

МИКРОБИОЛОГИЯ

Ф. Г. Сарухян

**Рост дрожжей из рода *Torulopsis*
на гидролизате соломы¹**

В последние годы в животноводческих хозяйствах начали применять дрожжевание кормов.

Заграницей дрожжи вводятся в кормовой рацион животных уже в течение нескольких десятков лет.

Гонкамп и Волград еще в 1905 году, на основании своих работ, пришли к убеждению, что по содержанию протеина дрожжи не уступают хорошему корму животного происхождения. Ценность дрожжей как корма еще больше увеличивается благодаря значительному содержанию в их клетках различных витаминов.

Работами Завадовского, Дьякова (1934—1937 гг.), а также ряда иностранных авторов (Горт, Ганджес и др.) было доказано наличие витамина D в облученных ультрафиолетовыми лучами дрожжах. Кроме того дрожжи содержат витамины комплекса B и другие. Особенно заметно сказывается благоприятное действие дрожжей в повышении яйценоскости у кур и отложения сала у свиней.

В некоторых районах СССР используются как корм дрожжи винокуренного, пивоваренного и хлебного производств.

По данным Дьякова, Попова и Клинга, различные дрожжи по химическому составу мало отличаются друг от друга.

Опыты по скормливанию дрожжеванного корма показали увеличение коэффициента переваримости у бычков и удоя у коров (работы Карапетяна и других авторов 1940—1942 гг.).

Для производства кормовых дрожжей необходима особая сырьевая база, так как меласса (отходы сахарного производства) служит сырьем для хлебных дрожжей. Возникла мысль об использовании гидролизата соломы, богатого пентозами.

Из литературных данных известно, что дрожжи, способные разлагать пентозу, встречаются редко. Один из таких видов удалось выделить Плевако из морских водорослей (в Мурманске). Выделенный грибок был отнесен к роду *Monilia* и назван *Monilia murganica*.

Средой для развития этих дрожжей являлись гидролизаты соломы. На этой базе и был построен первый в СССР опытный завод для производства кормовых дрожжей.

¹ В проведении экспериментальной части работы принимала участие лаборантка Р. Каримян.

Микробиологический сектор Биологического института Армянского филиала Академии Наук СССР поставил себе целью с 1940 г. изучить производство кормовых дрожжей из отходов сельского хозяйства и выделить такие штаммы дрожжей, которые могут утилизировать пентозы.

Выделение дрожжей

Для выделения дрожжей нами был использован хмель, растущий в диком виде в различных районах Армянской ССР.

Пробы хмеля доставлялись в лабораторию в августе—октябре месяцах в состоянии различной зрелости: в зеленом, золотисто-желтом и сухом виде, в стерильных мешках или банках. Предварительное выделение дрожжей производилось на сусло-агаре сначала из одной колонии, а затем и из одной клетки. Всего было выделено сто штаммов дрожжей, но из них оказались способными хорошо развиваться на гидролизате соломы только четыре штамма. Подробное описание хмелевых дрожжей можно найти в другой нашей работе („Дрожжи эпифитной микрофлоры хмеля различных районов Армянской ССР“. Микробиологический сборник Арм. ФАН, 1943 г.).

Одновременно были сделаны попытки выделения активных штаммов дрожжей из диких плодов: груш, яблок и дикорастущих ягод: ежевики, шиповника, клубники. Однако все выделенные штаммы оказались малоактивными в отношении утилизации пентоз.

Способность дрожжей расщеплять пентозы устанавливалась по сбраживанию ксилозы, с постепенным переходом к культивированию выделенных штаммов на соломенном гидролизат-агаре. Выделенные штаммы в основном относились к роду *Torulopsis*. На дрожжевом агаре с прибавлением 4% глюкозы и 1% пептона они в течение одного месяца образуют гигантские выпуклые колонии диаметром в 32—39 мм, в большинстве матовые. Края колоний волнистые, рост обильный; от центра колонии на один сантиметр по всей окружности отходят радиальные линии. Запах дрожжевой и хлебный.

Размер клеток: ширина 2,5—3,5 μ, длина 3,75 μ; клетки овальные. На жидких средах пленки не образуют. Сбраживают: ксилозу, глюкозу, левулозу, слабо—сахаразу и маннозу. Не сбраживают лактозу. Хорошо растут на сусло-агаре с сахаристостью 5% и на соломенном гидролизат-агаре с содержанием сахара около 1%. В жидких средах на гидролизате и пивном сусле образуют хлопья, постепенно оседающие и образующие на дне колбы густой осадок.

Получение гидролизата соломы

Гидролизат соломы готовился в основном по методу Н. Д. Прянишникова и Машевицкой, но с некоторыми изменениями. Солома подвергалась гидролизу при различном содержании воды и при разных концентрациях серной кислоты. Продолжительность гидролиза

и величина автоклавного давления также были неодинаковы. Полученные данные сведены в табл. 1.

Таблица 1

Гидролиз соломы в автоклаве

№№ пп	Отношение колич. соломы и воды	% сер- ной кислоты	Продолжит. гидролиза в минутах	Давление в автоклаве	% сахара
1	1 : 15	0,5	30	2	1,012
2	1 : 15	0,5	"	1	0,55
3	1 : 15	0,25	"	2	0,25
4	1 : 15	0,25	"	1	0,34
5	1 : 20	0,5	"	2	0,9
6	1 : 20	0,5	"	1	0,32
7	1 : 20	0,25	"	1	0,13
8	1 : 20	0,25	"	2	0,22

Приведенные данные показывают, что наиболее выгодными для развития дрожжей являются варианты 1 и 5.

Одновременно были поставлены опыты по получению гидролизата без применения повышенного давления, путем обработки соломы текучим паром (см. табл. 2).

Таблица 2

Гидролиз соломы текучим паром

№№ пп	Отношение колич. соломы и воды	Продолжитель- ность гидролиза в часах	% серной кислоты	% сахара.
1	1 : 15	1	0,5	0,4
2	"	2	"	0,5
3	"	3	"	0,512
4	"	4	"	0,55
5	"	5	"	0,6

Как видно из табл. 2, при этом методе гидролиза образование сахара происходит очень медленно и содержание его не превосходит 0,6%. Кроме того наблюдалось значительное уменьшение количества жидкости вследствие испарения воды. Поэтому в дальнейших наших работах мы отказались от этого метода.

В основном получение гидролизата соломы заключалось в следующем: нарезанная на 1—3 см солома обливалась 0,5% серной кислотой в двадцатикратном отношении к весу соломы, гидролизовалась в автоклаве при давлении 2 атмосфер в течение 30 минут. Затем горячий гидролизат подвергался двукратному фильтрованию через Бюхнеровскую воронку при сильном притоке воздуха—для разрушения фурурола, минимальные дозы которого вредно отражаются на развитии дрожжей. После фильтрации гидролизат нейтрализовался 10% аммиаком до появления хлопьев и потемнения жидкости. РН среды к этому времени достигало 5,6. Для освобождения жидкости от осадка производилось вторичное фильтрование через Бюхнеровскую воронку при притоке воздуха. Затем к гидролизату прибавлялось 0,1% суперфосфата, после растворения которого жидкость еще раз фильтровалась и, наконец, подвергалась стерилизации при $\frac{1}{2}$ атмосферы (показание манометра) в течение 20 минут.

В производственных условиях гидролизат не стерилизуется, а непосредственно после охлаждения до 30° пускается в производство. Для просветления гидролизат должен быть пропущен через фильтр, состоящий из торфа и активированного угля.

Для обеспечения дрожжей азотистым питанием мы использовали сернокислый аммоний, образующийся в растворе при нейтрализации гидролизата аммиаком. Источником фосфора служил добавляемый нами суперфосфат.

Машевицкая в качестве источника фосфорного питания кормовых дрожжей применяла фосфоритную муку, через слой которой пропусклся гидролизат, после чего он не подвергался никакой дальнейшей обработке. Таким же образом может быть приготовлен гидролизат с применением суперфосфата—для производства кормовых дрожжей рода *Torulopsis*.

Рост дрожжей на гидролизате соломы

Для сравнительного изучения выделенных нами штаммов дрожжей на различных средах нами были поставлены опыты в дрекслеях с продуванием воздуха через стеклянные барбатеры по нижеприводимой схеме с определением процента сахара по методу Бертрана в гидролизате соломы до и после развития дрожжей, изменения РН среды и учета количества получаемых дрожжей в граммах (см. табл. 3).

Таблица 3

Развитие дрожжей на различных средах

№ № пп.	Среды	Колич. среды	РН		% сахара		Дрожжи	
			Начальное	Конеч.	Нач.	Кон.	в граммах	в % к исход. сахару
1	Гидролизат соломы	200 см ³	5,6	6	1,6	0,57	6,1	190,6
2	Гидролизат, разбавленный водой на 50%	"	5,6	6	0,8	0,08	3,4	212,6
3	Пивное сусло	"	5,6	6	5,0	4,0	3,9	39,0
4	Пивное сусло 50% гидролизат соломы	"	5,6	6	2,9	2,4	3,3	156,8
5	Вода + 1% глюкозы + 0% суперфосфат + 0.1% сернокислый аммоний	"	5,6	6	1,0	0,5	2,4	120

Культура дрожжей *Torulopsis*, выращенных в пробирке на сусло-агаре (двухдневная культура), переносилась в колбочки, содержащие по 25 см³ среды, которая через 24 ч. переливалась в колбы, со-

державшие по 50 см³ той же среды. Еще через 24 часа жидкость переливали в склянки Дрекслея, содержавшие 125 см³ того же питательного раствора, в котором дрожжи и развивались в течение 12 часов при температуре 30°C и в условиях аэрации. Полученные дрожжи осаждались на электрической центрифуге и обезвоживались на неглазированных тарелках.

Данные этих опытов показывают, что выделенный нами с хмеля штамм *Torulopsis* лучше использует ксилозу гидролизата соломы, чем мальтозу пивного сусла или глюкозу искусственной среды.

Влажность дрожжей во всех случаях составляла 73—75%. Цвет получаемой дрожжевой массы в большинстве случаев был серый различных оттенков. В продолжение опыта два варианта были подвергнуты микроскопическому анализу с целью установления моментов наибольшего и наименьшего почкования дрожжевых клеток. Учет проводился через 2, 4, 6, 12 и 24 часа с начала развития. Полученные данные приведены в табл. 4.

Таблица 4

Учет почкования дрожжевых клеток
(количество дрож. клеток в 1 см³ в миллионах).

№ пп	Среда	Через 2 часа			Через 4 часа			Через 6 час.			Через 12 час.			Через 24 час.		
		Всего дрож.	Почк.	% почк.	Всего дрож.	Почк.	% почк.	Всего дрож.	Почк.	% почк.	Всего дрож.	Почк.	% почк.	Всего дрож.	Почк.	% почк.
1	Гидролизат соломы + 0,1% суперфосфата	—	—	—	22	10	45,4	54	26	48	70	35	50	90	20	20,9
2	Гидролизат соломы + 50% воды	8	2	25	24	9	37,4	29	13	44,8	50	30	60	68	92	17,6

Приведенные в таблице данные показывают, что в основном усиленное почкование дрожжей происходит в течение первых 12 часов, после чего процесс развития замедляется. Усиленное образование вакуолей наблюдается через 24 часа.

Нами были поставлены также опыты дрожжевания смеси отрубей с гидролизатом соломы (см. табл. 5 на стр. 48).

Данные анализов показывают, что наилучшее развитие дрожжей по сравнению с контрольным вариантом наблюдается при прибавлении 0,5% отрубей в виде болтушки. В этом случае выход дрожжей по отношению к исходному количеству сахара в контрольном опыте составляет 188,4%, а в опыте с 0,5% отрубей—288%. Однако дрожжи в опыте с прибавлением 0,5% отрубей получались слизистые и медленно прессовались, вследствие чего могло иметь место загряз-

Таблица 5

*Размножение дрожжей на гидролизате соломы
с отрубями¹*

№ пп.	Среда	Колич. гидро- лизата	Р Н		‰ сахара		Дрожжи	
			Нач.	Кон.	Нач.	Кон.	в грам.	в ‰ к исходн. сахару.
1	Гидролизат +5‰ отрубей	200см ³	5,6	6,5	0,9	0,34	4,4	222
2	Гидролизат +1,5‰ отрубей	"	—	4,2	1,8	0,47	5,3	147,2
3	Гидролизат +0,5‰ отрубей	"	5,5	6	1,3	0,9	1,9	58,4
4	Гидролизат +0,5‰ отрубей в виде болтушки	"	5,5	6	1,3	0,2	7,5	288
5	Гидролизат +0,1‰ суперфосфата	"	5,5	6	1,3	0,84	4,9	188,4

Таблица 6

Влияние различных доз суперфосфата на развитие дрожжей

№ пп.	Среда	Колич. среды	Р Н		‰ сахара		Дрожжи	
			Нач.	Кон.	Нач.	Кон.	в граммах	в ‰ к исх. сахару
1	Гидролизат соломы + 1‰ суперфосфата	200см ³	5,5	6	1,3	0,9	3	115,3
2	Гидролизат соломы + 0,5‰ супер- фосфата	200см ³	5,5	6	1,3	0,42	4	153,8
3	Гидролизат соломы + 0,1‰ супер- фосфата	200см ³	5,5	6,5	1,3	0,42	6,7	257,6

нение другими микроорганизмами. Прибавление же 1,5‰ и 5% отрубей дает сравнительно лучший выход дрожжей, но зато дрожжи получаются слизистые и темного цвета.

С целью выяснения влияния вносимого количества фосфата на

¹ Количество дрожжей указано за вычетом количества прибавленных отрубей.

Таблица 7

Развитие дрожжей в 4-литровом медном чане

№ пп.	Среда	Колич. гидролиза- та в литрах	Р Н		‰ сахара		Дрожжи		‰ протенна в абсол. су- хом веще- стве.
			Нач.	Кон.	Нач.	Кон.	в грам.	в ‰ к исх. са- хару	
1	Гидролизат соломы с до- бавлением 0,1‰ супер- фосфата	4	5,6	6	1,4	0,69	80	142,8	41
2	Гидролизат соломы, раз- бавл. на 50‰ водой + 0,1‰ суперфос- фата	4	5,6	6	0,7	0,27	50	178,4	—
3	Гидролизат соломы + 5‰ фильтрата отрубей + хмелевой отвар	4	5,6	6,1	1,5	0,44	101	168,2	27,65
4	Гидролизат соломы + 0,5‰ отру- бей в виде болтушки + хмелевой отвар	4	5,6	5,8	1,4	0,17	137	208,8	29,3
5	Гидролизат соломы + 0,1‰ супер- фосфата с продувани- ем кислоро- да из бал- лона	4	5,6	6	1,4	0,58	75	133,9	42,57

развитие дрожжей нами была проведена работа по получению дрожжей с применением 0,1, 0,5 и 1% суперфосфата (табл. 6).

Результаты опытов показывают, что применение суперфосфата, как источника фосфора для дрожжей, дает тем лучшие результаты, чем меньше внесено его в питательную среду (в пределах от 1% до 0,1‰). Применение повышенных доз суперфосфата тормозит развитие дрожжей.

С целью приближения к производственным условиям нами были поставлены опыты получения кормовых дрожжей рода *Torulopsis* в 4-литровом медном чане, причем аэрация происходила через барбаты. В основу опыта была положена схема получения дрожжей

в дрекделях, описанная выше. Продувание воздуха проводилось в течение 30 часов при 30°C. Питательный раствор приливался порциями: в начале опыта 1л, через 6 ч. еще 1л, через следующие 12 часов 1л и еще через 24 ч. 1л.

В одном из вариантов опыта вместо атмосферного воздуха (через воздуходувку) в питательный раствор вводился чистый кислород (из кислородного баллона). В других вариантах для усиления развития дрожжей к питательной среде прибавлялся хмель, а также отруби.

Результаты всех этих опытов сведены в табл. 7 (стр. 49).

Как в лабораторных, так и полупроизводственных условиях варианты с применением отрубей (в виде болтушки) и хмеля дали наибольший выход дрожжей, но содержание протеина в абсолютно сухом веществе дрожжей, приготовленных на отрубях, составляет 27,65%, в то время как на питательной среде с суперфосфатом оно доходит до 41%. Такое же явление мы наблюдаем при применении хмеля с отрубями: несмотря на высокий процент выхода дрожжей (208, 8), содержание протеина составляет всего 29,3%.

Выход дрожжей и содержание протеина при применении чистого кислорода не выше, чем в аналогичном опыте с продуванием воздуха. Поэтому наиболее целесообразно в производственных условиях проводить просто продувание воздуха.

За ряд ценных советов в процессе оформления этой работы приношу свою благодарность акад. Н. Г. Холодному.

В ы в о д ы

1. Дрожжи *Torulopsis*, выделенные из эпифитной микрофлоры хмеля, могут утилизировать пентозы и служить материалом для производства кормовых дрожжей на сельскохозяйственных отходах.

2. Наилучшим методом гидролиза соломы является нагревание ее в автоклаве под давлением 2 ат при отношении (по весу) соломы к воде 1:20 и при применении 0,5% серной кислоты.

3. Нейтрализация гидролизата 10% аммиаком при наличии серной кислоты в среде дает достаточное количество сернокислого аммония для развития дрожжей.

4. Хорошим источником фосфора при производстве дрожжей на гидролизате соломы может служить суперфосфат, прибавляемый в количестве 0,1%.

5. Наибольший выход дрожжей (по отношению к исходному количеству сахара) получается при использовании гидролизата соломы с нейтрализацией среды и с прибавлением 0,1% суперфосфата.

6. Применение отрубей и хмеля хотя и увеличивает выход дрожжей в количественном отношении, но одновременно снижает их качество.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров С. А.—Питательные достоинства сушеных кормовых дрожжей для молодняка крупного рогатого скота. Записки Детскосельской Зоолаб. 1934 г., вып. 10.
2. Астахова И. П. и Платонова В. Н.—Влияние фурфурола на дрожжи в связи с культивированием их на гидролизатах с.-х. отходов. Сборник Ц. Н. И. Л. Б. П., 1939 г.
3. Гивартовский Р. В.—Производство пекарских дрожжей на гидролизатах соломы. Сборник Ц. Н. И. Л. Б. П. 1939 г.
4. Его-же—Сырье для переработки на этиловый спирт и дрожжи. Микробиология, т. 8, вып. 3—4, 1939 г.
5. Гивартовский Р. В., Лебедева И. и Козлова А. В.—Производство кормовых дрожжей на культуре „Торула Латвика“. Сборник Ц. Н. И. Л. Б. П., 1935 г.
6. Дьяков М. И.—Записки Детскосельской Зоотехнической лаборатории. Вып. 10, 1934 г.
7. Захаров И. П., Коновалов С. А. и Кинзбургская Ф. М.—Вопросы азотистого питания дрожжей. Микробиология, т. 7, вып. 5, 1938 г.
8. Завадовский М. М.—Облученные дрожжи как кормовой фактор в животноводстве. Кормление и подготовка кормов к скармливанию. Вып. 28, часть 4. 1937 г.
9. Журавлев М. И.—Облученные солнцем дрожжи как источник витамина D. Журнал Проблемы Животн. № 8, 1936 г.
10. Клинг М.—Кормовые средства. 1939 г.
11. Комарова Л. И.—Смешанные культуры дрожжей. Микробиология, т. 9, вып. 6, 1940 г.
12. Ленский—Облученные дрожжи в птицеводстве. 1935 г.
13. Луи Пастер—Исследование о брожениях. 1927 г.
14. Людянов А. В., Попандопуло П. Х., Соколова Л. М.—Кормовая ценность дрожжей, выращенных на гидролизатах растительных отходов. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 9, 1939 г.
15. Малченко А. Л., Ясинский и Гольдфарб Р. И.—Химико-технический и микробиологический контроль бродильных производств. 1937 г.
16. Машевицкая С. Г.—Нейтрализация и очистка гидролизата соломы в целях подготовки его для выращивания кормовых дрожжей. Журнал прикладной химии. 1939 г.
17. Плевако Ч. А.—Получение кормовых дрожжей на гидролизатах сельскохозяйственных отходов. 1940 г.
18. Прянишников Н. Д. и Машевицкая С. Г.—Гидролиз соломы с целью выращивания на гидролизатах кормовых дрожжей. Успехи Зоотехнических наук, т. 1, вып. 1, 1935 г.
19. Шарков В. И.—Гидролиз древесины.
20. Lodder J.—Die anaskosporogenen Hefen. II Teil. Amsterdam 1934.
21. Fingerling u. Honcamp—Holzzuckerhefe als Fittermittel—Landwirtsch. versuchstation, Heft 5—6, 1934
22. Fred E., Peterson W. J.—Biol. chem. № 42—1920.
23. Каранетян С. К. и другие—Влияние дрожжевания соломы на повышение продуктивности животных. Микробиологический сборник АрмФАН, 1943 г.