

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. Нарращивание 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 сухожаровом 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.

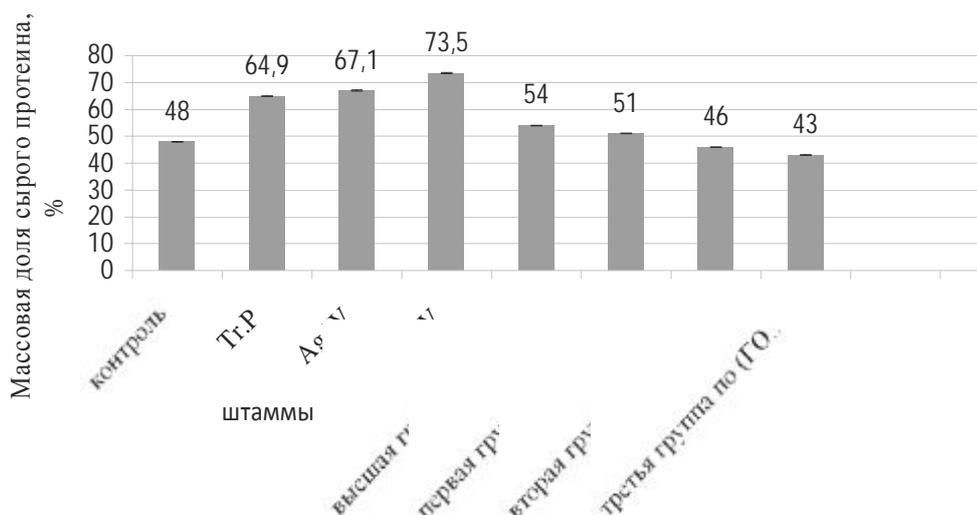


Рис. 1. Массовая доля содержания сырого протеина (в пересчете на абсолютно сухое вещество).

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).

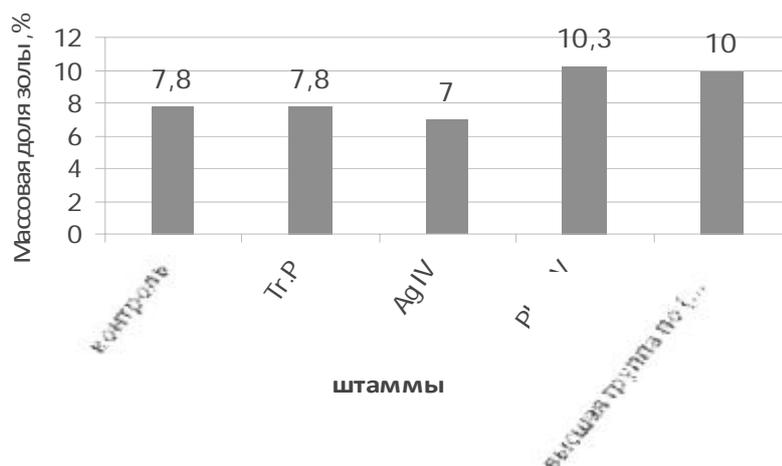


Рис. 2. Массовая доля золы (в пересчете на абсолютно сухое вещество).

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).

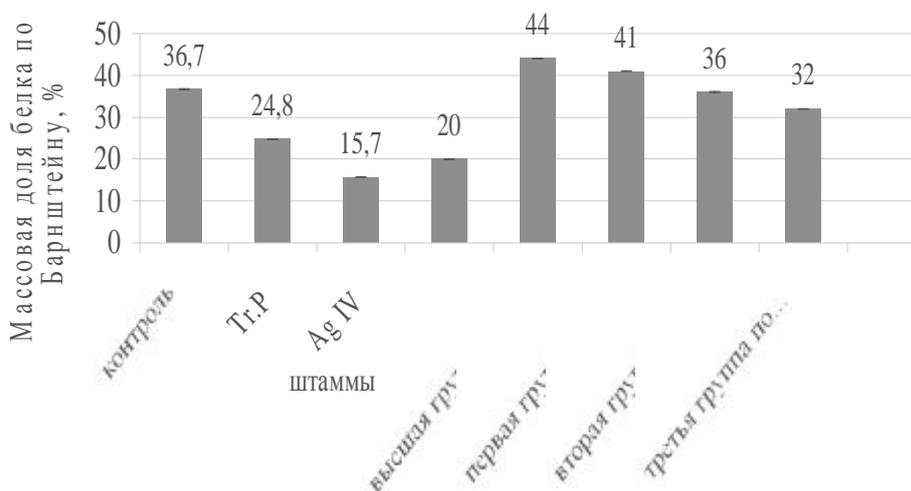


Рис. 3. Массовая доля белка по Барнштейну (в пересчете на абсолютно сухое вещество).

Таким образом, в ходе изучения дрожжевых культур, выделенных с высших грибов (фолиота *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.*