

## ИЗМЕНЕНИЕ ГЛИКОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДРОЖЖЕВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМПЛЕКСОНОВ МОНОАМИННОГО ТИПА

Т.И. Смирнова<sup>1</sup>, Аль-Дауди Дауд<sup>1</sup>, Л.Н. Толкачева<sup>2</sup>,  
В.М. Никольский<sup>2</sup>, Б. Уркинова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тверская государственная сельскохозяйственная академия»,  
г. Тверь

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь

В лабораторных условиях при  $t = 22 \pm 1^\circ\text{C}$  исследовано влияние комплексонов моноаминного типа: иминодиуксусной кислоты, иминодиянтарной кислоты и взятой для сравнения аминодиуксусной кислоты на гликолитическую активность *Saccharomyces cerevisiae*. Обнаружено, что добавки в среду культивирования комплексонов и аминодиуксусной кислоты из расчёта 0,5 ммоль на 1 г прессованных дрожжей вызывают увеличение гликолитической активности дрожжей. В варианте с добавкой иминодиянтарной кислотой масса выделенного диоксида углерода возрастает на четверть, а в вариантах с иминодиуксусной кислотой и аминодиуксусной кислотой – более, чем в 2,5 и 3 раза, соответственно.

**Ключевые слова:** комплексоны, иминодиуксусная кислота, иминодиянтарная кислота, аминодиуксусная кислота, пекарские дрожжи, гликолитическая активность.

Уникальные физико-химические характеристики комплексонов, определяющие высокие потребительские качества, обеспечили их обширную область применения. Однако, в пищевой промышленности комплексоны для активации дрожжей с целью интенсификации их брожения, например, в хлебопечении не исследовались.

Для использования комплексонов в пищевой промышленности определяющим фактором становится и их экологическая безопасность.

На сегодня широкие масштабы использования комплексонов в различных областях практической деятельности человечества уже привели к обострению ряда экологических проблем, связанных с накоплением хелатирующих соединений в почве и водных объектах многих промышленно развитых стран [1-4]. Приводится информация, что некоторые комплексы такого распространенного комплексона как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТУК) показывают более высокую токсичность, чем сам свободный металл [5]. Поэтому ЭДТУК и её аналоги внесены в список загрязнителей вод [6-9].

В отличие от ЭДТУК, комплексоны моноаминного типа обладают существенно большей экологической безопасностью. Так установлено, что иминодиуксусная кислота (ИДУК) проявляет весьма низкую токсичность для рыб, дафний и водорослей [10]. Для замены классических комплексонов, загрязняющих окружающую среду, тверскими учеными классического университета и сельскохозяйственной академии синтезированы и апробированы экологически безопасные комплексоны, производные дикарбоновых кислот [11-15].

Эти соединения, сохраняя высокие хелатообразующие свойства классических комплексонов, содержат в своем составе фрагменты аспарагиновой или глутаминовой кислот и проявляют способность к разложению в природных условиях [16] под воздействием бактерий [17] или просто на свету [18,19].

В производстве пшеничного хлеба применяют пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* [20]. Методами молекулярной и генетической таксономии показано, что большинство дрожжей вида *Saccharomyces* реально представляют собой различные физиологические расы нескольких близких биологических видов, но главным видом является *Saccharomyces cerevisiae* [21]. Они сбраживают сахара муки и мальтозу, образующуюся из крахмала, с выделением спирта и углекислого газа. Важным свойством дрожжей является активность гликолитических ферментов.

Из известных способов предварительной активации деятельности гликолитических ферментов наиболее интересным является использование янтарной кислоты [22, 23]. Старовойтова О.В. с сотр. в работе [23] увеличение активности гликолитических ферментов дрожжей объясняет тем, что янтарная кислота является интермедиатом цикла Кребса, следовательно, она может оказывать влияние на быстрый ресинтез клетками АТФ, т.к. является мощным стимулятором выработки энергии. В другой её работе [24] свидетельствуется, что при использовании янтарной кислоты обеспечивается увеличение активности гликолитических ферментов на 6,5-7%.

В связи с тем, что для достижения хороших показателей бродильной активности дрожжей нужно еще регулировать режим и дозирование азота [22], а источниками азота для синтеза белка дрожжами обычно используются аминокислоты [25], нами в эксперименте по активизации гликолитической активности дрожжевых микроорганизмов были использованы азотсодержащие кислоты: иминодиянтарная кислота (ИДЯК), иминодиуксусная кислота (ИДУК) и аминоксусная кислота (АУК).

В качестве опытного микроорганизма в представленной работе были использованы пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* – один из немногих окультуренных человеком видов микроорганизмов,

безопасный и удобный для применения в лабораторной практике. В природных условиях почвенные дрожжи, характеризующиеся похожим типом обмена веществ, участвуют в поддержании экологического баланса почвенных биоценозов. Поэтому важной целью проведённого опыта было исследование возможности дрожжевых микроорганизмов перерабатывать комплексоны моноаминного типа в качестве субстрата.

### Реактивы и материалы

При проведении опыта были использованы: иминодиянтарная кислота, синтезированная на кафедре агрохимии, земледелия и лесопользования; иминодиуксусная кислота, ч.д.а.; прессованные хлебопекарные дрожжи производства АО Комбинат пищевых продуктов, Санкт-Петербург; уксусная кислота ледяная, х.ч.; ацетат натрия, х.ч.; D-глюкоза, ч.д.а.; аминоуксусная кислота, ч.д.а.; оксид кальция, х.ч.

### Экспериментальная часть

В 3 сферические колбы объёмом 150 мл вносили по 5 мл ацетатного буферного раствора с  $\text{pH} = 5,7$ , 45 мл дистиллированной воды, 2 г прессованных дрожжей. В 1-ю колбу добавляли 0,001 моль ИДУК, во 2-ю 0,001 моль ИДЯК, в 3-ю 0,001 моль аминоуксусной кислоты. Четвёртая колба оставалась без добавок. Содержимое колб перемешивали и оставляли на 30 мин. для сорбции комплексонов и глицина дрожжевыми клетками. Затем в каждую колбу вносили по 2 г глюкозы закрывали пробками с газоотводными трубками, подведёнными под слой известковой воды. Заранее определяли массу колб с известковой водой. Через несколько минут в колбу с известковой водой начинал поступать диоксид углерода. Опыт длился 120 мин. Эксперимент выполнен при температуре  $22 \pm 1$  °C в пятикратной повторности. Массу выделенного дрожжами  $\text{CO}_2$  определяли по разности масс колбы с известковой водой по окончании опыта и до его начала [26].

### Результаты и обсуждение

Полученные данные приведены в таблице 1.

Таблица 1

Изменение массы выделенного *Saccharomyces cerevisiae* диоксида углерода под действием добавок в среду культивирования, мг

Опыт	Без добавок	ИДУК	ИДЯК	АУК
1	53,2	136,2	64,9	156,2
2	56,5	141,9	68,5	157,9
3	51,4	143,5	64,2	155,2
4	53,4	135,9	65,5	162,1

5	56,1	138,6	66,1	154,1
$\bar{m} \pm \Delta \bar{m}$	53,5 ± 4,0	139,2 ± 3,0	65,8 ± 3,0	157,1 ± 3,0

Как свидетельствуют результаты опыта, введение ИДЯК в среду культивирования дрожжей почти на четверть повышает гликолитическую активность дрожжей. В тех же условиях аналогичная по количеству вещества добавка ИДУК вызывает увеличение количества выделенного CO<sub>2</sub> более, чем в 2,5 раза, а добавка АУК вызывает увеличение количества выделенного CO<sub>2</sub> почти в 3 раза. Это позволяет подтвердить вывод о том, что все исследованные добавки хорошо сорбируются дрожжевыми клетками [27]. Ранее было показано, что ИДЯК сорбируется дрожжами лучше, чем традиционный комплексон ЭДТУК, т.к. ИДЯК в растворе при pH 6 существует в форме монопротонированного иона, а для ЭДТУК в тех же условиях возможно существование моно- и дипротонированной форм с преобладанием последней [28]. Меньшие по объему и отличающиеся более простой структурой молекулы ИДЯК быстрее подвергаются ферментативной деструкции.

В результате проведенного эксперимента установлено, что во всех опытах ферментативному распаду подвергается связь C-N. Продуктами воздействия дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на АУК и ИДУК являются естественные метаболиты дрожжевых микроорганизмов. Для ИДЯК, скорее всего, этот процесс многоступенчатый и более длительный, требующий дальнейшего изучения. Причем увеличение гликолитической активности дрожжевых микроорганизмов коррелирует с увеличением содержания азота в составе испытуемых добавок. В составе ИДЯК азота 5,6%, у ИДУК азота содержится 10,5%, АУК содержит 18,7% азота.

Результаты представленного опыта, отличающиеся абсолютной новизной, позволяют сделать выводы о том, что испытуемые комплексоны моноаминного типа и аминокислота не только не токсичны, по отношению к пекарским дрожжам, но и значительно стимулируют процессы метаболизма дрожжевых микроорганизмов. Это, во-первых, открывает перспективы для их использования в качестве альтернативы ЭДТУК в некоторых областях практической деятельности, в частности, в пищевой промышленности; во-вторых, подтверждает их экологическую безопасность за счет способности к биодegradации.

#### Список литературы

1. Дедюхина Э.Г., Чистякова Т.И., Минкевич И.К. Биодegradация ЭДТА // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии, 2007, Т.3, №2, С. 40-49.
2. Chistyakova T.I., Satroutdinov A.D., Dedyukhina E.G., Eroshin V.K., Belikova V.L. A novel edta-degrading pseudomonas sp // World Journal Of Microbiology And Biotechnology, 2003, V. 19, No 9, P. 977-980, DOI: 10.1023/B:WIBI.0000007415.50506.3a
3. Egli T. Biodegradation of metal-complexing aminopolycarboxylic acids // Journal of bioscience and bioengineering, 2001, No 2, P. 89-97.
4. Толкачева Л.Н., Павлов М.Н., Хомякова К.Н., Суворов А.А., Никольский В.М. N-(карбоксиметил)аспарагиновая и иминодиянтарная кислоты в качестве реагентов для предпосевной обработки семян // Вестник ТвГУ. Серия «Химия», 2023, №3 (53), С. 115-121, DOI: 10.26456/vtchem2023.3.13
5. Vaccaro A.L.B., Seki C.C., Nishimura F.G., Cordon L.D., Carvalho L.A.C., Gutz I.G.R. Effectiveness of metal-EDTA-polluted water treatment and metal recovery at drop-casted films of TiO<sub>2</sub> under UV-LED irradiation: A photoelectrochemical study // Results in Chemistry, January 2023, V. 5, 100804, doi.org/10.1016/j.rechem.2023.100804
6. Houtman C.J. Emerging contaminants in surface waters and their relevance for the production of drinking water in Europe // Journal of Integrative Environmental Sciences, December 2010, V. 7, No. 4, P. 271-295, DOI: 10.1080/1943815X.2010.511648
7. Geissen V., Klumpp H. Mol, E., Umlauf G., Nadal M., van der Ploeg M., van de Zee S.E.A.T.M., Ritsema C.J. Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management // Int. Soil Water Conserv. Res., 2015, No 3, P. 57-65, dx.doi.org:10.1016/j.iswcr.2015.03.002
8. Petrie B., Barden R., Kasprzyk-Hordern B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring // Water Res., 2015 No72, P. 3-27, dx.doi.org:10.1016/j.watres.2014.08.053
9. EUGRIS: Portal for soil and water management in Europe.
10. <https://www.eugris.info> (accessed 27 August, 2021).
11. Водный кодекс Российской Федерации, 74-ФЗ от 03.06.2006 г. (редакция от 29.07.2017).
12. Горелов И.П., Никольский В.М. Комплексообразование между щелочноземельными металлами и N-(карбоксиметил)аспарагиновой кислотой // Журнал неорганической химии, 1975, Т. 20, №6, С.1722-1724.
13. Горелов И.П., Никольский В.М. Синтез и комплексообразующие свойства комплексонов, производных дикарбоновых кислот. II. N,N-бис(карбоксиметил)глутаминовая кислота // Журнал общей химии, 1977, Т. 47, №7, С. 1606-1611.
14. Петрова А.А., Смирнова Т.И., Павлов М.Н., Варламова А.А., Никольский В.М. Стимулирующее действие боросодержащих хелатных комплексов на лён-долгунец // Вестник ТвГУ. Серия Химия, 2020, № 2 (40), С. 143-149, DOI: 10.26456/vtchem2020.2.18

15. Tolkacheva L.N., Nikol'skii V.M. The thermodynamic characteristics of the formation of  $Al^{3+}$  ion complexes with iminodisuccinic acid in aqueous solutions // Russian Journal of Physical Chemistry A, 2012, V. 86, No 3, P. 396-398, DOI: 10.1134/S0036024412030314
16. Gridchin S.N., Nikol'skii V.M., Tolkacheva L.N. Potentiometric determination of the ionization constants of ethylenediamine-N,N'-diglutamic acid at 298.15 K // Russian Journal of Physical Chemistry A, 2014, V. 88, No 10, P. 1813-1816., DOI: 10.1134/S0036024414100148
17. Gridchin S.N., Nikol'skii V.M. Thermodynamic characteristics of the acid–base equilibria of ethylenediamine-N,N'-diglutamic acid in aqueous solutions using calorimetric data // Russian Journal of Physical Chemistry A, 2017, V. 91, No 10, P. 2061-2063., DOI: 10.1134/S0036024417100132
18. Смирнова Т.И., Дроздов И.А., Павлов М.Н. Исследование деградации комплексонов, производных янтарной кислоты, и их боросодержащих комплексов под действием микробиологических препаратов // Экология и промышленность России. 2021. Т. 25. № 6. С.49-53, DOI: 10.18412/1816-0395-2021-6-49-53
19. Smirnova T.I., Khizhnyak S.D., Nikol'skii V.M., Khalyapina Y.M., Pakhomov P.M. Degradation of complexons derived from succinic acid under uv radiation. Russian Journal of Applied Chemistry. 2017. Vol. 90. No. 4. P. 406-411. DOI:10.1134/S1070427217040024
20. Gridchin S.N., Nikol'skii V.M. Protolytic equilibria of ethylenediamine-n,n'-bis( $\alpha$ -propionic) and ethylenediamine-N,N'-bis( $\beta$ -hydroxy- $\alpha$ -propionic) acids in aqueous solutions // Russian Journal of Physical Chemistry A, 2022, V. 96, No 9, P. 1958-1962., DOI: 10.1134/s0036024422090138
21. Банницына Т.Е., Туан Л.А., Канарский А.В. Применение дрожжей и продуктов их переработки в пищевой промышленности // Вестник Воронежского государственного аграрного университета, 2015, № 4 (47), С. 176-183.
22. The Metabolism and Molecular Physiology of *Saccharomyces cerevisiae*; edited by J.R. Dickinson, M. Schweizer, 2nd Edition, London : CRC Press, 2004, 459 pp.
23. Сафина Д.Р., Халимов М.Н., Турсунов Ф.Р., Решетник О.А. Способы повышения бродильной активности хлебопекарных дрожжей // Интеграл, 2019, № 1, С. 94-119.
24. Старовойтова О.В., Садриева А.А., Мингалеева З.Ш., Решетник О.А. Активация дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в технологии приготовления хлеба // Вестник Казанского технологического университета, 2014, Т. 17, № 1, С. 235-23.
25. Старовойтова О.В., Борисова С.В. Влияние янтарной кислоты на рост и биотехнологические показатели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Вестник Казанского технологического университета, 2011, № 16, С. 167-172.
26. Меледина Т.В., Давыденко С.Г., Васильева Л.М. Физиологическое состояние дрожжей: Учеб. пособие, СПб.:НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013, 48 с.
27. Треппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии.М.: Колос. 1993. 175 с.

28. Смирнова Т.И., Никольский В.М., Корпусов О.М., Червинец Ю.В., Гординская Е.Н. Сорбция кобальта(II) дрожжевыми микроорганизмами в слабом постоянном магнитном поле // Вестник ТвГУ. Серия Химия, 2018, № 1, С. 52-58.
29. Смирнова Т.И., Халяпина Я.М., Никольский В.М., Маслов А.Н., Червинец Ю.В. Исследование влияния нового лиганда и слабого постоянного магнитного поля на пекарские дрожжи // Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология, 2011, Т. 54, № 6, С. 82-86.

*Об авторах:*

СМИРНОВА Татьяна Ивановна – кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры агрохимии, земледелия и лесопользования ФГБОУ ВО «Тверская государственная сельскохозяйственная академия» (170904, г. Тверь, ул. Маршала Василевского, д. 7); e-mail: tatsmi2013@mail.ru.

АЛЬ-ДАУДИ ДАУД – студент 4-го курса технологического факультета ФГБОУ ВО «Тверская государственная сельскохозяйственная академия» (170904, г. Тверь, ул. Маршала Василевского, д. 7); e-mail: ddnet2001@gmail.com.

ТОЛКАЧЕВА Людмила Николаевна – кандидат химических наук, доцент кафедры неорганической и аналитической химии ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет» (170002, г. Тверь, Садовый пер., д. 35); e-mail: varlamova.l@mail.ru.

НИКОЛЬСКИЙ Виктор Михайлович – доктор химических наук, профессор, профессор кафедры неорганической и аналитической химии ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет» (170002, г. Тверь, Садовый пер., д. 35); e-mail: p000797@mail.ru.

УРКИНОВА Багул – студентка 1-го курса магистратуры химико-технологического факультета ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет» (170002, г. Тверь, Садовый пер., д. 35); burkinova@edu.tversu.ru.

**CHANGE IN GLYCOLYTIC ACTIVITY OF YEAST CULTURE UNDER  
THE INFLUENCE OF MONOAMINE COMPLEXONES**

**T.I. Smirnova<sup>1</sup>, Al-Daudi Daud<sup>1</sup>, L.N. Tolkacheva<sup>2</sup>, V.M. Nikolskiy<sup>2</sup>,  
B. Urkinova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Tver State Agriculture Academy, Tver

<sup>2</sup>Tver State University, Tver

In vitro at  $t = 22 \pm 10\text{C}$  influence of complexons of monoamine type is investigated: iminodiacetic acid, iminodisuccinic acid and the aminoacetic acid taken for comparison on glycolytic activity of *Saccharomyces cerevisiae*. It is revealed that additives on Wednesday of cultivation of complexons and aminoacetic acid at the rate of 0.5 mmol on 1 g of the pressed yeast cause increase in glycolytic activity of yeast. In option with additive iminodisuccinic acid the mass of the emitted carbon dioxide increases on a quarter, and in options with iminodiacetic acid and aminoacetic acid – more, than in 2.5 and 3 times, respectively

**Keywords:** *complexones, iminodiacetic acid, iminodisuccinic acid, baking yeast, glycolytic activity.*

Дата поступления в редакцию: 28.12.2023.

Дата принятия в печать: 02.02.2024.