосредственно на производстве. В ходе эксперимента начальную горечь дрожжей, в значении 84,2 BU, удалось полностью устранить путем обработки комплексом химических и физических методов. В процессе производства до 3-й генерации включительно количество выживших клеток обработанных дрожжей составляло 100–98%, однако к 10-й генерации этот показатель снизился до 30%. После обработки остаточных дрожжей 4–10 генераций ультразвуком активность дрожжевых клеток полностью останавливается. В ходе эксперимента получен белковый гидролизат, и данные о его физико-химических показателях: содержание белка составило 61,5%, том числе незаменимой аминокислоты лизина - 9,3%, содержание жира - 2,85%.

Ключевые слова: отходы, остаточные дрожжи, генерация, *S.cerevisiae*, витамины.

В настоящее время одной из актуальных проблем всего мира является использование отходов спиртового производства в качестве вторичного ресурсного материала. Отходы многих производств нашей страны оказывают негативное воздействие на окружающую среду [1]. Одним из видов таких отходов являются остаточные пивные дрожжи, образующиеся в процессе производства пива и состоящие в основном из клеток *S. cerevisiae*, отвечающих за трансформацию содержащихся в сусле сахаров в этиловый спирт, углекислый газ и образование вторичных соединений на стадиях брожения [2].

Благодаря своему составу дрожжи *S. cerevisiae* используются в качестве корма для животных, что положительно влияет на здоровье скота и, соответственно, на продуктивность [3-4]. Кроме того, тенденция к сокращению и прекращению использования антибиотиков способствует активному поиску природных соединений, улучшающих здоровье и продуктивность животных [5]. *S. cerevisiae* можно использовать в активной, неактивной и обогащенной форме [6]. В настоящее время известно и широко применяется использование остаточных дрожжей, образующихся в процессе пивоварения, в качестве дешевого источника белка, минеральных веществ и витаминов группы Вв кормах для животных. Остаточные дрожжи могут поставляться в виде жидкой суспензии или в сушеном виде [7].

Однако серьезным недостатком использования остаточных пивных дрожжей является то, что они имеют малый срок хранения, и в то же время использование клеток целиком в нативном виде может приводить к некоторым осложнениям при их полном усвоении в организме [8].

Другой важной проблемой, препятствующей использованию этих отходов в качестве корма, является ощутимая горечь остаточных дрожжей, возникающая из-за образующихся в хмеле изо-альфа кислот при добавлении в сусло [9].

Для устранения указанных недостатков применяют методы, вызывающие инактивацию клеточной мембраны и останавливающие жизнь клеток, что увеличивает количество питательных компонентов в запасе и увеличивает усвояемость клеточных веществ [10]. В связи с этим для удаления остаточных пивных дрожжей применяют нетрадиционные методы, в частности, различные методы повреждения мембран дрожжевых клеток [11].

Цель работы – исследовать свойства остаточных дрожжей для использования в качестве вторичного ресурсного материала.

Материалы и методы исследования

Материалы исследования

Материал исследования – остаточные дрожжевые отходы пивоваренного завода, расположенного в городе Шымкент. В основном при производстве пива используются

сухие дрожжи *S. cerevisiae*. Остаточные дрожжевые клетки отделяются в конце процесса массового брожения. Небольшое их количество используется для повторного брожения, а остальная часть является отходами. При производстве пива дрожжи используются до 10-ой генерации. При приготовлении 550 дал пива за один производственный цикл образуется около 1600 кг остаточных пивных дрожжей.

Методы исследования

Влажность остаточных дрожжей, массовые доли золы, сырого протеина и липидов определяли по ГОСТ 28178-89[12].

Окрашивание клеток *S. cerevisiae* проводилось по методу Грамма [13].

Определение кислотности остаточных пивных дрожжей.

Для извлечения кислых веществ в центрифужную колбу емкостью 50 мл добавляли 10 мл остаточных дрожжей, 1 мл 3н. соляной кислоты и 20 мл изооктана, после встряхивания на лабораторном шейкере в течение 10 мин при 1250 об/мин центрифугировали при 3000 об/мин в течение 4 минут, выдерживали 30 минут в темноте, а затем измеряли оптическую плотность прозрачного экстракта на спектрофотометре (двухлучевой сканирующий спектрофотометр Cary-50 (Varian)) при длине волны 275 нм относительно чистого изооктана.

В процессе работы проводилась обработка с целью удаления горького вкуса у дрожжей. Для этого дрожжи промывались водой и центрифугировались в течение 5 минут со скоростью 3000 об/мин. Затем проводили их гомогенизацию при 20 атм. (ультразвуковой гомогенизатор HD 410). После гомогенизации дрожжи выдерживали в щелочном растворе в течение 10 минут при температуре +60°C, нейтрализовали соляной кислотой до pH 7 и высушивали в лиофильной сушилке (лиофильная сушка LGJ-1A-80) (рисунок 1).

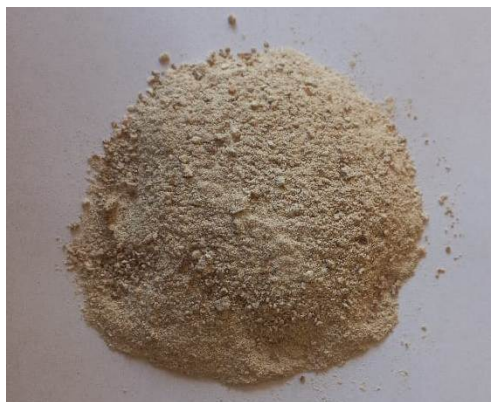


Рисунок 1 - Дрожжи, высушенные в лиофильной сушилке

Содержание витаминов и аминокислот в остаточных пивных дрожжах определяли на высокоэффективном жидкостном хроматографе (Varian ProStar (Varian, Австралия)).

Результаты и обсуждение

В процессе пивоварения в сусло добавляют хмель, который, благодаря присутствующим в его составе альфа- и бета-изокилотам, придает пиву горьковатый привкус. После брожения отбрасываемые дрожжи сохраняют вкус горечи, что делает их непригодными для применения в качестве корма для сельскохозяйственных животных.

В ходе эксперимента горький вкус остаточных дрожжей, при начальном значении 84,2 BU, удалось полностью устранить (0 BU) .

После лиофилизации целостность дрожжевых клеток исследовали с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-6490LM с системой энергодисперсионного микроанализа INCA Energy 350 (рисунок2).

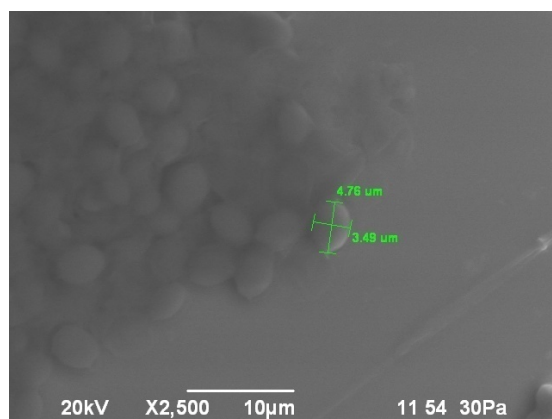


Рисунок 2- Внешний вид дрожжей после лиофилизации

Как видно, после обработки и высушивания остаточных дрожжей мембрана дрожжевых клеток не пострадала.

Микроскопические исследования показали, что остаточные дрожжи выживают в процессе обработки и сохраняют активность (рисунок3). Численность живых клеток дрожжей с 1-й по 10-ю генерацию изучали отдельно. Живые клетки в 1 мл суспензии обработанных остаточных дрожжей выявляли с помощью камеры Горяева. Если количество выживших клеток после 1-й и 3-й генерации обработанных дрожжей составляло 100-98%, то можно наблюдать, что к 10-й генерации этот показатель снизился до 30%.

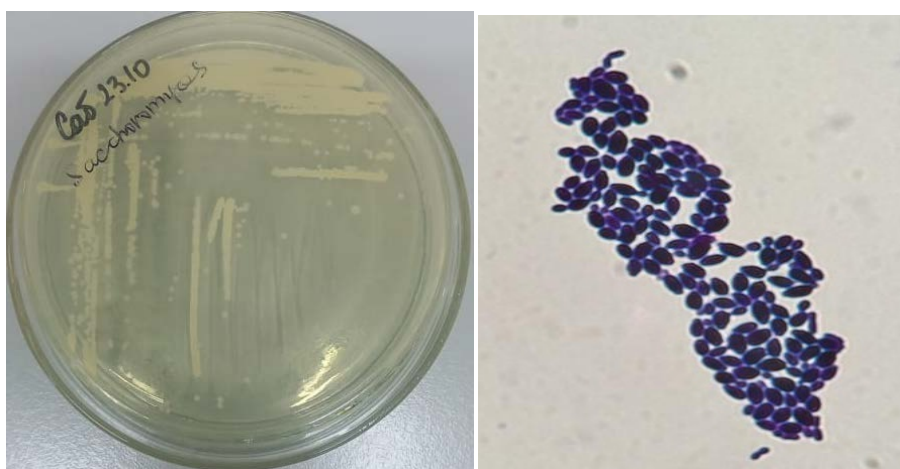


Рисунок 3 - *S.cerevisiae*: а) колонии на агаре с Сабуро; б) микрофотография(увл. x 1000)

На агаре Сабуро *S.cerevisiae* образует мелкие круглые колонии белого или серовато-белого цвета с ровными краями, выпуклые, мягкой консистенции.

Добавление в кормовой рацион живых дрожжей *S.cerevisiae* способствует улучшению усвоения питательных веществ и азота [14], поскольку данный штамм дрожжей ускоряет рост фибролитических бактерий в рубце животных[15]. В связи с этим, в будущем будет проведено изучение возможностей использования клеток дрожжей 1-3 генераций в качестве пробиотика. Возможность использования в качестве источника биологически активных веществ, то есть гидролизата белка, изучена для клеток дрожжей 4-10 генераций.

Для увеличения высвобождения внутриклеточных метаболитов клеток 4-10 генераций путем повреждения их клеточной мембраны применялся метод ультразвуковой

дезинтеграции (ультразвуковое устройство UP200St мощностью 200 Вт). Этот метод позволяет высвободить внутриклеточные компоненты из клетки с наименьшими затратами энергии.

Жизнеспособность дрожжей после применения метода ультразвуковой дезинтеграции проверяли путем посева на агаризованную среду Сабуро. В результате жизненная активность клеток не наблюдалась, что указывает на результативность метода для разрушения клеточной мембраны.

Изучен химический состав остаточных пивных дрожжей, подвергшихся распаду, результаты представлены в таблице 1. Согласно результатам жидкие отходы пивоваренного производства следует рассматривать как ценное вторичное сырье, поскольку они содержат достаточное количество азотистых соединений, углеводов, жиров, минеральных веществ и витаминов [16].

Одним из аргументов в пользу переработки отходов пивного производства в корма для животных является большое содержание в них необходимых для организма витаминов.

Таблица 1 - Химический и минеральный состав дрожжей после ультразвуковой дезинтеграции

Наименование показателя	Содержание
Массовая доля белка, %	62,3
Массовая доля липида, %	2,7
Натрий, мг/100г	1118
Калий, мг/100г	8037
Кальций, мг/100г	26,1
Магний, мг/100г	259

Исследование состава водорастворимых витаминов в пивных дрожжах проводилось на высокоэффективном жидкостном хроматографе Varian ProStar на колонке с обращенной фазой. Результаты исследования представлены в таблице 2. По мере увеличения числа генераций наблюдалось количественное изменение содержания ряда водорастворимых витаминов, при этом их качественный состав оставался прежним.

Таблица 2 - Витаминный состав дрожжей после ультразвуковой дезинтеграции

Наименование показателя	Номер генерации							Среднее значение
	4	5	6	7	8	9	10	
	содержание							
Витамин В1, мг/кг	1,14	1,12	1,11	1,11	1,08	1,08	1,06	1,1±0,03
Витамин В2, мг/кг	10,2	10,2	10,5	10,5	11,0	11,0	11,0	10,63±0,37
Витамин В, мг/кг	45	45	45	43	43	43	43	43,86±1,07
Витамин В6, мг/кг	2,5	2,5	2,5	2,6	2,6	2,6	2,6	2,66±0,05
Витамин В12, мг/кг	0,6	0,6	0,6	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59±0,005

Для оценки белковой ценности полученного гидролизата провели исследование его аминокислотного состава на высокоэффективном жидкостном хроматографе Varian ProStar на колонке с обращенной фазой. Результаты исследования представлены в таблице 3. Как видно из таблицы, гидролизат содержит все необходимые для животных протеиногенные аминокислоты.

Таблица 3 - Аминокислотный состав остаточных дрожжей после дезинтеграции

Аминокислоты	Аминкислоты, г/ 100 г сухого продукта							Среднее значение
	номер генерации							
	4	5	6	7	8	9	10	
Незаменимые АК	35,1	34,1	34,9	34,5	35,3	35,5	35,3	34,96±1,54
Цистин	1,8	1,7	1,8	1,6	1,8	1,9	1,8	1,77±0,1
Гистидин	2,8	2,6	2,8	2,7	2,9	2,8	2,8	2,77±0,1
Аргинин	4,9	4,9	4,8	4,7	5,0	4,8	4,9	4,85±0,1
Аланин	0,7	0,6	0,8	0,6	0,7	0,7	0,7	0,69±0,07
Аспарагиновая килота	0,7	0,7	0,8	0,8	0,6	0,7	0,8	0,73±0,74
Глутаминовая кислота	13,5	13,4	13,5	13,3	13,4	13,5	13,5	13,44±0,08
Серин	1,3	1,2	1,1	1,3	1,3	1,4	1,3	1,27±0,1
Глицин	3,7	3,6	3,6	3,7	3,8	3,8	3,9	3,73±0,11
Тирозин	5,7	5,4	5,7	5,8	5,8	5,9	5,6	5,7±0,16
Заменимые АК	26,6	26,4	26,2	26,2	26,5	26,7	26,8	26,49±0,49
Треонин	5,5	5,5	5,3	5,5	5,4	5,5	5,4	5,44±0,08
Метионин	2,3	2,3	2,2	2,1	2,3	2,3	2,4	2,27±0,1
Лизин	9,3	9,2	9,2	9,3	9,4	9,5	9,5	9,34±0,13
Валин	5,4	5,4	5,3	5,2	5,2	5,3	5,5	5,32±0,11
Фенилаланин	4,1	4,0	4,2	4,1	4,2	4,1	4,0	4,1±0,08

По результатам исследований для процесса извлечения белкового гидролизата из остатков пивных дрожжей определены следующие этапы:

- прием сырья;
- устранение горечи остатков пивных дрожжей;
- ультразвуковая обработка;
- сушка гидролизата в распылительной сушилке;
- упаковка и хранение.

Физико-химические показатели предлагаемого продукта в виде белкового гидролизата, полученного по предлагаемой технологии, приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Физико-химические показатели продукта, предлагаемого в виде белкового гидролизата

Продукт	Массовая доля, %			
	влажность	минеральные вещества	белок	жир
Белковой гидролизат	7,5	5,4	61,5	2,85

Белковый гидролизат, полученный из остатков пивных дрожжей, в дальнейшем может быть использован в качестве полноценного корма для животных, богатого белком и витаминами.

Заключение

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы: при переработке отходов дрожжей горечь дрожжей удалось полностью устранить. При обработке и сушке остатков дрожжей в лиофилизаторе после 1-й и 3-й генераций выживаемость дрожжей сохранялась на уровне 100-98%, а после 10-й генерации этот показатель снизился до 30%. После 4 и 10 генераций при обработке остаточных дрожжей ультразвуком активность дрожжевых клеток полностью останавливается. Содержание отдельных витаминов по мере роста числа генераций изменяется, при этом качественный витаминный состав сохраняется. Содержание белка в продукте, предлагаемом в виде гидролиза белка, составляет 61,5%, в том числе незаменимой аминокислоты лизина - 9,3%.

Литература:

- 1 Schlabit C., Lehn D., Volken de Souza C.F. A review of *Saccharomyces cerevisiae* and the applications of its byproducts in dairy cattle feed: Trends in the use of residual brewer's yeast. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 332: 130059 (doi:10.1016/j.jclepro.2021.130059)
- 2 Maicas S. The Role of Yeasts in Fermentation Processes. *Microorganisms*, 2020, 8: 1142 (doi:10.3390/microorganisms8081142).
- 3 Pang Y., Zhang H., Wen H., Wan H., Wu H., Chen Y., Li S., Zhang L., Sun X., Li B. and Liu X. Yeast Probiotic and Yeast Products in Enhancing Livestock Feeds Utilization and Performance: An Overview. *Journal Fungi (Basel)*, 2022, 8: 1191 (doi:10.3390/jof8111191)
- 4 Elghandour M. M. Y., Tan Z. L., Abu Hafs S. H., Adegbeye M. J., Greiner R., Ugbogu E. A., Cedillo Monroy J., Salem A. Z. M. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* as a probiotic feed additive to non and pseudo-ruminant feeding: a review. *Journal Appl Microbiol*, 2020, 128(3): 658-674 (doi: 10.1111/jam.14416)
- 5 Alugongo G. M., Xiao J. X., Chung Y. H., Dong S. Z., Li S. L., Yoon I., Wu Z. H., Cao Z. J. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on dairy calves: Performance and health. *Journal Dairy Science*, 2017, 100(2): 1189-1199 (doi.org/10.3168/jds.2016-11399)
- 6 Jiang Y., Ogunade I.M., Arriola K.G., Qi M., Vyas D., Staples C.R., Adesogan A.T. (2017). Show more Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Ruminal fermentation, performance of lactating dairy cows, and correlations between ruminal bacteria abundance and performance measures. *Journal of dairy science*, 2017, 100,(10): 8102-8118 (doi: 10.3168/jds.2016-12371)
- 7 Mosoni P., Chaucheyras-Durand F., Béra-Maillet C., Forano E. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *Appl Microbiol*, 2007, 103(6): 2676-85 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x)
- 8 Tao Z., Yuan H., Liu M., Liu Q., Zhang S., Liu H., Jiang Y., Huang D., Wang T. Yeast Extract: Characteristics, Production, Applications and Future Perspectives. *Journal Microbiol Biotechnology*, 2023, 33(2): 151–166 (doi: 10.4014/jmb.2207.07057)
- 9 Guedes C.M., Gonçalves D., Rodrigues M.A.M., Dias-da-Silva A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 145(s 1–4): 27–40 (doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.037)
- 10 Фараджева Е. Д., Шахов С. В., Кораблин Р. В., Прибытков А. В. Новые виды биологически активных добавок из вторичных ресурсов пивоварения. *Сб. науч. тр. Воронеж. гос. технол. акад.*, 2002, 59 – 61.
- 11 Liu D., Ding L., Sun J., Boussetta N., Vorobiev E. Yeast cell disruption strategies for recovery of intracellular bio-active compounds — A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2016, 36:181-192 (doi:10.1016/j.ifset.2016.06.017)
- 12 ГОСТ - 28178-89. Кормовые дрожжи. Методы испытаний. (<https://docs.cntd.ru/document/1200024383>)
- 13 Еремина И.А., О.В. Кригер. *Лабораторный практикум по микробиологии. Учебное пособие. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. Кемерово*, 2005.
- 14 Bitencourt L.L., Silva J.R.M., de Oliveira B.M.L., Dias Júnior G.S., Lopes F., Siécola Júnior S., Zacaroni O., de F., Pereira M.N. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Scientia Agricola*, 2011, 68: 301-307 (doi.org/10.1590/S0103-90162011000300005)
- 15 Mosoni P., Chaucheyras-Durand F., Béra-Maillet C., Forano E. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *J. Appl. Microbiol*, 2007, 103: 2676–2685 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x.)
- 16 Махнева, Е. Ю., Павлов И. Н. Перспективы использования и оценка пивных дрожжей. *Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета им. И. И. Ползунова, г. Бийск : сб. тр. конф.*, 2013, 489 – 493.