

Екол. зашт. живот. сред.	Том. 1	Број 1-2	стр. 1-123	Скопје 1993
Ekol. zašt. život. sred.	Vol. 1	No 1-2	p.p. 1-123	Skopje 1993

Примено во редакцијата:  
19 октомври 1992

ISSN 0354-2491  
УДК 582.282.23:574.36]:634.11  
оригинален научен труд

## СИНТЕЗА НА БИОМАСА ОД КВАСЕЦОТ *SACCHAROMYCES ROUXII* KV-32 НА ФИЛТРАТ ОД ОТПАДНА ЈАБОЛКОВА ПУЛПА

Џоко КУНГУЛОВСКИ

Институт за биологија, ПМФ, п.ф. 162, Скопје, Македонија

### ИЗВОД

Кунгуловски, Џ. (1993). Синтеза на биомаса од квасецот *Saccharomyces rouxii* Kv-32 на филтрат од отпадна јаболкова пулпа. Екол. Зашт. Живот. Сред., Том 1, Бр. 1, Скопје.

Со цел да се испита можноста за искористување на филтратот од отпадна јаболкова пулпа, како супстрат за култивирање на биомаса од квасци богати со протеини, во овој труд се презентирани добиените резултати од извршениот избор и условите за култивирање на квасецот *Saccharomyces rouxii* Kv-32.

**Клучни зборови:** Филтрат од отпадна јаболкова пулпа, *S. rouxii* Kv-32, услови на култивирање

### ABSTRACT

Dž. Kungulovski (1993). Biomass synthesis of the yeast *Saccharomyces rouxii* Kv-32 on waste apple pomace filtrate. Ecol. Zašt. Život. Sred., Vol. 1, No 1, Skopje.

Aiming the possibilities of apple pomace filtrate as a substrate for yeast biomass cultivation to be determined, this article represents the data obtained by selection and cultivation parameters of the *Saccharomyces rouxii* Kv-32 yeast on apple filtrate as a substrate.

**Key words:** Waste apple pomace filtrate, *S. rouxii* Kv-32, cultivation parameters.

### ВОВЕД

Јаболковата пулпа претставува нуспроизвод во прехранбената индустрија во која од вкупните суви материи, шеќерите зафаќаат околу 25%, протеините 2-3% маслата со 1,5% и др., поради што таа се суши и се користи како крмиво или како додаток на некои прехранбени производи (Mahsenin, 1970). Меѓутоа, со оглед на нискиот процент на суви материи (околу 5%), исушената пулпа се користи само во ограничени случаи. Затоа, со помош на микробните процеси се настојува шеќерите присутни во пулпата да се конвертираат во висококвалитетни протеини, со што значително се придонесува во заштитата на животната средина

Во тие микробни процеси најчесто се користат квасците од родот *Candida* (Peppler,

1970), *Trichosporon* (Wiken, 1972) *Saccharomyces* (Davids, 1986) и др. Освен квасци, при производството на микробни протсини најчесто се користат и други микроорганизми, како што се *Penicillium* (Kim et al. 1982), *Morchella* (Kosarić et al. 1981), *Agaricus*, *Pleurotus* (Wikero et al. 1987).

Со цел да се извршат прелиминарни испитувања за можното искористување на филтратот од отпадна јаболкова пулпа како супстрат за синтеза на квасна биомаса, во овој труд презентирани се добиените резултати од извршениот избор и условите за култивирање на квасецот *Saccharomyces rouxii* Kv-32.

### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

За спроведување на лабораториските тестови вкупно беа испитувани 35 сорти квасци, претходно изолирани од свежа отпадна јаболкова

пулпа. За нивно издвојување беше користена селективна хранлива подлога збогатена со 2% гликоза и 0,5% квасен екстракт.

Умножувањето на квасната биомаса беше спроведено во Erlenmeyer-ови тиквички од 500 мл исполнетисо 100 мл претходно подготвен филтрат. Филтратот беше добиен на тој начин што 1 кг јабољкова пулпа беше потопен во 1 л вода. По 24 часа, така подготвената пулпа беше профилирирана преку дупла газа, а филтратот беше збогатен со амоњачни соли, фактори на растењето, гликоза (0,5 и 0,2%) и стерилизиран. За испитување на условите за култивирање на квасната биомаса, тестовите беа спроведени на ротациона треселица со 180-200 в/мин (за постигнување на аеробни услови) на температура од 28°C. За постигнување на микроаеробни услови,

тиквичките беа поставени во термостат на температура од 28°C.

Инокулирањето беше спроведено со коростење на 1 мл густо центрифугирана 24-часовна суспензија од работниот микроорганизам.

Издвојувањето на квасната биомаса беше изведено со центрифугирање на центрифугите од типот Janap на 10000 в/мин. и Tehnika при 5000 в/мин. Супернатантот беше отстрануван, а талогот сушен на 105°C и изразуван како грамови сува тежина.

Вкупните суви материи беа определувани по TAPPI стандардот, шеќерите по методата на Dug et al. (1963) со примена на бакарен сулфат и K, Na - тартарат, а азотот по Kjeldal.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Со користење на стандардни микробиолошки техники, од свежата јабољкова пулпа вкупно беа изолирани 35 различни сосви на квасци.

Сите тие беа тестирани на јабољков филтрат (Таб. 1.), збогатен со 0,5% гликоза, а добиените резултати се прикажани на Сл. 1.

Табела 1. Хемиски состав на филтрат од отпадна јабољкова пулпа изразен во проценти на сува материја

Table 1. The waste apple pomace filtrate chemical composition expressed in percent of dry matter

Компоненти Components	г/100 г суви материи g/100 g dry matters
Суви материи Dry matters	0,25
Шеќери Sugar	5,5
Протени Proteins	0,1

Квасците Kv-10, Kv-12, Kv-15, Kv-22, Kv-32 и Kv-35, кои за време од 24 часа дадоа прираст на биомаса поголема од 5 г дм<sup>-3</sup>, во понатамошните испитувања беа користени како работни микроорганизми. Меѓутоа, како што е прикажано

на Сл. 1, по својата продуктивност сојот Kv-32 (*Saccharomyces rouxii*) се издвојуваше од останатите пет испитувани квасци и за истиот инкубационен период, прирастот на биомаса ја достигна вредноста од 13,8 г дм<sup>-3</sup>

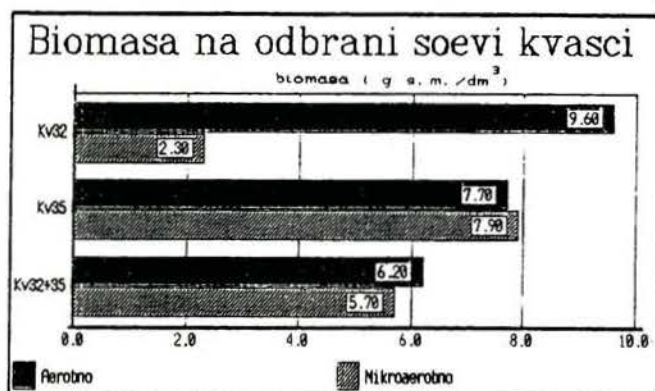


Слика 1. Количество на биомаса на одбраните севи квасци, култивирани на треселица при 30°C, за време од 48 часа на филтрат збогатен со 0,5% гликоза

Fig. 1. The biomass amount of selected yeasts cultivated on rotatory shaker at 30°C for 48h on filtrate enriched with 0.5% glucose

Бидејќи во текот на спроведувањето на тестовите некои од издвоените соеви квасци многу подобро ги поднесуваа условите на микроаеробност, неопходно беше да се испита улогата

на аеробноста на подлогата врз продуктивноста на истите. Споменатите тестови беа спроведени на филтрат збогатен со 0,2% гликоза, а добнените резултати се прикажани на Сл. 2.



Слика 2. Количество на биомаса од одбраните соеви квасци (поединечни и мешани култури) култивирани во аеробни и микроаеробни услови, на филтрат со 0.2% гликоза  
Fig. 2. The biomass amount of selected yeasts (mono and mixed cultures) cultivated aerobically and microaerobically on filtrate enriched with 0,2% glucose

Врз основа на прирастот на биомасата, во аеробни услови, сортата Kv-32 покажа прираст на биомаса од 9,6 г с.м.  $\text{dm}^{-3}$ , а сојот Kv-35, 7,7 г с.м.  $\text{dm}^{-3}$ . Во микроаеробни услови, сојот Kv-32 покажа послаба активност, додека сортата Kv-35 постигна прираст од 7,9 г с.м.  $\text{dm}^{-3}$ . Комбинацијата од двете популации, во двата теста, има многу помал прираст, отколку поединечните популации на квасци (Слика 2).

Бидејќи сојот Kv-32 (*Saccharomyces rouxii*) по својата продуктивност се издвојуваше

од останатите испитувани квасци, понатамошните тестови беа спроведувани со користење на истата сој, а за таа цел беа утврдени и одреден број на позначајни параметри (табели 1-5). Концентрацијата на инокулум од 0,84 г с.м.  $\text{dm}^{-3}$  беше најповолна и за време од 24 часа култивирање на треселица со 200 в/мин, постигнат е прираст на биомаса од 4,58 г с.м.  $\text{dm}^{-3}$  (Табела 2).

Табела 2. Прираст на биомасата на квасецот *S. rouxii* Kv-32 (30°C) при различни почетни концентрации на инокулум  
Table 2. *S. rouxii* Kv-32 biomass yield (at 30°C) as a function of different initial inoculum concentrations

инок. inos. ( $\text{rdm}^{-3}$ )	биомаса biomass ( $\text{rdm}^{-3}$ )			
<b>0,84</b>	<b>3,11</b>	<b>4,58</b>	<b>4,58</b>	<b>4,26</b>
2,14	4,62	5,44	5,58	5,92
3,06	5,38	7,38	7,40	7,40
5,24	6,92	9,48	9,01	8,70
време (h)	12	24	36	48

При почетна рН вредност на медиумот од 4,5, за време од 24 часа аеробно култивирање,

продукцијата на квасната биомаса ја достигна вредноста од 5,66 г с.м.  $\text{dm}^{-3}$  (Табела 3).

Табела 3. Прираст на биомасата на квасецот *S. rouxii* Kv-32 (на 30°C, почетна концентрација на инокулум од 0,84 г с.м. дм<sup>-3</sup>) при различна почетна рН вредност

Tab. 3. *S. rouxii* Kv-32 biomass yield (at 30°C, initial inoculum concentration of 0,84 g d.m. dm<sup>-3</sup>) le at various initial pH values

поч.рН init. pH	биомаса biomass (gdm <sup>-3</sup> )				
3,5	0,9	2,99	5,42	4,95	4,66
<b>4,5</b>	<b>0,9</b>	<b>4,62</b>	<b>5,66</b>	<b>5,49</b>	<b>5,64</b>
5,5	0,9	3,60	5,64	5,34	5,08
6,5	0,9	3,20	5,28	5,31	5,32
време (h)	0	12	24	36	48

Соодносот на волумените на користениот сад (erlenmayer-ица од 500 мл.) и подлогата од 5:1 (100 мл подлога) се покажа како најоптимален, и

по 24 часа култивирање, во подлогата се акумулира 3,66 г с.м. дм<sup>-3</sup> квасец (Табела 4).

Табела 4. Прираст на биомасата на квасецот *S. rouxii* Kv-32 (30°C, почетна концентрација на инокулум од 0,84 г с.м. дм<sup>-3</sup> и почетни рН вредност од 4,5) при различни волумени на подлогата  
Table 4. *S. rouxii* Kv-32 biomass yield (at 30°C, 0,84 g d.m. dm<sup>-3</sup> inoculum concentration and 4,5 initial pH value) at various liquid volumes

V (cm <sup>3</sup> )	биомаса biomass (gdm <sup>-3</sup> )				
50	0,9	1,13	3,08	3,06	3,04
<b>100</b>	<b>0,9</b>	<b>2,90</b>	<b>3,10</b>	<b>2,70</b>	<b>3,66</b>
150	0,9	1,64	2,80	2,97	2,96
200	0,9	1,00	1,22	1,90	2,06
време (h)	0	12	24	36	48

Со цел да се испита можноста за искористување на оригиналниот филтрат како супстрат за култивирање на квасна биомаса без претходна стерилизација, бидејќи истата во себе содржеше голем број на бактерии и квасци, за спроведување на натамошните експерименти проверено е влијанието на контаминантите врз

активноста на квасецот *S. rouxii* Kv-32. При дефинирани услови на култивирање, умножена е биомасата на работниот квасец на стерилна и оригинална подлога. Постигнатиот прираст на биомасата во двата теста беше приближно ист, како што е прикажано на Табела 5.

Табела 5. Прираст на биомасата на квасецот *S. rouxii* Kv-32 (30°C, почетна концентрација на инокулум 0,84 г с.м. dm<sup>3</sup>, почетна pH вредност 4,5) на стерилна и оригинална подлога  
 Table 5. *S. rouxii* Kv-32 biomass yield (at 30°C, 0,84 g d.m. dm<sup>3</sup> inoculum concentration and 4,5 initial pH value) using sterile and original substrate

	биомаса biomass (gdm <sup>-3</sup> )				
Стерилен Sterile	0,9	1,2	1,4	2,0	2,2
Оригинален Original	1,3	1,5	1,9	2,4	2,7
време (h)	0	12	24	36	48

Со цел да се зголеми прирастот на биомасата од работниот квасец, а во тој контекст да се испита и влијанието на одредени фактори на растењето, понатамошните тестови беа спроведени со користење на филтрат збогатен со различни концентрации на квасен екстракт. Од постигнатите резултати, прикажани на Таб. 6, јасно е изразено позитивното влијание на квасниот екстракт врз самиот прираст на квасната биомаса, на така концентрацијата на екстрактот од 1 gdm<sup>-3</sup>,

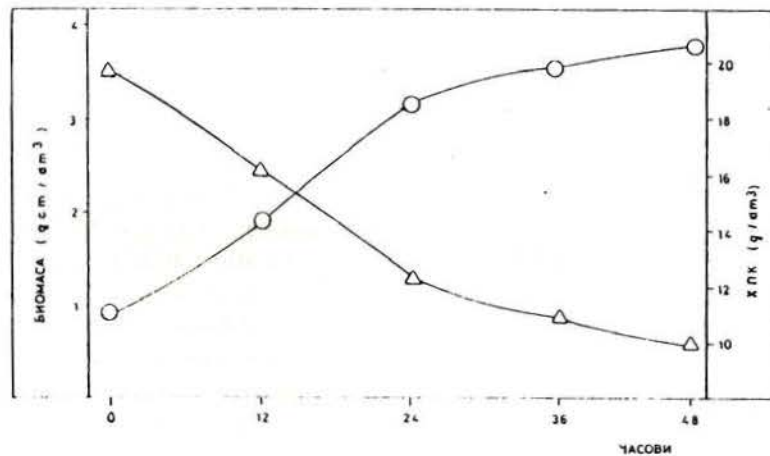
озвозможи прираст на квасната биомаса од 7,5 gdm<sup>-3</sup>.

При оптимални услови на култивирање: температура 30°C, pH вредност 4,5, концентрација на инокулум 0,84 g dm<sup>-3</sup>, концентрација на квасен екстракт 1%, на оригинален филтрат, во текот на 48-часовна аеробна биооксидација, количеството на сувите материи е намалено за 63%, на шеќерите за 86,5%, а прирастот на квасната биомаса ја достигна вредноста од 6,55 г с. м. dm<sup>3</sup> (сл. 3).

Табела 6. Прираст на биомасата на квасецот *S. rouxii* Kv-32 (30°C, почетна концентрација на инокулум 0,84 г с.м. dm<sup>3</sup>, почетна pH вредност 4,5 волумен на подлогата 100 cm<sup>3</sup>) при различни концентрации на квасен екстракт

Table 6. *S. rouxii* Kv-32 biomass yield (at 30°C, 0,84 g d.m. dm<sup>3</sup> inoculum concentration and 4,5 initial pH value, 100 cm<sup>3</sup> substrate volume) using various concentrations of yeast extract

кв. екс yeast ek. (gdm <sup>-3</sup> )	биомаса biomass (gdm <sup>-3</sup> )				
1	0,95	1,9	3,9	5,8	7,5
3	1,10	1,5	2,4	3,7	4,4
5	1,38	2,4	3,4	4,6	5,5
време (ч)	0	12	24	36	48



Слика 3. Кинетика на разградувањето на шеќерите од оригиналниот филтрат и прирастот на *S. rouxii* Kv-32 за време од 48 часови аеробна биооксидација

Fig. 3. Sugar decomposition kinetics in original filtrate and *S. rouxii* Kv-32 biomass yield during 48h aerobic biooxidation

## ЗАКЛУЧОЦИ

Од јаголковата пулпа вкупно беа издвоени 35 сорти на квасци од кои оксидативна способност покажаа 6 сорти (Кv-10; Кv-12; Кv-15; Кv-22; Кv-32 и Кv-35). Врз основа на прирастот на биомаса, како работен микроорганизам беше користен сојот *Saccharomyces rouxii* Кv-32.

При оптимални услови на култивирање: температура 30°C, рН вредност 4,5, концентрација на инокулум 0,84 г дм<sup>-3</sup>, концентрација на квасен екстракт 1%, на оригинален филтрат, во текот на 48-часовна аеробна биооксидација, сувите материи

беа искористени за 63%, шеќерите за 86,5%, а прирастот на квасната биомаса ја достигна вредноста од 6,55 г с.м. дм<sup>-3</sup>.

Добисната квасна биомаса би можела да се користи како протеински додаток на сточните крмива или, засдно со исушената јаголкова пулпа, како сточна храна. На тој начин отпадната јаголкова пулпа би се искористила како суровина за производство на биолошко активни материи, а воедно би се решил и проблемот што се јавува при депонирањето на истата.

## РЕФЕРЕНЦИ

- APHA (1971).  
American Public Health Association; Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 13th ed. Amerr. Public Health Assoc., New York., p. 350-430
- Davids, S.J. and Simard, R.E. (1986).  
Entropie, 22, 49.
- Dyr, J., Gregr, V. and Seiler, A. (1963).  
Lihvarstvi, Statni Nakladatelstvi Technicke Literatry, Praha.
- Kim, J.P. and Lebealt. (1982).  
Eur. J. App. Microbiol. Biotechnol. 3.151
- Kosarić, N. and Miyata, N. (1981).  
Dairy Research, 48, 149.
- Mahsenin, N.N (1970).  
Physical Properties of Plant and Animals, Vol. I. New York, 734
- Pepler, H.L. (1970).  
The Yeasts, Academic Press, London and New York, 3.
- Proc. Bioconversion Symp., II T Delhi, 551.
- TAPPI Standard T 629 m-53
- Wiken, O.T. (1972).  
Fermentation Technology Today. Proceedeng of the IVth International Fermentation Symposium, Kyoto, 1972, p. 123
- Wikero, M.T. and Antonio, M.M. (1987).  
Appl. Biochem. Biotechnol. 15, 221.

## BIOMASS SYNTHESIS OF THE YEAST *SACCHAROMYCES ROUXII* KV-32 ON WASTE APPLE POMACE FILTRATE

Džoko Kungulovski

Institute of Biology, Faculty of Natural Sciences  
91000 Skopje, Macedonia

### Summary

Aiming to fulfill the complex waste apple pomace usage, after providing the alcohol fermentation, it was used as a substrate for yeast *S. rouxii* Kv-32 biomass multiplication. Extract obtained by previously fermented to alcohol waste apple pomace contains sufficient amounts of organic and mineral matters for biomass multiplication of yeast *S. rouxii* Kv-32. 35 yeast strains were isolated from the apple pomace using natural and artificial nutrient slides prepared from the pomace itself. Among isolated strains only 6 showed the best oxidative abilities (Kv-10; Kv-12; Kv-15; Kv-22; Kv-32 and Kv-35), but for biomass synthesis only the strain Kv-35 was used. At optimal cultivation conditions: 30°C temperature, 4,5 mV pH value, 0,84 gr d.m.dm<sup>-3</sup> inoculum concentration, using the organic matters that are found in transparent fraction of anaerobically fermented pomace, during 48h aerobic cultivation, 6,55 gr d.m.dm<sup>-3</sup> yeast biomass.