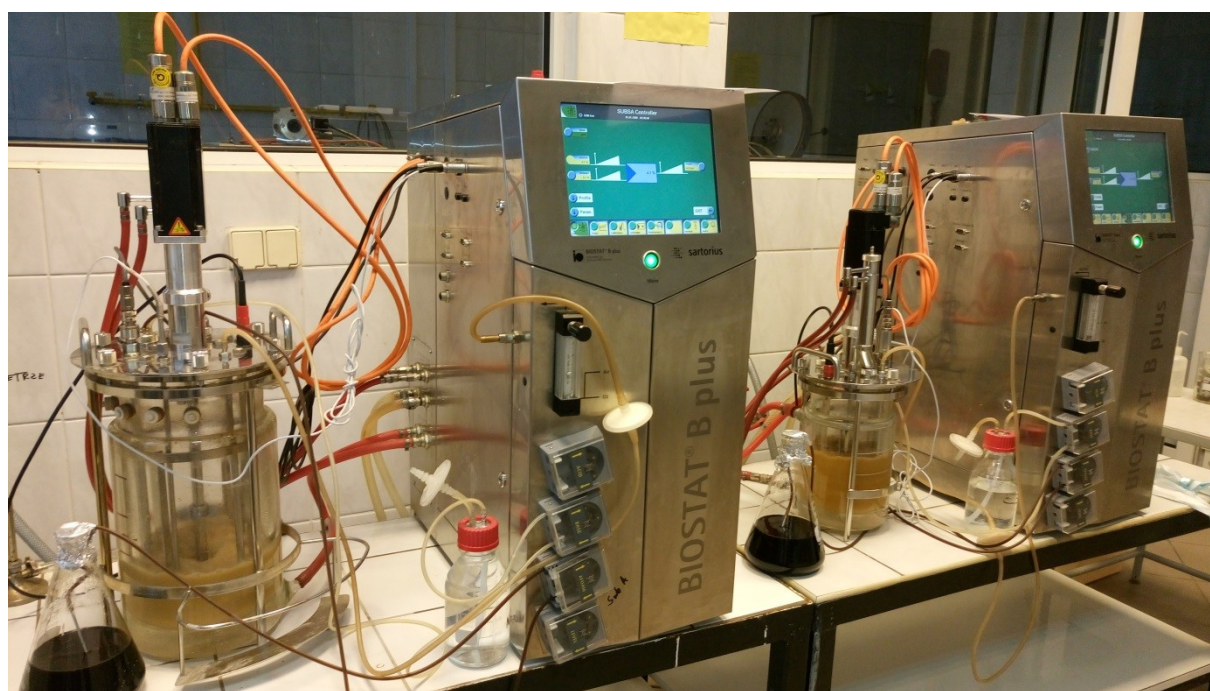




**INSTYTUT BIOTECHNOLOGII  
PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO  
im. prof. Wacława Dąbrowskiego**

**Sprawozdanie merytoryczne z zadania:**

**Przetwórstwo produktów roślinnych i zwierzęcych metodami ekologicznymi. Opracowanie technologii drożdży ekologicznych.**



Warszawa 14.11.2016

INSTYTUT BIOTECHNOLOGII  
PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO  
im. prof. Wacława Dąbrowskiego  
02-532 Warszawa, ul. Rakowiecka 36  
tel. 22 606 36 00, fax 22 849 04 26  
NIP 525-000-82-64, REGON 000053835

Warszawa, dnia 14.11.2016

pieczęć wnioskodawcy i adres

Minister Rolnictwa  
i Rozwoju Wsi  
ul. Wspólna 30  
00-930 Warszawa

**SPRAWOZDANIE**  
**z zadania w zakresie rolnictwa ekologicznego w 2016r.**

**pt. Przetwórstwo produktów roślinnych i zwierzęcych metodami ekologicznymi.**

**Opracowanie technologii drożdży ekologicznych.**

Wykonanego na podstawie dotacji przedmiotowej udzielonej na podstawie § 8 ust. 6 rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. 2015 poz. 1170) Nr HORre-msz-078-4/16 (220) z dnia 20 maja 2016.

**Jednostka badawczo-rozwojowa**

**Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego**

**Zakład Technologii Fermentacji**

**ul. Rakowiecka 36**

02-532 Warszawa

tel.: 22 606 36 00

fax: 22 849 04 26, e-mail: [ibprs@ibprs.pl](mailto:ibprs@ibprs.pl)

**nr konta** 67 1240 1095 1111 0000 0336 5564

w banku PKO S.A.

**status prawny działania jednostki:**

KRS nr 0000126823

GLÓWNY KSIĘGOWY

.....  
Lucyna Wasiluk  
.....  
główny księgowy

DYREKTOR

.....  
dr hab. Renata Jedrzejczak, prof. IBPRS  
.....

pieczęć i podpis wnioskodawcy

Otrzymują:

Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi

Departament Hodowli i Ochrony Roślin, Wydział Rolnictwa Ekologicznego

**Kierownik /koordynator:**  
**dr inż. Katarzyna Piasecka-Józwiak**  
**IBRPS - Zakład Technologii Fermentacji**  
**tel.: 606 36 49, 849 04 25**  
**e-mail: [piasecka@ibprs.pl](mailto:piasecka@ibprs.pl)**

|                      |                                     |
|----------------------|-------------------------------------|
| <b>Spis autorów:</b> | <b>mgr Beata Chabłowska</b>         |
|                      | <b>mgr inż. Monika Kliszc</b>       |
|                      | <b>dr inż. Joanna Rozmierska</b>    |
|                      | <b>dr inż. Antoni Miecznikowski</b> |

## **II. Miejsce realizacji zadania badawczego**

Zakład Technologii Fermentacji, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego (IBPRS).

## Główne podzadania wykonane w roku 2016

Celem zrealizowanego zadania było opracowanie procesu technologicznego otrzymywania, drożdży piekarskich o wysokiej aktywności fermentacyjnej w warunkach produkcji ekologicznej.

Zakres zrealizowanych w 2016 roku badań obejmował następujące podzadania, których szczegółowy opis przedstawiono wraz ze skrótową analizą piśmiennictwa:

- Ocenę dostępnych surowców ekologicznych (do produkcji drożdży) to jest melasy buraczanej i trzcinowej (pod względem składu chemicznego, przydatności do hodowli tj. obecności związków hamujących rozwój drożdży), podzadanie 1.
- Otrzymywanie autolizatu i ekstraktu drożdżowego w celu ich wykorzystania jako źródła azotu w hodowli drożdży, podzadanie 2.
- Próby doboru składu podłoża hodowlanych do drożdży, z uwzględnieniem ograniczeń w produkcji ekologicznej, wynikających z Rozporządzenie Rady (WE) nr 334/2007 i Rozporządzenia 889 z 2008 roku załącznika VIII (próby dodatku takich substancji jak autolizat drożdżowy, kazeiniany, namok kukurydziany), podzadanie 3.
- Badanie optymalnego stężenia i schematu dozowania substratu węglowego w skali laboratoryjnej i mikrotechnicznej. Badanie wpływu składników podłoża na wydajność biomasy drożdży, a także na ich aktywność fermentacyjną, podzadanie 4.
- Optymalizacja hodowli pod względem takich parametrów jak temperatura, zawartość tlenu rozpuszczonego w brzeczce drożdżowej i ich wpływu na aktywność fermentacyjną i wydajność. Dobór dozowania substancji pomocniczych do regulowania pH hodowli, podzadanie 5.
- Powiększenie skali hodowli – próby otrzymywania drożdży ekologicznych w drożdżowni w Maszewie, z uwzględnieniem wyników otrzymanych w skali mikrotechnicznej, podzadanie 6.
- Opracowanie wyników, sprawozdania i instrukcji, podzadanie 7.

Doświadczenia wykonano w skali mikrotechnicznej z wykorzystaniem fermentorów BistatB firmy B.Braun, z regulacją temperatury i pH hodowli, a także wyposażonych w regulację dopływu tlenu i mieszania.

Ze względu na niemożliwość wykonania badań w skali technicznej, w drożdżowni, w zaplanowanym czasie zadanie dotyczące powiększenia skali hodowli (6) nie zostało wykonane. Zostało to uwzględnione w zmniejszonym wykonaniu finansowym kosztów badań.

Produkcja drożdży ekologicznych prowadzona jest w ograniczonym zakresie ze względu na problemy wynikające ze **zmiany sposobu produkcji, wysokiej ceny surowców i co za tym idzie również produktu, konieczności produkcji drożdży w dużej skali (masie), co jest związane z technologią produkcji i wyposażeniem drożdźowni, niepewnością zbytu.**

Wymagania produkcji ekologicznej, dopuszczające wyłącznie stosowanie substratów, a także substancji pomocniczych pochodzenia ekologicznego lub naturalnego oraz prowadzenie hodowli przy mechanicznym oddzielaniu piany, powodują zmniejszenie wydajności hodowli i pogorszenie jakości drożdży w stosunku do produkowanych w sposób konwencjonalny, obniżają również rentowność procesu produkcyjnego.

### **Szczegółowy opis badań wykonywanych w ramach poszczególnych podzadań.**

#### **Podzadanie 1**

##### Metody

W badaniach korzystano z ekologicznej melasy trzcinowej i buraczanej dostępnej na polskim rynku: buraczanej Naumelasse (1), melasy trzcinowej Horizon „Bio – World” (2), melasy (syropu) buraczanego Natu (3) melasa trzcinowa SCD ProBiotics (4) Ocena tego podstawowego surowca do produkcji drożdży ekologicznych obejmowała analizę składu chemicznego i badanie przydatności do hodowli, tj. obecności związków hamujących rozwój drożdży.

Skład chemiczny melasy: zawartość cukrów, zawartość białka i popiołu, oceniono według metod znormalizowanych (PN 76 R-64772). Metodą fermentacji alkoholowej oceniono przydatność melasy do hodowli to jest obecność substancji hamujących wzrost drożdży (wg. PB/GD-05, wyd. 4 2015). Wyniki porównano z przeciętną wydajnością alkoholu dla melas konwencjonalnych..

Zawartość pierwiastków takich jak K, Ca, Zn, Mg, oceniono metodą absorbcyjnej spektrometrii atomowej. Melasy oceniono pod względem obecności zakażeń mikrobiologicznych, w tym bakterii przerwalnikujących. Obecność bakterii *Bacillus cereus* wykrywano na podłożu do oznaczania ogólnej liczby drobnoustrojów mezofilnych PCA Merck, a potwierdzano przesiewając na podłożu MYP Merck.

W badaniach wykorzystano ponadto autolizat drożdżowy, ekstrakt drożdżowy, namok kukurydziany, kazeiniany wapnia i sodu. Zawartość białka w surowcach pomocniczych oznaczano metodą wg PN-A/79005-7: 1997 (metodą Kjeldahla).

## Wyniki

Poniżej przedstawiono charakterystykę dostępnych melas pochodzących z produkcji ekologicznej trzcinowych i buraczanych pod względem składu chemicznego, a także oceny mikrobiologicznej (Tabele 1,2,3).

**Tabela 1.** Charakterystyka chemiczna melas ekologicznych

| wyszczególnienie                                                                                       | Melasa<br>buraczana 1 | Melasa<br>trzciniowa 2 | Melasa<br>(syrop)<br>buraczana 3 | Melasa<br>(syrop)<br>trzciniowa 4 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Pozorna zawartość suchej masy, °Bx                                                                     | 81,2                  | 75,1                   | 79,5                             | 72,8                              |
| Zawartość sacharozy, polarymetrycznie w melasach buraczanych, %<br>po inwersji w melasie trzcinowej, % | 59,4                  | 30,2                   | 52,3                             | 33,8                              |
| Cukry redukujące                                                                                       | 0,3                   | 8,2                    | 0,2                              | 6,6                               |
| Wydajność alkoholu, l/100kg                                                                            | 40,6                  | 33,7                   | 38,1                             | 25,1                              |
| Popiół, %                                                                                              | 4,1                   | 8,3                    | 2,07                             | 8,47                              |
| Zawartość azotu ogólnego, %                                                                            | 0,80                  | 0,61                   | 0,33                             | 0,56                              |
| Zawartość azotu przyswajalnego, %                                                                      | 0,35                  | 0,31                   | 0,10                             | 0,22                              |
| Kwasy lotne, %                                                                                         | 0,13                  | 0,10                   | 0,12                             | 0,10                              |

Melasa buraczana na ogół charakteryzuje się zawartością suchej masy na poziomie większym niż 76,3%, cukrów powyżej 47%. Większość cukrów stanowi sacharoza, poza tym inwert 0,1-0,5%, rafinoza 0,3-1,5%, kestoza 0,1-0,3%, galaktinol 0,1-0,3%.

W ekologicznych melasach buraczanych zawartość sacharozy sięgała 59,4% melasy trzcinowe charakteryzowały się niższą zawartością sacharozy, były natomiast bogate w cukry fermentujące. Podobnie jak w przypadku surowców z produkcji konwencjonalnej w melasach trzcinowych stwierdzono większy stopień zanieczyszczenia nierozpuszczalnymi związkami.

Melasa pochodząca z produkcji konwencjonalnej może zawierać różne pozostałości po produkcji cukru, niektóre z nich jak np. środki odpieniające mogą mieć negatywny wpływ na wzrost i trwałość drożdży.

Melasa buraczana zawiera substancje wzrostowe i inhibitory. Przeciętnie składniki niecukrowe to około 30%, w tym związki azotowe ( 12%), związki bezazotowe 7,5%, popiół 9,6%. Wydajność alkoholu badanych melas ekologicznych była zbliżona jak dla surowców konwencjonalnych, stosunkowo niskie wydajności otrzymano w przypadku melas (syropów 3 i 4) co wskazuje na ich niższą przydatność do hodowli.

W badanych melasach ekologicznych zawartość związków azotowych była niska, 0,3-0,8%, przy zastosowaniu każdego z tych surowców do hodowli drożdży konieczny jest dodatek źródeł azotu tak jak w produkcji konwencjonalnej.

Niecukrowe składniki melasy poza związkami azotowymi to kwasy organiczne. Kwas jabłkowy, mlekowy, cytrynowy, bursztynowy mogą być przyswajane przez drożdże, natomiast kwas mrówkowy, octowy i propionowy, w formie niezdysocjowanej hamują rozwój drożdży. Spośród kwasów organicznych w melasie buraczanej w najwyższym stężeniu występuje kwas octowy, którego zawartość sięga 16,7 g/kg. W badanych melasach ekologicznych zawartość kwasów lotnych nie przekraczała 0,13%.

Dostępność biostymulatorów może decydować o prawidłowym przebiegu procesów biochemicznych podczas wzrostu drożdży w hodowli i ich jakości. Według piśmiennictwa melasy trzcinowe są bogatsze w witaminy, szczególnie w biotynę. Z kolei melasa buraczana musi być suplementowana biotyną oraz uzupełniana w wiele pierwiastków śladowych i witamin, jak: cynk, magnez, tiamina czy kwas pantotenowy. Poza biotyną, najczęściej dodawaną do środowiska hodowlanego witaminą jest tiamina stosowana ze względu na stymulujące działanie na aktywność fermentacyjną drożdży w cieście. Pantotenian wapnia i pirydoksyna wpływają pozytywnie na stabilność drożdży.

**Tabela 2.** Zawartość wybranych metali w melasach (mg/kg) w porównaniu do średniej zawartości w melasie buraczanej z produkcji konwencjonalnej

| Wyszczególnienie<br>mg/kg<br>(zawartość<br>średnio w melasie<br>buraczanej) | Wymagane minimum<br>wzrostowe<br>(optimum<br>glikolityczne) | Melasa<br>buraczana<br>1 | Melasa<br>trzciniowa 2 | Melasa<br>(syrop)<br>buraczana<br>3 | Melasa<br>trzciniowa<br>4 |
|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| Mg<br>(68-115 mg/kg)                                                        | 2-4 mM *<br>48 mg /kg /l                                    | 1480                     | 2460                   | 924                                 | 3420                      |
| Fe<br>(20-30 mg/kg)                                                         | 1-3 $\mu$ M*<br>60 $\mu$ g / l                              | 210                      | 81,1                   | 208                                 | 146,7                     |
| Zn<br>14-16 mg/kg                                                           | 4-8 $\mu$ M*, 15-30 $\mu$ M**<br>tj. 260-520 $\mu$ g/l      | 10                       | 3,7                    | 9                                   | 5,9                       |
| Cu<br>0,9-1,8 mg/kg                                                         | 2 $\mu$ M* tj. 128 $\mu$ g/l                                | 2,5                      | 2,77                   | 2                                   | 1,46                      |
| K<br>1260-3500                                                              | 2-4 mM*<br>96 mg/l                                          | 6700                     | 15980                  | 7110                                | 27370                     |
| Ca<br>485-545 g/kg                                                          | < $\mu$ M*                                                  | 128                      | 3360                   | 222                                 | 8290                      |

\* - optymalne stężenie jonów do wzrostu Jones and Greenfeild (1984), Walker 1998

\*\* -optimum glikolityczne

Badane surowce ekologiczne różniły się znacznie pod względem zawartości metali. Makroelementy (tj. potas, wapń, magnez) w melasach trzcinowych były obecne na poziomie kilkakrotnie wyższym niż w melasach buraczanych, ponadto poziom ten był wyższy niż przeciętnie w melasach konwencjonalnych. Z kolei zawartość żelaza i cynku była wyższa w melasach trzcinowych. Drożdże do wzrostu wymagają określonego stężenia pierwiastków, więc w przypadku ich niedoboru w melasie zwykle prowadzi się suplementację. Minimalne stężenia mikroelementów to m.in. Cu 1,5  $\mu$ M, Zn 4-8  $\mu$ M. W przypadku większości jonów metali ich stężenie było wystarczające do wzrostu drożdży, jedynie stężenie miedzi i cynku wskazuje na konieczność suplementacji brzeczki melasowej do poziomu zapewniającego otrzymanie biomasy o dobrej aktywności fermentacyjnej. Najwyższe stężenie mikroelementów stwierdzono w melasie trzcinowej 4. Zawartość bakterii w melasie może mieć wpływ na jakość mikrobiologiczną drożdży i mieści się w szerokich granicach pomiędzy poziomem  $10^2$  do  $10^9$  jtk/g, zazwyczaj jednak nie przekracza  $10^7$  jtk/g.



**Tabela 3.** Charakterystyka mikrobiologiczna melasy

| Obecność/liczba mikroorganizmów jtk/g        | Melasa buraczana 1 | Melasa trzcinowa 2 | Melasa (syrop) buraczana 3 | Melasa trzcinowa 4 |
|----------------------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------------|--------------------|
| Liczba bakterii mezofilnych                  | $2,5 \times 10^3$  | $1,65 \times 10^3$ | $6,2 \times 10^3$          | $1,5 \times 10^1$  |
| Liczba bakterii przetrwalnikujących          | n.w.               | $5,2 \times 10^2$  | $1,2 \times 10^2$          | $1,5 \times 10^1$  |
| Liczba bakterii z rodzaju <i>Leuconostoc</i> | n.w.               | n.w.               | n.w.                       | $1,0 \times 10^3$  |
| Liczba <i>Bacillus cereus</i>                | n.w.               | $3,5 \times 10^2$  | n.w.                       | $1,0 \times 10^1$  |
| Bakterie z rodziny <i>Enterobacteriaceae</i> | n.w.               | n.w.               | n.w.                       | $0,4 \times 10^1$  |
| Liczba pleśni                                | n.w.               | n.w.               | n.w.                       | n.w.               |
| Liczba drożdży                               | $3,0 \times 10^2$  | n.w.               | $1,2 \times 10^1$          | n.w.               |

n.w. –nie wykryto obecności

W melasach ekologicznych poziom zakażeń był niski, jednak w melasie trzcinowej stwierdzono bakteryje śluzowe z rodzaju *Leuconostoc* i bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, poza tym w trzech próbach z czterech wykryto *Bacillus cereus* co wskazuje na konieczność właściwego przeprowadzania sterylizacji, ponieważ niekiedy po 24, 48 godzinnym przechowywaniu w melasie poddanej sterylizacji, np. w 124°C przez 90 sekund lub 145°C przez 4,5 sekundy wykrywane są bakterie przetrwalnikujące.

Badane melasy ekologiczne różniły się znacząco, zwłaszcza pod względem zawartości cukrów i mikroelementów. Szczególnie istotna jest niska zawartość azotu ogółem i azotu przyswajalnego, zatem związki azotowe muszą być dostarczane w odpowiedniej ilości podczas hodowli.

Melasy ekologiczne są niestandardyzowane, często pod nazwą melasa sprzedawane są syropy zawierające bardzo małe ilości substancji odżywczych. Dobra przydatnością do hodowli drożdży ekologicznych charakteryzowały się melasy 1 (buraczana) i 2 trzcinowa, w ich przypadku ogólna ocena charakterystyki chemicznej, wydajności alkoholu i czystości mikrobiologicznej była zadowalająca.

## Podzadanie 2

Otrzymywanie autolizatu i ekstraktu drożdżowego w celu ich wykorzystania jako źródła azotu w hodowli drożdży.

Do otrzymywania autolizatów i ekstraktów wykorzystano drożdże uzyskane z użyciem surowców ekologicznych. Wykorzystanie drożdży poprodukcyjnych lub pochodzących ze zwrotów może wpłynąć na niezależność producenta od rynku, ponadto byłoby to rozwiązanie zmierzające do obniżenia kosztów produkcji drożdży ekologicznych.

Materiałem do badań była biomasa drożdży piekarskich pochodzących z hodowli w skali mikrotechnicznej. Autolizy wykonywano z kilku różnych partii drożdży. W skali laboratoryjnej, preparaty drożdżowe otrzymano metodą autolizy biomasy drożdży bez induktorów oraz dla porównania z użyciem induktora- NaCl 2,5% . Autolizę prowadzono z 15%-owej zawiesiny drożdży piekarskich, w 50°C, 24 h. Ekstrakt drożdżowy otrzymywano według następującej procedury: zawiesinę komórek w ilości 200 ml umieszczano w wytrząsarce, ustalano warunki autolizy (50°C, 24 h).

Otrzymano ponadto autolizat w skali mikrotechnicznej, w fermentorze Biostat B. Przygotowano po 2 dm<sup>3</sup> 10%-ej zawiesiny drożdży piekarskich, doprowadzano pH do wartości 5,5 i zawiesinę umieszczano w fermentorze (50°C, 24 h, wielkość napowietrzania 2 l/min, mieszanie 50 obr/min.). Po odwirowaniu pozostałości komórek (20 minut, 9000 obr./min) otrzymane ekstrakty (autolizaty) suszono rozpyłowo (temperatury: 120°C/70°C), z użyciem suszarki Büchi; oznaczano w nich zawartość białka oraz wydajność procesu jako ilość białka w stosunku do jego zawartości w drożdżach.

W tabelach 4 i 5 przedstawiono charakterystykę autolizatów i ekstraktów otrzymywanych bez induktorów.

**Tabela 4.** Efektywność autolizy drożdży ekologicznych z hodowli doświadczalnych

| Sposób autolizy | Zawartość białka w drożdżach [g/100 g s.m.] | Wydajność odzyskanego białka [g/100 g s.m. drożdży] | Zawartość białka [g/100 g autolizatu] |
|-----------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Bez induktorów  | 35,4                                        | 45                                                  | 1,3                                   |
| Bez induktorów  | 37,2                                        | 34                                                  | <b>1,2</b>                            |
| Bez induktorów  | 39,0                                        | 42                                                  | 2,1                                   |
| Bez induktorów  | 36,5                                        | 52                                                  | 2,0                                   |
| Bez induktorów  | 38,6                                        | 32                                                  | 1,7                                   |
| Z 2,5% NaCl     | 34,8                                        | 59                                                  | 2,1                                   |

**Tabela 5.**

Efektywność otrzymywania ekstraktów z drożdży ekologicznych (z hodowli doświadczalnych). Ilość białka uzyskanego ze 100 g s.m. drożdży w wyniku ich autolizy oraz zawartość białka

| Sposób ekstrakcji | Wydajność, masa<br>otrzymanego ekstraktu<br>[g/100g s.m. drożdży] | Zawartość białka w<br>ekstrakcie [g/100g] |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Bez induktorów    | 22                                                                | 62,1                                      |
| Bez induktorów    | 44                                                                | 56,5                                      |
| Bez induktorów    | 35                                                                | 60,4                                      |
| Bez induktorów    | 40                                                                | 63,5                                      |
| Bez induktorów    | 46                                                                | 58,9                                      |
| Z 2,5% NaCl       | 38                                                                | 65,4                                      |

Preparaty drożdżowe (autolizaty i ekstrakty) charakteryzowały się wysoką zawartością substancji azotowych jakkolwiek wydajność odzyskanego białka (w autolizatach) nie przekraczała 59 g/100g s.m. drożdży poddawanych autolizie. Biorąc pod uwagę dostępność dla drożdży związków azotowych, wchodzących w skład autolizatów i ekstraktów, mogą być one otrzymywane bezpośrednio w zakładach, w przypadku dysponowania drożdżami odpadowymi.

**Tabela 6**

Skład/Zawartość aminokwasów autolizatów drożdży

| Zawartość aminokwasów  | Autolizat [mg/g] |       | Ekstrakt<br>[g/100g białka] |
|------------------------|------------------|-------|-----------------------------|
|                        | I                | II    |                             |
| treonina               | 2,07             | 0,206 | 4,74                        |
| cystyna+metionina      | 1,92             | 0,780 | 2,59                        |
| walina                 | 2,93             | 0,216 | 7,57                        |
| Izoleucyna             | 2,46             | 0,155 | 5,94                        |
| Leucyna                | 3,48             | 0,225 | 7,82                        |
| Tyrozyna+fenyloalanina | 3,84             | 0,348 | 7,71                        |
| lizyna                 | 4,62             | 0,397 | 9,65                        |
| Tryptofan              | 2,86             | 2,15  | 1,15                        |
| Arginina               | 0,96             | 0,414 | 6,75                        |
| Histydyna              | 1,09             | 0,136 | 2,56                        |
| Glicyna                | 2,24             | 0,466 | 4,85                        |

|                   |      |       |       |
|-------------------|------|-------|-------|
| Alanina           | 2,79 | 0,660 | 7,78  |
| Kwas glutaminowy  | 5,11 | 1,840 | 11,34 |
| Kwas asparaginowy | 4,76 | 0,488 | 10,94 |
| prolina           | 1,96 | 0,119 | 3,95  |
| seryna            | 2,29 | 0,280 | 4,70  |

Autolizaty, otrzymane z drożdży z hodowli prowadzonych w melasach ekologicznych, charakteryzowały się zróżnicowanym składem aminokwasów. Różnice te wynikają z zastosowania do ich otrzymania partii drożdży pochodzących z hodowli wykonanych w różnych schematach i przy wykorzystaniu różnych melas (autolizat I- melasy buraczanej 1, autolizat II- melasy trzcinowej 3). Stwierdzono stosunkowo wysoką zawartość tryptofanu w melasie I i ekstrakcie. Przydatność autolizatu I jako źródła związków azotowych w hodowlach drożdży ekologicznych jest wyższa niż autolizatu II.

Ze względu na koszty związane z suszeniem rozpyłowym w hodowli korzystniejsze jest stosowanie autolizatów niż ekstraktów drożdżowych. Należy zaznaczyć, że ekstrakty charakteryzują się właściwościami powierzchniowo czynnymi wiązania tłuszczu i wody.

### **Podzadanie 3**

Próby doboru składu podłoży hodowlanych do propagacji drożdży, z uwzględnieniem ograniczeń w produkcji ekologicznej, wynikających z Rozporządzenia Rady (WE) nr 834/2007 i Rozporządzenia 889 z 2008 roku, załącznik VIII.

Związki azotowe w melasie reprezentowane są przez aminokwasy, oligopeptydy i polipeptydy, betainę, pochodne proliny (m.in. drugorzędowe aminy). Azot przyswajalny w melasie buraczanej konwencjonalnej to około 35-60% związków azotowych (oznaczanych metodą Kjeldahla tj. około 22,6 g/kg s.m.). Nieasymilowalne składniki melasy to betaina, związki pigmentowe oraz kwas pyrrolidyno-2-karboksylowy, powstający z glutaminy. W hodowli drożdży brzezki melasowe muszą być uzupełniane w substancje będące źródłem azotu oraz stymulujące wzrost.

Doświadczenia obejmowały dobór źródła substancji azotowych w pożywce do hodowli drożdży. Oceniono wpływ takich dodatków jak autolizat drożdżowy, ekstrakt drożdżowy, kazeiniany- wapnia i potasu, namok kukurydziany na wydajność syntezy biomasy drożdży. Dodatki te są zróżnicowane pod względem składu chemicznego, w tym zawartości białka, a także związków sumarycznie wchodzących w jego skład.

Zastosowanie produktów odpadowych generowanych przez różne gałęzie przemysłu spożywczego, jak również produktów rolnych, jest zgodne z aktualnym trendem dotyczącym

redukcji odpadów i gospodarki cyrkularnej. Oczywiście istotne jest aby stosowane surowce były tanie i łatwo dostępne, a także charakteryzowały się niskim stopniem zanieczyszczenia.

Kazeiniany wapnia i sodu są produktami uzyskanymi z kazeiny kwasowej metodą ekstruzji w wyniku neutralizacji węglanem wapnia, magnezu, sodu, wodorowęglanem sodu, lub wodorotlenkiem sodu lub wapnia. Kazeina kwasowa jest produktem otrzymanym w wyniku wytrącania kazeiny (koagulacji białka w punkcie izoelektrycznym) z mleka odtłuszczonego za pomocą kwasów lub enzymów koagulujących. Koagulat kazeiny, po oddzieleniu serwatki, wypłukaniu i wysuszeniu, stanowi trwały koncentrat białkowy (zawartość białka około 90 % s.m.). W badaniach stosowano kazeinian wapnia/potasu o zawartości białka 78,2%.

Namok kukurydziany, jest produktem ubocznym w procesie ekstrakcji skrobi kukurydzianej. Jest to surowiec będący źródłem biotyny, pantotenianu wapnia kwasu foliowego, amidu kw. nikotynowego, ryboflawiny, niacyny, pirodoksyny, Większość (85%) zasobów azotowych namoku stanowią białka, peptydy, ponadto w jego skład wchodzi sole mineralne. W badaniach stosowano: namok kukurydziany charakteryzujący się suchą masą 5,8%, zawartością azotu 3,6% (białka  $N \times 6,25 = 22,4\%$ ), autolizat drożdżowy o zawartości 0,24g azotu w 100g autolizatu, ekstrakt drożdżowy zawierający 63,9% białka, kazeinian sodu o zawartości białka 78,2 ( $N \times 6,25$ ) g/100g.

Biorąc pod uwagę zróżnicowany skład związków azotowych w wykorzystywanych substratach będących źródłem azotu, porównano ilość biomasy otrzymywanej w obecności (w przeliczeniu na suchą masę) 1, 2, 4 g s.m dodatku w pożywce melasowej.

**Tabela 7.** Wpływ źródła azotu na wydajność biomasy drożdży hodowanych na pożywce z ekologicznej melasy buraczanej

| Źródło azotu                    | Wydajność drożdży jako s.m. g/100 ml Poziom dodatku źródła azotu [dodatek g/100ml] |               |               |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|
|                                 | 1                                                                                  | 2             | 4             |
| Ekstrakt drożdżowy              | 0,130±0,001 a                                                                      | 0,603±0,021 a | 0,952±0,022 a |
| Autolizat drożdżowy             | 0,091±0,001 b                                                                      | 0,240±0,002 b | 0,862±0,015 b |
| Namok kukurydziany              | 0,135±0,001 a                                                                      | 0,286±0,016 b | 0,919±0,012 a |
| Kazeinian sodu                  | 0,104±0,001 b                                                                      | 0,322±0,031 b | 0,927±0,073 a |
| Próba kontrolna<br>Sole amonowe | 0,127 ±0,001 a                                                                     | 0,566±0,089 a | 0,832±0,013 b |

± odchylenie standardowe dla trzech niezależnych prób/oznaczeń  
różne litery przy średnich w kolumnie oznaczają istotne różnice w wartościach, ( $P < 0,05$ )

**Tabela 8.** Wpływ źródła azotu na wydajność biomasy drożdży hodowanych na pożywce z ekologicznej melasy trzcinowej

| Źródło azotu                    | Wydajność drożdży jako s.m. g/100 ml. Poziom dodatku źródła azotu |               |               |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|
|                                 | 1                                                                 | 2             | 4             |
| Ekstrakt drożdżowy              | 0,142±0,001 a                                                     | 0,661±0,018 a | 0,850±0,049 a |
| Autolizat drożdżowy             | 0,082±0,001 b                                                     | 0,337±0,015 b | 0,838±0,028 a |
| Namok kukurydziany              | 0,118±0,001 c                                                     | 0,553±0,016 c | 0,876±0,011 a |
| Kazeinian sodu                  | 0,075±0,001 b                                                     | 0,300±0,011 a | 0,780±0,014 c |
| Próba kontrolna<br>Sole amonowe | 0,136 ±0,001 a                                                    | 0,725±0,019 d | 0,820±0,019 b |

± sd. – standard deviation for tree independent determination,

Means with different letters within a row are significantly different (P<0,05)

Wyniki przedstawione w tabelach 7 i 8 wskazują, że dobre efekty w postaci podwyższonej wydajności biomasy uzyskano w przypadku brzezki z melasy buraczanej z dodatkiem ekstraktu drożdżowego i namoku kukurydzianego; przy zwiększeniu dodatku w badaniach do 4g/l (w przeliczeniu na s.m.), również ilość biomasy drożdży uzyskiwanej z użyciem autolizatu drożdżowego była zbliżona do wydajności z namokiem i ekstraktem.. Najmniejszą ilość biomasy otrzymywano z dodatkiem kazeinianu sodu. W kolejnym etapie oceniono wpływ wybranych substancji, poza kazeinianem sodu, jako źródła białka w skali mikrotechnicznej.

Ze względu na chronologię prowadzenia badań oraz ich metodykę tj. hodowlę w fermentorach, w tabelach 9, 10 i kolejnych przedstawiono wyniki obejmujące zarazem doświadczenia nad ustaleniem składu podłoża, w tym dodatków stanowiących źródła azotu jak i optymalizacją warunków hodowli, zaplanowane jako **zadania 3 i 4**.

Inokulum do hodowli mikrotechnicznych przygotowywano stopniowo zwiększając objętość drożdży: materiałem ze skosów szczepiono podłoże YPD, które następnie inkubowano przez 20h w temperaturze 30<sup>0</sup>C, następnie drożdże przenoszono do kolbek z melasą (51g/l), inkubowano w wytrząsarce przez 20h w temperaturze 30<sup>0</sup>C, drożdże wirowano i szczepiono nimi hodowle mikrotechniczne generacji I. Otrzymane drożdże po odwirowaniu i przemyciu, stanowiły materiał wysiewny w hodowlach generacji II, inokulum stanowiło od 15-25% w stosunku do zaplanowanego zużycia melasy. Hodowle mikrotechniczne prowadzono w

fermentorach firmy B. Braun z komputerowym sterowaniem parametrów procesu przy objętości roboczej 2l i 5l.



Zdjęcie 1. Stanowisko do badań w skali mikrotechnicznej, fermentory B.Braun

W hodowli drożdży w warunkach konwencjonalnych jako źródło azotu stosowana jest woda amoniakalna, będącą źródłem jonów amonowych. Ilość wody amoniakalnej i dodatek soli mineralnych jest obliczany w zgodzie z teoretycznym zapotrzebowaniem wzrostowym drożdży, wodą amoniakalną regulowane jest ponadto pH podłoża hodowlanego. W celu zachowania stosunku C:N w pożywce pożywki azotowe powinny być dozowane stopniowo, w zależności od szybkości dozowania melasy. Zbyt mała proporcja prowadzi do nadmiaru azotu w pożywce, zbyt duża do obniżenia aktywności fermentacyjnej drożdży. Zróżnicowany poziom związków azotowych w takich substancjach jak autolizaty utrudnia stworzenie stałego schematu dozowania w hodowlach ekologicznych, może być jednak prowadzony monitoring poziomu azotu formolowego w brzeczках.

Przeprowadzono hodowle z dodatkiem badanych substancji będących źródłem związków azotowych. Doświadczenia prowadzono przy różnych stężeniach substratu węglowego wyrażonych jako rozcieńczenie melasy wynikające z dozowania substratu (stosunku masy melasy do objętości roboczej fermentora). Zastosowano dozowanie melasy w schemacie wzrastającym (I). We wszystkich doświadczeniach korzystano ze szczepu drożdży *Saccharomyces cerevisiae* KKP 512. Do regulacji pH stosowano  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , a jako odpieniacz był używany olej ekologiczny. Następnie oddzielano drożdże poprzez wirowanie i określano

ilość otrzymanej biomasy w przeliczeniu na drożdże o zawartości 27% suchej masy. W drożdżach oznaczono siłę pędną (wg.PN-A/79005-5) rozumianą jako zdolność wydzielania dwutlenku węgla podczas fermentacji ciasta, czyli aktywność fermentacyjną wyrażoną ilością dwutlenku węgla wydzielonego podczas 2 godzin.

**Tabela 9.** Wpływ źródła azotu na wydajność hodowli i jakość drożdży ekologicznych w skali mikrotechnicznej, hodowle z użyciem melasy buraczanej

| Rozcieńczenie końcowe melasy | Źródło azotu,                                   | Wydajność biomasy g D27/100g M | Zawartość białka, % | Siła pędna jako aktywność fermentacyjna, ml CO <sub>2</sub> |
|------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------|
| 1:7 ok 71 g/l                | Autolizat 300ml                                 | 90,4                           | 40,4                | 240/540/950/1415                                            |
| 1:7 ok 71 g/l                | Ekstrakt, 10 g                                  | 88,0                           | 41,1                | 190/575/1005/1405                                           |
| 1:7 ok 71 g/l                | Autolizat 100ml                                 | 89,4                           | 40,0                | 205/585/1010/1390                                           |
| 1:7 ok 71 g/l                | Namok 100ml                                     | 82,1                           | 38,3                | 180/450/840/1130                                            |
| 1:7 ok 71 g/l                | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 90,2                           | 39,1                | 205/495/985/1315                                            |

D27- drożdże o zawartości 27% s.m.

M- melasa

**Tabela 10.** Wpływ źródła azotu na wydajność hodowli i jakość drożdży ekologicznych w skali mikrotechnicznej, hodowle z użyciem melasy trzcinowej

| Rozcieńczenie końcowe brzezki | Źródło azotu,                                   | Wydajność biomasy g D27/100g M | Zawartość białka,% | Siła pędna jako aktywność fermentacyjna, ml CO <sub>2</sub> |
|-------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------|
| 1:7 (ok 71 g/l)               | Autolizat, 300ml                                | 95,4                           | 41,1               | 190/505/945/1215                                            |
| 1:7 (ok 71 g/l)               | Ekstrakt, 10 g                                  | 86,5                           | 40,3               | 200/490/875/1185                                            |
| 1:7 (ok 71 g/l)               | Autolizat 100                                   | 97,1                           | 38,0               | 180/525/980/1210                                            |
| 1:7 (ok 71 g/l)               | Autolizat 50                                    | 91,0                           | 36,4               | 170/360/770/1125                                            |
| 1:7 (ok 71 g/l)               | Namok 100ml                                     | 88,3                           | 38,9               | 160/345/765/1125                                            |
| 1:7 (ok 71 g/l)               | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 96,2                           | 37,8               | 215/480/945/1200                                            |

D27- drożdże o zawartości 27% s.m.

M- melasa

Badania w skali mikrotechnicznej pozwoliły stwierdzić, że dobre efekty w hodowli w brzezkach otrzymanych z melas ekologicznych, zarówno trzcinowych jak i buraczanych, daje stosowanie autolizatów drożdżowych. Stwierdzono, że jakkolwiek namok kukurydziany



stanowi także dodatek korzystny pod względem wpływu na wydajność i aktywność fermentacyjną drożdży to jego stosowanie może stwarzać problemy ze względu na wytrącanie się osadów podczas sterylizacji. Aktywność fermentacyjna drożdży otrzymanych w hodowlach z wykorzystaniem melas ekologicznych była stosunkowo niska w porównaniu do drożdży piekarskich konwencjonalnych. Najwyższą aktywność fermentacyjną zanotowano w przypadku hodowli w brzeczkach z melasy buraczanej, w których jako źródło azotu wykorzystano autolizat drożdżowy w ilości 300 ml – 1415 ml CO<sub>2</sub> oraz 100 ml-1390 ml CO<sub>2</sub>, a także ekstrakt drożdżowy – 1405ml CO<sub>2</sub> (Tabela 9). W analogicznie prowadzonych hodowlach z użyciem melasy trzcinowej zaobserwowano nieco wyższą wydajność biomasy drożdży.

#### Podzadanie 4.

Badanie optymalnego stężenia i schematu dozowania substratu węglowego w skali mikrotechnicznej. Badanie wpływu składników podłoża na wydajność biomasy drożdży, a także na ich aktywność fermentacyjną i trwałość.

Substancje stanowiące źródło węgla (i energii) są podstawowym składnikiem pożywek stosowanych do hodowli mikroorganizmów. Ponadto podłoża muszą zawierać składniki niezbędne do prawidłowego przebiegu procesów metabolicznych czyli będące źródłem azotu, składników mineralnych i stanowiących biostymulatory. W celu zapewnienia właściwych warunków procesu hodowli wykorzystywane są dodatki regulujące pH i antypieniące.

Hodowle obejmowały dobór stężenia pożywki melasowej w skali laboratoryjnej, a następnie mikrotechnicznej z uwzględnieniem schematu dozowania tak aby uzyskać najwyższą wydajność w stosunku do substratu (ilość uzyskanych drożdży w przeliczeniu na melasę o zawartości cukru 50% (D 27/M50).

W badaniach uwzględniono różne stężenia brzezki melasowej (końcowe rozcieńczenie melasy w zakresie 1:10 ÷ 1:5, wynikające z ilości dozowanego substratu), tak aby odpowiadało stężeniu cukru w zakresie około 50 g/l do około 100 g/l).

**Tabela 11.** Wpływ stężenia źródła węgla na wydajność biomasy drożdży hodowanych w pożywce z ekologicznej melasy

| Źródło węglowodanów | Stężenie węglowodanów g/l             |               |               |
|---------------------|---------------------------------------|---------------|---------------|
|                     | 50                                    | 71            | 100           |
|                     | Wydajność drożdży jako s.m. g/100 ml. |               |               |
| Melasa trzcinowa    | 0,788±0,001 a                         | 0,915±0,016 a | 0,950±0,049 a |
| Melasa buraczana    | 0,820±0,001 b                         | 0,974±0,014 b | 1,112±0,018 b |

W hodowlach wstrząsanych, kolbkowych stosunkowo wysokie ilości biomasy drożdży otrzymano przy stężeniu cukru w pożywce melasowej 50 g/l i 71 g/l, podwyższenie stężenia cukru w pożywce do 100g/l nie spowodowało proporcjonalnego przyrostu biomasy, konieczne jest w tym przypadku odpowiednie dozowanie by nie doszło do fermentacji..

Hodowle w skali mikrotechnicznej wykonano w fermentorach Biostat B B.Braun z komputerowym sterowaniem parametrami hodowli.

Aktywność fermentacyjną drożdży oceniono w aparacie SJA zgodnie z PN-A-79005-5 jako ilość dwutlenku węgla wydzielonego podczas fermentacji ciasta, Trwałość drożdży oceniono zgodnie z PN-A-79005-6.

W produkcji konwencjonalnej z użyciem melasy buraczanej oczekiwana wysoka wydajność wynosi około 110% co oznacza około 0,54 g D27 z 1 g cukru.

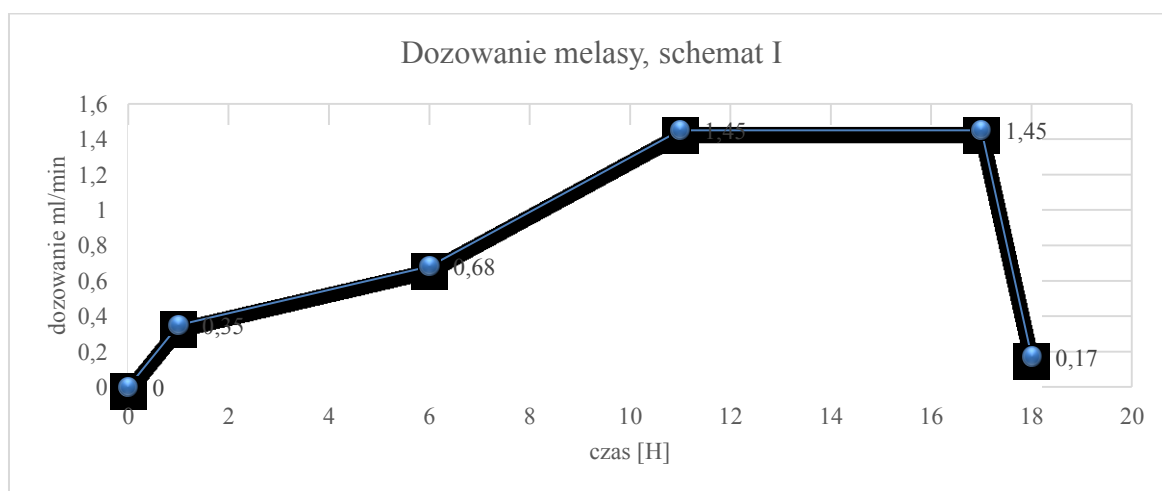
Porównanie wydajności, aktywności fermentacyjnej i trwałości drożdży uzyskanych z hodowli przy zróżnicowanym stężeniu węglowodanów w brzeczce melasowej oraz schemacie dozowania (zgodnie z rysunkami 1,2,3) przedstawiono w tabeli 12.

Tabela 12. Wpływ stężenia źródła węgla w brzeczках z melasy ekologicznej na jakość drożdży.

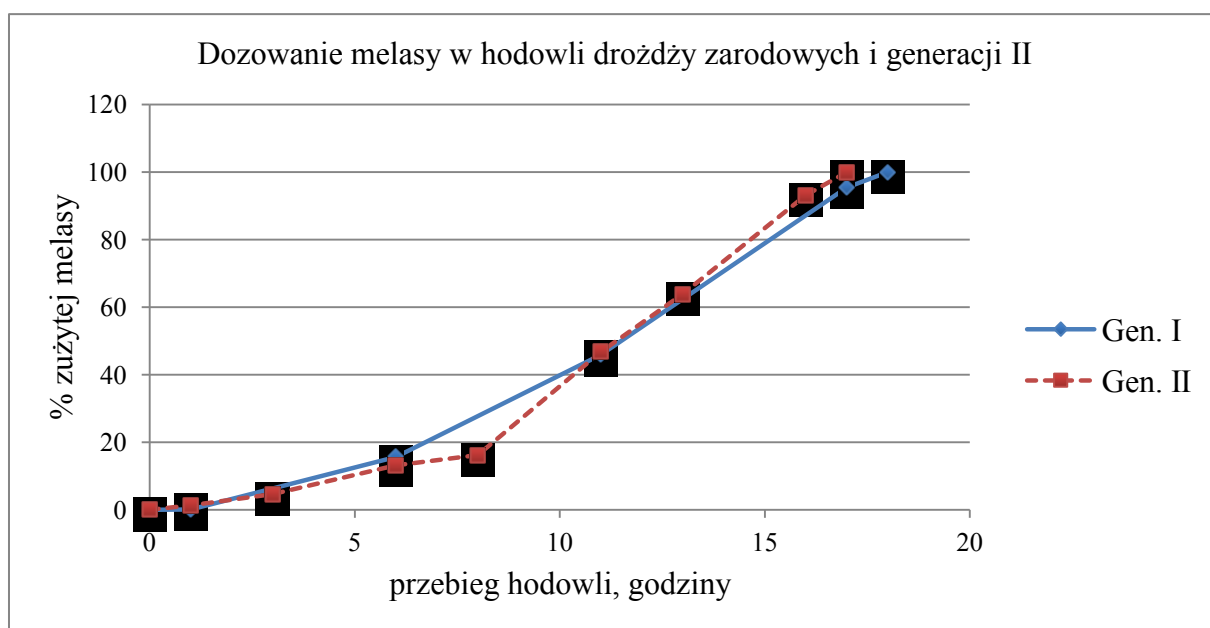
| Rodzaj i stężenie źródła węglowodanów | Sposób dozowania | Wydajność, % D27/M50 | Aktywność fermentacyjna, cm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> | Trwałość, dni |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|----------------------------------------------------------|---------------|
| melasa buraczana 50g/l                | Schemat I        | 9,6                  | 200/525/925/1390                                         | 6             |
| melasa buraczana 71g/l                | Schemat I        | 90,4                 | 240/540/950/1415                                         | 7             |
| melasa buraczana 50g/l                | Schemat II       | 97,8                 | 185/500/875/1375                                         | 6             |
| melasa buraczana 71g/l                | Schemat II       | 92,3                 | 185/495/925/1350                                         | 8             |
| melasa buraczana 50g/l                | Schemat III      | 101,0                | 175/450/875/1275                                         | 6             |
| melasa buraczana 71g/l                | Schemat III      | 96,2                 | 210/475/900/1345                                         | 6             |
| melasa buraczana 100 g/l              | Schemat III      | 86,0                 | 215/500/825/1250                                         | 8             |
| melasa trzcinowa 50g/l                | Schemat I        | 93,2                 | 175/450/890/1175                                         | 6             |
| Melasa trzcinowa 71g/l                | Schemat I        | 97,4                 | 190/505/945/1215                                         | 6             |
| Melasa trzcinowa 50g/l                | Schemat II       | 99,6                 | 160/450/800/1150                                         | 6             |
| Melasa trzcinowa 71g/l                | Schemat II       | 98,2                 | 180/480/960/1185                                         | 7             |

|                         |             |       |                  |   |
|-------------------------|-------------|-------|------------------|---|
| Melasa trzcinowa 50g/l  | Schemat III | 103,1 | 175/485/925/1200 | 7 |
| Melasa trzcinowa 71g/l  | Schemat III | 99,0  | 205/475/875/1185 | 7 |
| Melasa trzcinowa 100g/l | Schemat III | 89,0  | 220/480/890/1200 | 8 |

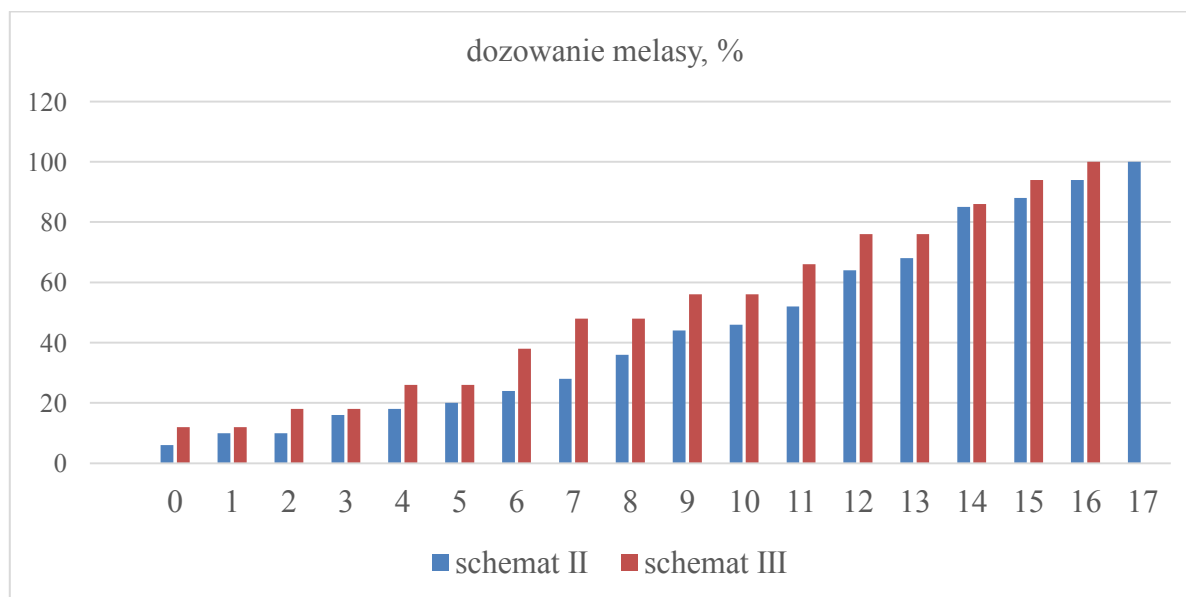
Na rysunkach poniżej (Rys1 i 2) przedstawiono schemat dozowania substratu węglowego (melasy) w doświadczeniach w skali mikrotechnicznej. Dozowanie melasy według schematu I przedstawiono w ml/minutę (zgodnie z rzeczywistym przebiegiem hodowli) oraz tak jak w przypadku schematu II i III przedstawiono jako zużycie melasy, % w stosunku do zaplanowanego.



Rys. 1 .Sposób dozowania melasy w doświadczeniach w skali mikrotechnicznej, schemat I, ml/min



Rys. 2. Sposób dozowania melasy w doświadczeniach w skali mikrotechnicznej, schemat I, % zużytej melasy



Rys. 3. Sposób dozowania melasy w doświadczeniach w skali mikrotechnicznej, porównanie procentowego zużycia melasy według schematu II i III, %

Biorąc pod uwagę zróżnicowaną zawartość węglowodanów, a także mikroelementów i biostymulatorów w melasach buraczanych i trzcinowych, a także to, że uzyskane wydajności i aktywności fermentacyjne drożdży nie były wysokie, wykonano hodowle, w których zastosowano jako podłoże obydwa rodzaje melasy zmieszane w stosunku 30:70, z przewagą melasy buraczanej.

Tabela 13. Wpływ zastosowania ekologicznej melasy buraczanej i trzcinowej jako podłoża do hodowli na jakość drożdży ekologicznych

| Rodzaj i stężenie źródła węglowodanów       | Sposób dozowania | Wydajność, % D27/M50 | Aktywność fermentacyjna, cm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> | Trwałość, dni |
|---------------------------------------------|------------------|----------------------|----------------------------------------------------------|---------------|
| melasa buraczana i trzcinowa 70%:30% 50g/l  | Schemat I        | 101,2                | 210/515/905/1385                                         | 7             |
| melasa buraczana i trzcinowa 70%:30% 71g/l  | Schemat I        | 90,4                 | 235/525/945/1405                                         | 7             |
| melasa buraczana i trzcinowa 70%:30% 100g/l | Schemat I        | 87,5                 | 200/510/880/1320                                         | 7             |

W hodowlach, w których zastosowano jako substrat mieszaninę dwu rodzajów melas ekologicznych otrzymano drożdże, charakteryzujące się aktywnością fermentacyjną na stosunkowo wysokim poziomie, w porównaniu do drożdży, uzyskanych w hodowlach w

melasach trzcinowych i buraczanych stosowanych oddzielnie. Jednak biorąc pod uwagę ogólnie niższe wyniki aktywności fermentacyjnej niż w hodowlach drożdży w systemie konwencjonalnym można stwierdzić, że przydatność melas ekologicznych do hodowli drożdży jest niższa niż surowców konwencjonalnych. Wymagana jest suplementacja brzezki melasowej w niezbędne stymulatory wzrostu.

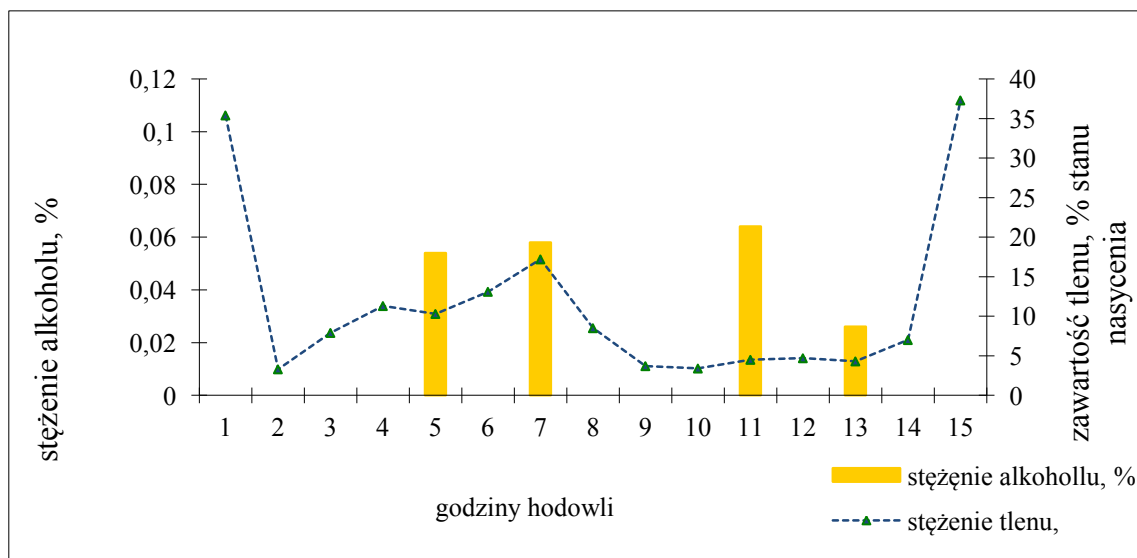
## Podzadanie 5

Optymalizacja hodowli pod względem takich parametrów jak: pH, zawartość tlenu rozpuszczonego w brzezce drożdżowej, ich wpływu na aktywność fermentacyjną i wydajność biomasy, substancji pomocniczych do regulowania pH hodowli i ewentualnie dodatku mikroelementów i witamin.

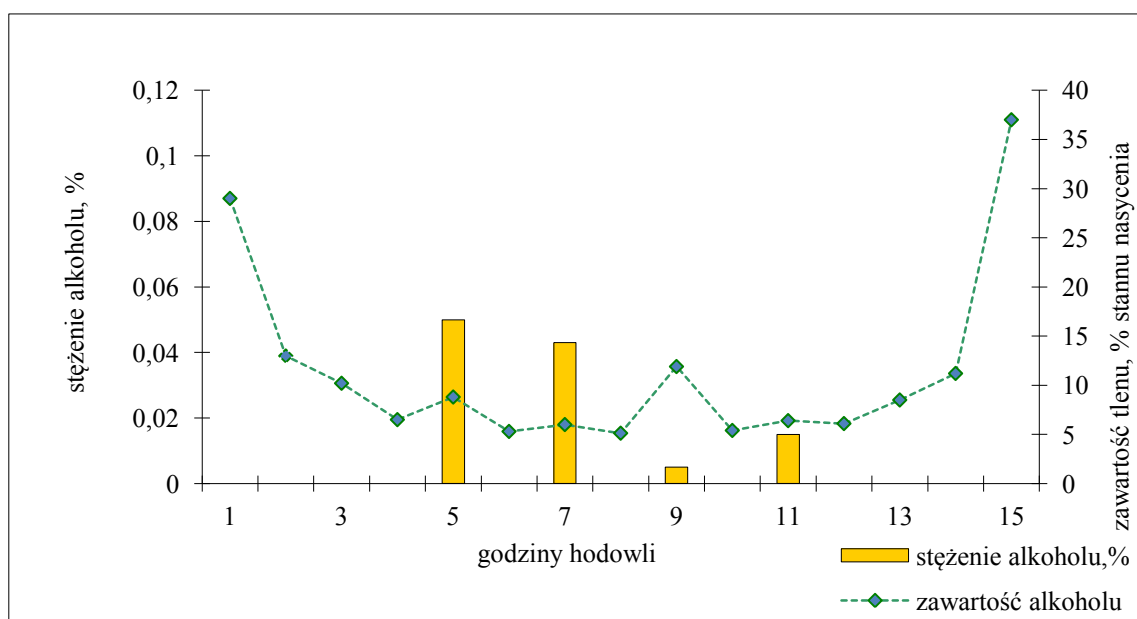
Ilość tlenu rozpuszczonego w podłożu, sposób jego rozprowadzenia podczas hodowli jest podstawowym czynnikiem determinującym metabolizm drożdży, a więc również parametrem limitującym proces produkcji. Przy wysokim poziomie zaopatrzenia w tlen drożdże *Saccharomyces cerevisiae* wykazują metabolizm oksydacyjny (tlenowy), co skutkuje przyrostem biomasy. W przypadku nieobecności (niewystarczającej dostępności) tlenu przebieg procesów metabolicznych zmienia się – dominuje metabolizm fermentacyjny. W rezultacie, rozpoczyna się produkcja etanolu będącego końcowym akceptorem protonów dla NADH. Jest to tzw. efekt Pasteura, który polega na hamowaniu fermentacji cząsteczki cukru w komórce, pod wpływem obecności tlenu. Z kolei odpowiedzią komórek na nadmierne stężenia źródła węgla w podłożu jest beztlenowe katabolizowanie cukru w warunkach pełnego dostępu tlenu (efekt Crabtree).

Produkcję drożdży piekarskich prowadzi się w warunkach tlenowych, wykorzystując efekt Pasteura oraz przy limitacji cukrem tj. przy maksymalnym stężeniu cukru w środowisku, które nie wywołuje fermentacji alkoholowej lub utrzymuje ją na minimalnym poziomie. Zbyt niskie stężenie tlenu w czasie hodowli prowadzi do obniżenia wydajności substratowej. Przebieg procesów zachodzących w komórce w czasie hodowli, wpływa na, cechy użytkowe drożdży piekarskich, w tym aktywność fermentacyjną drożdży w cieście, gdzie metabolizm drożdży ma charakter fermentacyjny. Maksymalna ilość melasy doprowadzanej do fermentora i odpowiednia ilość powietrza zależy od konstrukcji fermentora, w tym sposobu doprowadzenia powietrza. W hodowli można stosować nie tylko powietrze lecz także tlen. Przykładowo przy roboczej objętości  $70 \text{ m}^3$  potrzeba  $2,5 \text{ kg}$  tlenu na  $\text{m}^3$  na godzinę na  $\text{kg}$  substratu -700kg melasy

W hodowlach prowadzonych w warunkach mikrotechnicznych stopień napowietrzenia brzezki można regulować poprzez ilość doprowadzonego powietrza (strumień przepływający przez rotor) i obroty mieszadła.



Rys. 4 Zawartość tlenu w brzezce w schemacie II, % stanu nasycenia



Rys. 5 Zawartość tlenu w brzezce w schemacie III, % stanu nasycenia

Dozowanie substratu węglowego wpływa na zużycie tlenu przez drożdże. Przy dozowaniu substratu węglowego według schematu II zawartość tlenu w brzezce w pierwszych 7 godzinach hodowli dochodziła do 20% stanu nasycenia, a po 8 godzinie zmniejszała się poniżej 5%, w brzezce pojawił się jednak etanol w stężeniu 0,65%. Z kolei przy III

schemacie dozowania tlen pozostawał na poziomie nieprzekraczającym 12% stanu nasycenia, co związane było także z niskim stężeniem etanolu – maksymalnie 0,05%.

Biorąc pod uwagę zawartość tlenu w brzeczce (% stanu nasycenia) opracowane schematy dozowania II i III skutkują prawidłowym dla drożdży zakresem stężenia tlenu rozpuszczonego to jest od 10 do 20% stanu nasycenia, najkorzystniejszym dla wykładniczego wzrostu drobnoustrojów, który w tych warunkach jest ograniczony tylko przez szybkość dopływu źródła węgla.

Obecność składników wzrostowych w melasie takich jak biotyna, kwas pantotenowy, M-inozytol, pirydoksyna, tiamina jest zróżnicowana; zazwyczaj ich poziom w melasie trzcinowej jest wyższy niż w melasie buraczanej. Dlatego korzystne jest, zwłaszcza w warunkach produkcji ekologicznej stosowanie mieszanki dwóch rodzajów melas jako podłoża do hodowli.

W celu optymalizacji warunków hodowli wykonano szereg doświadczeń, w których zastosowane zróżnicowane wartości pH, i temperatury hodowli i określono wpływ tych parametrów na jakość i wydajność biomasy drożdży. Porównano również charakterystykę drożdży otrzymanych bez dodatków i z dodatkami biostymulatorów-biotyny i tiaminy w dawce odpowiednio: 0,3 mg/l i 2 mg/l, a także jonów cynku w ilości 10mg/l.

Tabela 14. Wpływ zastosowanych mikroelementów i witamin na wydajność hodowli i jakość drożdży ekologicznych w skali mikrotechnicznej, hodowle z użyciem melasy buraczanej, stężenie brzeczki 71 g/l.

| parametry hodowli  | Dodatki                | Siła pędna jako aktywność fermentacyjna |
|--------------------|------------------------|-----------------------------------------|
| pH 5,2, temp.30°C  | Bez dodatków           | 175/360/725/1175                        |
| pH 5,2, temp. 30°C | Biotyna, Tiamina       | 190/425/815/1235                        |
| pH 5,2, temp. 30°C | Biotyna, Tiamina, cynk | 180/450/840/1230                        |
| pH 4,5, temp 30°C  | Bez dodatków           | 190/345/715/1180                        |
| pH 4,5, temp 30°C  | Biotyna, Tiamina       | 205/445/735/1225                        |
| pH 5,2, temp. 25°C | Bez dodatków           | 180/380/795/1195                        |
| pH 5,2, temp. 25°C | Biotyna, Tiamina       | 205/435/725/1215                        |

Dodatek biotyny i tiaminy w dawce odpowiednio: 0,3 mg/l i 2 mg/l, Zn – 10mg/l,.

Dodatek biostymulatorów wpływał pozytywnie na aktywność fermentacyjną drożdży otrzymywanych z udziałem ekologicznej melasy buraczanej. Rozporządzenie 834 nie

wymienia jednak biostymulatorów jako dodatków stosowanych w produkcji drożdży, biorąc jednak pod uwagę niewielkie, w stosunku do melasy i substancji pomocniczych, ilości dodatków celowe byłoby wzbogacanie brzezki podczas hodowli.

#### Wnioski

1. Na wydajność biomasy i jakość drożdży w produkcji ekologicznej decydujący wpływ ma jakość surowca - melasy ekologicznej. W porównaniu do ekologicznej melasy buraczanej zastosowanie melasy trzcinowej pozwala na uzyskanie wyższych wydajności biomasy drożdży.
2. W hodowlach drożdży ekologicznych dobre efekty pod względem wydajności biomasy daje wykorzystanie autolizatów i ekstraktów drożdżowych jako źródło azotu.
3. W przypadku szczepu *Saccharomyces cerevisiae* KKP 512 prowadzenie hodowli powinno odbywać się w pH 4,5 - 5,2 i temperaturze 25 - 30°C. Substrat węglowy powinien być dozowany w schemacie wzrastająco-malejącym (w badaniach II lub III). Poziom etanolu w brzezce nie powinien przekraczać 0,05%.
4. Aktywność fermentacyjna drożdży otrzymanych w warunkach hodowli ekologicznych nie przekraczała 1415 ml CO<sub>2</sub>, po 2 godzinach fermentacji. Jest to związane z niską zawartością białka w drożdżach oraz niestosowaniem dodatków biostymulatorów.
5. Zawartość tlenu rozpuszczonego w brzezce hodowlanej powinna być utrzymywana powyżej 8%, optymalnie 15%.



## LITERATURA

1. Angelov A., Karadjov G., Roshkova Z.: Strains selection of baker's yeast with improved technological properties, Food Research International, vol 29,no3-4, 235-239, 1996
2. Angelov A., Hristozova T., Roshkova Z.; Maltase activity and dough rising ability of baker's yeasts obtained at different growth conditions during the maturation stage, Z. Lebensmittel Untersuch. Forsch. A. 1997, 205, 80-84
3. Attfield P.; Stress in relation to baker's yeast, Tenth international Symposium on Yeasts, Symposium Book, ISY 2000-The rising power of yeasts in science and industry, 64-65, 2000
4. Barford J., Hall R.; An examination of Crabtree effect in *Saccharomyces cerevisiae*: the role of respiratory adaptation, J. Gen. Microbiol. 114, 267-275, 1979
5. Bellgard K., Yuan J.: Process models: Optimization of yeast production- a case study, Biotechnology second edition, 1991. Edited by H.J. Rehm and G. Reed, Vol. 4. Measuring, Modeling and Control, Volume Editor Schügerl K., Reed G., VCH, Weinheim, New York, Basel 385-406,
6. Beudeker R. Van Dam H., Van der Plaats, Vallenga K; Developments in baker's yeast production, w Yeast Biotechnology and Biocatalysis, 1990. Verachter H., De Mot R., Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, 103-146
7. [Broach J.](#), (2012): Nutritional Control of Growth and Development in Yeast. Genetics, 192(1): 73-105.
8. Burrows S.: Baker's Yeast .Economic Microbiology, Vol. 4, A.H. Rose Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, 31-64, 1979
9. Conrad M., Schothorst J., Nag Kankipati H., Van Zeebroeck G., Rubio-Teixeira M., Thevelein J. (2014): Nutrient sensing and signaling in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Microbiology Reviews 38 244-299.
10. [Durão Vieira E.](#), [da Graça Stupiello Andrietta M.](#), [Roberto Andrietta S.](#) (2013): Yeast biomass production: a new approach in glucose-limited feeding strategy. Brazilian Journal of Microbiology., 44(2): 551–558
11. Entian K.: Regulation of C- metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*, Proceedings of VH- Yeast conference in Vienna, 1997
12. [Gélinas P.](#) (2009): Inventions on baker's yeast strains and specialty ingredients. Recent Patents on Food, Nutrition, and Agriculture, 1(2):104-32.

13. Gomez-Pastor R, Perez-Torrado R, Garze E., Matalana E. (2011): Recent Advances In Yeast Biomass Production. Biomass – detection, production and Usage, Dr. Darko Matovic (Ed.), ISBN: 978-953-307-492-4,
14. [Hofman-Bang J.](#) (1999): Nitrogen catabolite repression in *Saccharomyces cerevisiae*. [Molecular Biotechnology](#). 12(1):35-73.
15. Łabendziński St.: Produkcja drożdży piekarskich prasowanych o wysokiej aktywności maltatycznej . 1971, Dokumentacja IPF
16. Hino A., Mihara K., Nakashima K., Takano H.; Trehalose levels and survival ratio of freeze- tolerant versus freeze-sensitive yeasts, *Applied and Environmental Microbiology*, 56,5,1386-1391,1990
17. Kockova –Kratochvilova A.:Yeasts and Yeast-like Organisms, VCH, 1990
18. [Magasanik B](#), [Kaiser CA](#). (2002): Nitrogen regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. [Gene](#). 290 (1-2):1-18.
19. Oura E., Suomalainen A., Viskari A.: Breadmaking, *Economic Microbiology*, vol. 7, 1982. A.H. Rose, Academic Press, New York, 87-146
20. O'Connor G., Saucher-Riera F., Cooney C.,; Design and evaluation of control strategies for high cell density fermentations, *Bitechnol. and Bioeng.* 39, 393-304, 1992
21. Oura E., Suomalainen A., Viskari R., Breadmaking, *Economic Microbiology*, vol. 7, A.H. Rose, Academic Press, New York, 87-146, 1982
22. Oura E.: Effect of aeration intensity on biochemical composition of baker's yeast. II Activities of the oxidative enzymes, *Biotechnol. Bioeng.*, 1974, vol. 16, 1213.
23. Praca zbiorowa: Yeast-Bitechnology and Biocatalyses, edited by Verachter H., De Mot R., Catholic University of Louven, Belgium, 1990
24. [Randez-Gil F](#), [Córcoles-Sáez I](#), [Prieto JA](#). (2013): Genetic and phenotypic characteristics of baker's yeast: relevance to baking. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4:191-214. doi: 10.1146/annurev-food-030212-182609.
25. Rieger M., Kappeli O., Fiechter A.: The Role of Limited Respiration in the Incomplete Oxidation of Glucose by *Saccharomyces cerevisiae*, *Journal of General Microbiology*, 129, 653-661, 1983
26. Schnepher L, Düvel K, Broach JR, (2004): Sense and sensibility: nutritional response and signal integration in yeast. *Current Opinion Microbiology*, 7(6):624-30.
27. Stecka K.: "Kontrola procesu produkcji drożdży piekarskich, cz.I. Metody fizyko-chemiczne, Warszawa,"Polmos", 1988

28. Stecka K., Piasecka-Jóźwiak K.: Nowe szczepy drożdży piekarskich otrzymane metodami inżynierii komórkowejw praktyce produkcyjnej polskich drożdżowni, przemysł Fermentacyjny i Owocowo- warzywny, tom 41, (2),1997
29. Tanaka F, Ando A, Nakamura T, Takagi H, Shima J. (2006): Functional genomic analysis of commercial baker's yeast during initial stages of model dough-fermentation. *Food Microbiology*, 23(8):717-28
30. Trivedi N., Jacobson G., Tesch W.: Baker's yeast : CRC Critical Reviews in Biotechnology, Vol 4, 75-109, 1986
31. Walker G; Yeast physiology and biotechnology, Wiley and son, 1998
32. Van Dijck P., Colavizza D., Smet P. Thevelein J.; Differential Importance of trehalose in stress resistance in fermenting and nonfermenting *Saccharomyces cerevisiae* cells, *Applied and Environmental Microbiology*, 61,1, 109-114, 1995
33. Van Hoek P., Van Dijken J., Pronk J.;Effect of Specific growth rate on fermentative capacity of baker's yeast, *Applied and Environ. Microbiol.* 64, 11, 4226-4233,1998
34. [Zamani J, Pournia P, Seirafi HA. \(2008\): A novel feeding method in commercial Baker's yeast production. \*J Appl Microbio\* 105\(3\):674-80.](#)
35. Zimmermann F., Entian K.: Yeast sugar metabolism, Technomic Publishing Co.,Inc.,1997
36. Zwoliński G.: Regulacja biosyntezy trehalozy w sterowanej hodowli drożdży piekarskich, praca doktorska, Politechnika Łódzka, 1995

Polska Norma Drożdże. Metody badań. Postanowienia ogólne i Terminologia PN-A-79005-1: 1997.

Polska Norma. Melas buraczany. PN-76/R-64772: 1976