

СКРИНИНГ НОВЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОРМОВОГО БЕЛКА

© 2011 А.В. Храпова, О.Б. Сопрунова

ФГОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет», г. Астрахань

Поступила 14.07.2011

В данной статье приводятся результаты исследований эпифитных дрожжей высших грибов, определены показатели качества биомассы дрожжей.

Ключевые слова: эпифитные дрожжи, дрожжевая биомасса, кормовой белок.

Со второй половины XX в. дрожжи начали широко применяться в качестве кормовой добавки в животноводстве, существенно повышая биологическую ценность кормов, прежде всего за счет содержащихся в них незаменимых аминокислот и витаминов [5]. Сырьем для наращивания дрожжевой биомассы в производстве могут служить: углеводороды нефти (очищенные жидкие парафины), низшие спирты (этанол и метанол), гидролизаты древесных отходов (опилки, стружка, щепа), гидролизаты с/х отходов (солома, шелуха семян, кукурузная кочерыжка и т. п.), сульфитные щелока целлюлозно-бумажного производства, послеспиртовые барды гидролизно-и сульфитно-спиртовых производств. В настоящее время 90% мировой продукции дрожжей получают из мелассы – отходов свеклосахарного производства, являющихся концентрированным раствором сахаров и различных минеральных и органических веществ [3].

Целью настоящего исследования является выбор перспективных штаммов дрожжей для получения кормового белка. Основные задачи: выделение дрожжей в чистые культуры; определение титра клеток исследуемых штаммов дрожжей и получение маточных культур; наращивание дрожжевой биомассы в ферментере на питательной среде с мелассой и определение показателей ее качества.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись новые культуры дрожжей, выделенные из эпифитной микрофлоры высших грибов (фолиота *Pholiota abstrouse*, шампиньон *Agaricus sp.*, рядовка *Tricholoma sp.*, навозник мерцающий *Coprinus micaceus*), произрастающих на территории Астраханской области. В качестве контроля использовали промышленный штамм *Candida tropicalis*, предоставленный ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН (г. Пушкин, Санкт-Петербург), и применяемый в производстве в качестве продуцента биомассы обогащенной белком. Эксперименты по определению титра клеток исследуемых штаммов дрожжей и наращивание дрожжевой биомассы в ферментере проводились в ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной

микробиологии РАСХН (г. Пушкин, Санкт-Петербург).

Для выделения дрожжей использовали метод глубинного посева суспензии смывов с поверхности высших грибов на агаризованную среду Сабуро с серией последовательных пересевов для получения чистых дрожжевых культур.

Для определения титра клеток исследуемых культур дрожжей и получения маточных культур для наращивания биомассы в ферментере использовали питательную среду следующего состава (г/л): меласса – 20,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 4,5; K_2HPO_4 – 0,85; K_2HPO_4 – 0,15; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,15; NaCl – 0,1; $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; H_2O – 1000, pH 5,0; стерилизовали при 0,5 атм и разливали в пробирки объемом 40 мл в стерильных условиях, в пробирки вносили по 1 мл суспензии клеток дрожжей [2]. Продолжительность эксперимента составила 24 ч. Культивирование проводилось на качалке при температуре 25°C. Периодически (4, 8 и 24 ч) из пробирок, в которых культивировались штаммы дрожжей, стерильно отбирали пробы для подсчета клеток в камере Горяева.

Маточные культуры дрожжей (титр клеток (КОЕ/мл) для штаммов Phab V и Tr.P – $3 \cdot 10^7$, Ag IV – $1 \cdot 10^7$, *Candida tropicalis* – $4 \cdot 10^6$) вносили в ферментер объемом 10 л с питательной средой того же состава, что и для получения маточных культур. Наращивание биомассы дрожжей проводилось в течение суток при постоянной температуре (26-28°C), аэрации 15-25 м³/ч на 1 м³ среды, pH 5,0. Периодически из ферментера отбирались пробы для подсчета клеток в камере Горяева [4].

Качество дрожжевой биомассы, полученной при культивировании в ферментере, оценивали по следующим показателям: влажность, содержание сырого протеина, массовая доля золы, массовая доля белка по Барнштейну [6]. В качестве контроля использовали промышленный штамм *Candida tropicalis*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате ряда последовательных пересевов с агаризованной среды Сабуро в чистые культуры выделено 6 дрожжевых изолятов, отличающихся по морфологическим признакам (табл. 1), оптимальной температурой для роста которых является 20-25°C.

Храпова Анна Викторовна, e-mail: ahrapova@yandex.ru; Сопрунова Ольга Борисовна, докт. биол. наук, проф., e-mail: soprunova@mail.ru

Таблица 1. Морфологические признаки чистых культур дрожжей

Культуры дрожжей	Описание штриха
Phab V	Серовато- белый цвет, поверхность матовая, складчатая, в агар не вырастает
Tr.P	Серо-кремовый цвет, поверхность матовая, складчатая, в агар не вырастает
Ag IV	Ярко-морковный цвет, поверхность складчатая, матовая, консистенция пастообразная, в агар не вырастает
Cm III	Кремовый с желтым оттенком, слабый блеск, поверхность складчатая, консистенция пастообразная, в агар вырастает
Cm V	Молочно-белый цвет, поверхность гладкая, слабый блеск, в агар не вырастает, консистенция пастообразная
Cm VIII	Насыщенный персиковый цвет, поверхность неоднородная, слабый блеск, консистенция пастообразная

В ходе эксперимента по определению титра клеток и получения маточных культур дрожжей выбраны штаммы с максимальным титром клеток для последующего культивирования в ферментере: Phab V, Tr.P, Ag IV (табл. 2).

Таблица 2. Титр клеток исследуемых культур дрожжей (КОЕ/мл)

Культуры дрожжей	Время, ч		
	4	8	24
Phab V	$5 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$
Tr.P	$4 \cdot 10^6$	$7 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^7$
Ag IV	$3 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7$
Cm III	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$
Cm V	$2 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$
Cm VIII	$2 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^7$
<i>Candida tropicalis</i>	$2 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6$

При наращивании биомассы штаммов Phab V, Tr.P, Ag IV на ферментере установлено, что среди исследуемых культур дрожжей штаммы Phab V, Tr.P отличаются наиболее высокой скоростью роста и максимальным накоплением биомассы по сравнению с контрольным штаммом *Candida tropicalis* (табл. 3).

Таблица 3. Наращивание биомассы исследуемых культур дрожжей в ферментере

Культуры дрожжей	Время, ч		
	4	8	24
Phab V	$3,9 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^7$
Tr.P	$4,1 \cdot 10^7$	$6,5 \cdot 10^7$	$9 \cdot 10^7$
Ag IV	$2,2 \cdot 10^7$	$3,8 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^7$
<i>Candida tropicalis</i>	$9 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^7$

Полученную биомассу штаммов Phab V, Tr.P, Ag IV, *Candida tropicalis* центрифугировали, сушили в сушильном шкафу при 80 °С, и в последующем проверяли на соответствие требованиям ГОСТ, предъявляемым к кормовым дрожжам.

Установлено, что влажность (%) штамма *Candida tropicalis* (контроль) составляет 15,8; Tr.P – 8,0; Ag IV – 14,5; Phab V – 12,4; в то время как влажность выпускаемых предприятиями кормовых дрожжей первой, второй, третьей групп должна быть не более 12,0% (при условии использования их в течение 3 мес со дня изготовления).

По содержанию сырого протеина (%) исследуемые штаммы дрожжей контрольный штамм *Candida tropicalis*, но и превышают показатели, не только превосходят устанавливаемые НТД [6] (рис. 1): Tr.P – 64,9; Ag IV – 67,1; Phab V – 73,5.

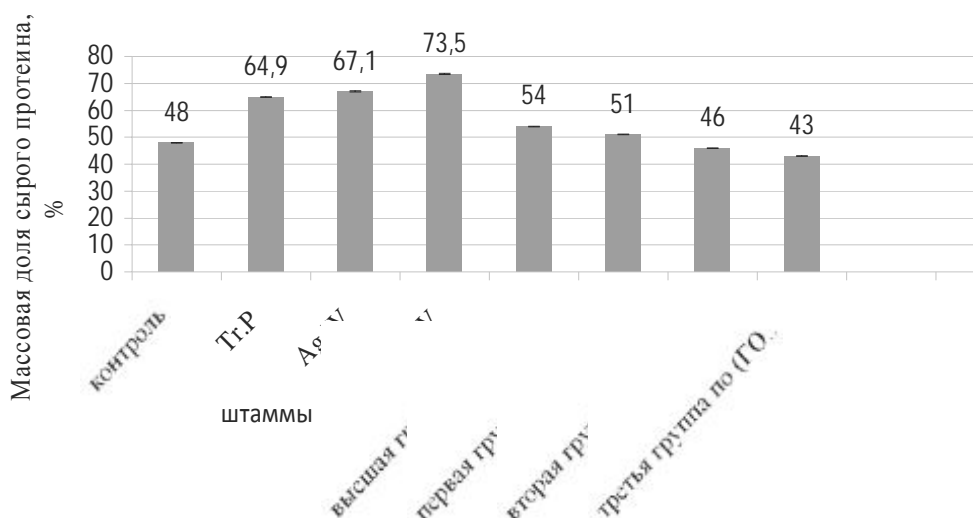


Рис. 1. Массовая доля содержания сырого протеина (в пересчете на абсолютно сухое вещество).

Определение содержания массовой доли золы в образцах сухой биомассы показало, что все исследуемые штаммы соответствуют требованиям ГОСТ

20083–74 по данному показателю (не более 10%): *Candida tropicalis* – 7,8; Tr.P – 7,8; Ag IV – 7,0; Phab V – 10,3 (рис. 2).

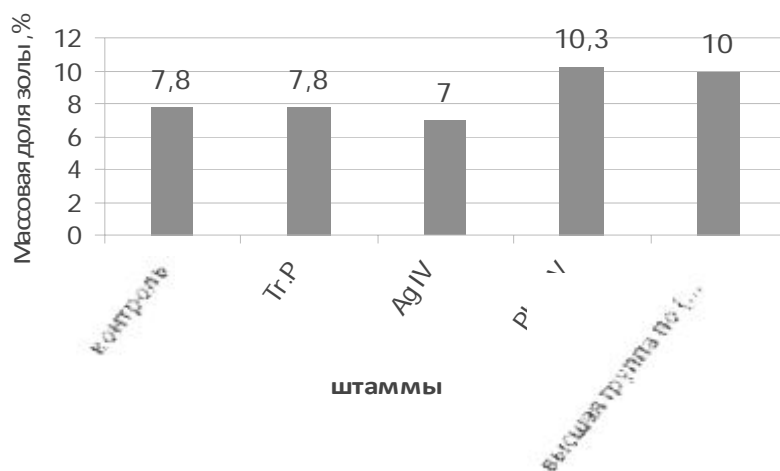


Рис. 2. Массовая доля золы (в пересчете на абсолютно сухое вещество).

По показателю массовой доли белка по Барнштейну все исследуемые штаммы дрожжей не соответствуют требованиям ГОСТ (4% – высшая, 41% – первая, 36% – вторая, 32% – третья группы),

за исключением контрольного промышленного штамма *Candida tropicalis* – 36,7%, Tr.P – 24,8%; Ag IV – 15,7%; Phab V – 20% (рис. 3).

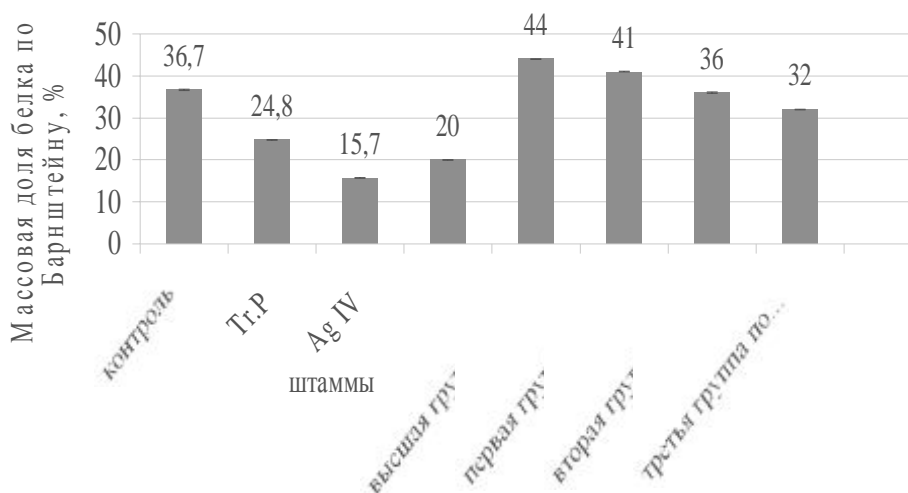


Рис. 3. Массовая доля белка по Барнштейну (в пересчете на абсолютно сухое вещество).

Таким образом, в ходе изучения дрожжевых культур, выделенных с высших грибов (фолиоота *Pholiota abstrouse*, шампиньон *Agaricus sp.*, рядовка *Tricholoma sp.*, навозник мерцающий *Coprinus micaceus*), произрастающих на территории Астраханской области, отобраны 3 изолята (Phab V, Tr.P, Ag IV), способные наращивать на питательной среде с мелассой максимальное количество биомассы.

При получении дрожжевой биомассы в ферментере установлено, что штаммы Phab V, Tr.P отличаются наиболее высокой скоростью роста и максимальным приростом биомассы по сравнению с контрольным штаммом *Candida tropicalis*.

Определение показателей качества биомассы дрожжей позволило условно отнести исследуемые штаммы дрожжей к группам кормовых дрожжей в соответствии с ГОСТ 20083-74: по совокупности изучаемых показателей (влажность, содержание сырого протеина, массовая доля золы, массовая доля белка по Барнштейну) исследуемые культуры

дрожжей условно отнесены ко второй группе кормовых дрожжей (контрольный штамм *Candida tropicalis*) и к третьей группе кормовых дрожжей (штаммы Tr.P, Ag IV, PhabV).

Полученные предварительные результаты исследований позволяют предположить возможность использования выделенных штаммов дрожжей в условиях непрерывного культивирования и обработке технологических параметров с целью получения полноценных кормовых продуктов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Забродский А.Г. Использование мелассной барды в биотехнологии // Биотехнология. 1989. С. 367-370.
2. Максимова И.А. Руководство к практическим занятиям по биологии дрожжей. Тула: Изд. Тульского университета, 2006. 96 с.
3. Плевако Е.А. Технология дрожжей. М.: Пищевая промышленность, 1970. 293с.

4. *Нетрусов А.И., Егорова М.А. и др.* Практикум по микробиологии / под ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия, 2005. 608 с.
5. *Тулякова Т.В., Пасхин А.В.* Дрожжевые экстракты – безопасные источники витаминов, минеральных веществ и аминокислот // Пищевая промышленность. 2004. С. 134-136.
6. ГОСТ 20083-74 – 1976-07-01. Кормовые дрожжи. Технические условия. М., Изд-во стандартов, 2001. IV. 11 с.

THE SCREENING NEW STRAINS OF YEAST FOR RECEPTION OF FODDER PROTEIN

© 2011 A.V. Hrapova, O.B. Soprunova

Astrakhan State Technical University, Astrakhan

In this article we adduced results investigation of epiphytic yeast of mushrooms and defined the quality indicators of biomass of yeast.

Key words: *epiphytic yeast, biomass of yeast, fodder protein.*