

IZOLAREA ȘI SELECȚIONAREA DE DROJDII PRODUCĂTOARE DE BIOMASĂ PROTEICĂ MONOCELULARĂ

Mihaela BEGEA¹, Cristina STOICESCU¹,
Gheorghe BÂLDEA¹, Mariana VLĂDESCU¹,
Elena BARON¹

¹ Institutul de Cercetări Alimentare, București
e-mail: ela_begea@yahoo.com

The present paper has as objective studies and researches regarding the multiplication of yeasts on nutritive media in order to produce single cell protein which can be used as food and feed source. In this regard there were isolated and selected several yeast strains from Saccharomyces genera, that were forward been tested, studied and verified under laboratory and pilot conditions, having as objective to identify yeast strains with optimum activity and high multiplication capacity. Using micro-organisms from Saccharomyces genera in order to obtain single cell protein presents advantages such as: - the high content in microbial protein having a similar amino acids profile with this of the animal or vegetal protein; - through the selection the strains having the most appropriate characteristics that we intend to obtain could be performed; - the powerful growth and high biomass resulted; - the micro-organisms can use as carbon organic source a huge range of raw materials, mainly wastes or by-products resulted from other industries. Verification of the yeast on pilot scale was performed taking into account the industrial process, using as culture medium sugarbeet molasses. Molasses represents one of the main raw materials used for obtaining single cell proteins. The usage of molasses as raw material is convenient mainly because of it's low cost production prices and easy access. The researches will go on in the order to settle the culture media for the multiplication of the selected yeast strains as regards the optimal composition through the microelements, vitamins and bios factors, to compensate the lack of nutritive factors from the processed raw materials.

Key words: yeast, selection, fermentation, multiplication, single cell protein

Este cunoscut faptul că pentru fermentarea diferitelor materii prime este nevoie de o drojdie specifică, care să se dezvolte rapid, să dea randamente cât mai mari, în cazul nostru de biomasă, să fie acomodată condițiilor specifice procesului tehnologic și să fie cât mai rezistentă la infecții.

Proteina microbiană este cunoscută în literatura de specialitate cu termenul generic de biomasă proteică monocelulară (BPM), termen care arată că proteina respectivă este de origine microbiană, ea provenind de la microorganisme unicelulare (bacterii, drojdii, mucegaiuri, alge etc.) [1].

În afară de zaharuri fermentescibile și săruri organice, în procesul de multiplicare drojdiile mai au nevoie și de anumiți compuși organici. Acești compuși sunt necesari în cantități mici sau chiar urme și au fost denumiți “bios” sau “factori de creștere”. În procesul tehnologic de obtinere a biomasei proteice monocelulare din drojdie este foarte importantă urmărirea influenței pe care o are fiecare factor de creștere atât asupra randamentului, cât și asupra calității biomasei produse.

Experimentările de obținere a biomasei proteice monocelulare s-au realizat utilizând ca mediu de cultură melasă din sfeclă de zahăr. Melasa este un subprodus rezultat la industrializarea sfeclii de zahăr, fiind siropul final separat prin centrifugarea cristalelor de zahăr. Utilizarea melasei ca materie primă este convenabilă în primul rind din punct de vedere economic, prin prisma prețului de cost redus și al accesibilității.

În industria fermentativă, folosirea drojdiilor implică utilizarea de culturi pure utile, detectarea și înlăturarea drojdiilor sălbatice și a microorganismelor de infecție, care pot avea influență negativă asupra activității metabolice a culturilor starter [2].

Identificarea unei tulpini de drojdie nou izolate necesită o caracterizare și o descriere precise, care să permită apoi compararea cu drojdii cunoscute. Principalele caractere utilizate pentru identificarea drojdiilor sunt caracterele morfologice ale celulelor vegetative, modul de reproducere, caracterele biochimice și caracterele fiziologice [2].

În acest sens, au fost izolate și selecționate tulpini de drojdie, în principal din genul *Saccharomyces*, care apoi au fost testate, studiate și verificate în condiții de laborator și în instalațiile pilot, în vederea identificării unor tulpini cu activitate optimă, respectiv capacitate de multiplicare ridicată.

MATERIAL ȘI METODĂ

Drojdiile din genul *Saccharomyces* au fost izolate din natură, din diferite medii, selecționarea lor realizându-se în scopul producerii de BPM cu randamente ridicate. Izolarea și selecția s-au realizat prin tehnicile microbiologice clasice, prin cultivarea pe medii selective.

Izolarea drojdiilor s-a făcut din diverse medii, așa cum sunt: must de malț infectat, must de malț agar, suc de mere, amestec de fructe, mere, gutui, melasă.

Din mediile infectate, după un control microscopic, drojdiile s-au izolat în cultură pură și s-au trecut de mai multe ori (15-20) pe medii cu must de malț-agar, la interval de 6-7 zile. Drojdiile izolate au fost triate în funcție de sedimentul pe care îl formează prin multiplicare și prin fermentare într-un mediu de melasă de 3⁰Bx. Multiplicarea drojdiilor s-a făcut cu și fără aerare, timp de 24 de ore. Drojdiile care au format cel mai bogat sediment, au fost izolate din nou în cultură pură și au fost studiate amănunțit în ce privește calitățile lor pentru obținerea de BPM.

Cu drojdiile selecționate s-a efectuat cultivarea pe plămezi de melasă în vederea stabilirii capacității de formare a biomasei, în instalația pilot.

Drept drojdie martor s-a folosit o drojdie de panificație din cultura laboratorului, pe care am notat-o în experiențe cu indicativul SCP.

Experimentările la nivel pilot pentru studiul capacității de formare de biomasă s-au realizat într-un fermentator pentru multiplicarea drojdiei, cu volum total de 20 litri (volum util 16 litri).

Pentru aprecierea capacității drojdiilor selecționate de a forma BPM, culturile pure s-au inoculat în mediul de cultura lichid pe bază de melasă și s-a determinat cantitatea de biomasă formată după 48 ore de fermentare, la temperatura de 30°C.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Cultura pură de drojdie, păstrată în eprubete pe mediu de must de malț agar înclinat, la temperatura de +4°C, este reactivată prin inocularea sau repicarea pe același mediu de cultură și termostatat timp de 48 – 72 ore la 30°C.

Inocularea plămezilor pentru cele 7 tulpini de drojdie selecționate și pentru cultura martor s-a realizat cu un inocul cu o concentrație de 10⁸ celule/ml.

Plămada de melasă are următoarea compoziție [3]:

- melasă diluată la 40 % s.u. – 4 litri;
- sulfat de amoniu (soluție 8%) – 1,25 l;
- diamoniu fosfat (soluție 12%) – 1,25 l;
- apă potabilă – 5 litri.

Sărurile minerale nutritive, respectiv sulfatul de amoniu și diamoniu fosfatul, sunt utilizate în scopul compensării lipsei de azot și fosfor din melasă.

Parametrii de fermentare au fost următorii:

- temperatura – 300C;
- pH – 4,5 – 4,8;
- debit de aer – 0,6 – 0,8 litri / litru /minut;
- oxigen dizolvat – 4 -5 mg / litru.

La intervale de timp de 4 ore de la inoculare, se verifică evoluția și stadiul de multiplicare a drojdiei prin următoarele teste:

- test de laborator privind pH-ul și concentrația în substanță uscată, eventual conținutul de zahăr din plămada în curs de fermentare;
- examen microscopic pentru aspectul celular (densitate de celule, formă, mărime, prezența celulelor înmugurite, microorganisme de infectare).

După cele 48 ore de fermentare, au fost înregistrate următoarele valori pentru capacitatea de a forma biomasă formată de drojdiile selecționate și testate la nivel pilot.

Tabelul 1

Randamentul in biomasa formata prin fermentare pe mediu lichid de melasa

Tulpina de drojdie utilizata / Sursa de izolare	Randamentul în biomasa cu 25% substanta uscata, față de melasă cu 50% zaharoză	Umiditatea biomasei, %
1 (must de malț infectat)	70,3	72,4
2 (must de malț agar)	63,7	74,1
3 (suc de mere)	89,8	71,3
4 (amestec de fructe)	94,5	76,8
5 (mere)	112,6	75,1
6 (gutui)	105,7	78,5
7 (melasă)	103,4	77,9
SCP	98,9	71,9

Rezultatele obținute în laborator la cele 7 de tulpini de drojdie au arătat că randamentele au fost cuprinse între 63,7 și 112,6% (drojdie cu 25% substanță uscată, față de melasa cu 50% zahăr), biomasa având umidități cuprinse în intervalul 71,3 ... 78,5%.

Din tabelul prezentat se constată că cele mai bune randamente, în comparație cu drojdia martor, sunt produse de drojdiile selecționate de pe mere, gutui și din melasă. Cel mai înalt randament în biomasă, pe mediul de cultură pe bază de melasă, este produs de drojdia selecționată de pe mere.

CONCLUZII

Din studiile efectuate concluzionăm următoarele:

- drojdiile selecționate din diferite substraturi naturale și din microflora epifită a fructelor, chiar dacă s-au dovedit că aparțin aceluiași gen, prezintă caracteristici de fermentare diferențiată a substraturilor zaharoase;
- drojdiile din genul *Saccharomyces* selecționate se dovedesc a avea aptitudini de producere de biomasă cu randamente ridicate;
- pe baza rezultatelor înregistrate, cercetările vor continua în sensul creșterii potențialului drojdiilor de a forma biomasă, prin optimizarea diagramelor de lucru și a mediilor de cultură utilizate.

BIBLIOGRAFIE

1. Anghel, I. s.a. , 1993 - *Biologia și tehnologia drojdiilor*, București, Editura Tehnica, Vol. III.
2. Tofan, C., Bahrim, G., Nicolau, A., Zara, M. - *Microbiologia produselor alimentare – Tehnici și analize de laborator*, București, Editura AGIR.
3. Stroia, I., Begea, M., Demetrescu, I., Caposi, M., Vlădescu, M., Bâldea, G., 2005 - *Molasses quality analyses system used in baking yeast industry*, RICCCCE 14 - Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, București, 22-23 septembrie 2005.