

Contract IDEI 321/2007

Titlul proiectului

CERCETARI PENTRU STABILIREA UNOR BIOTEHNOLOGII DE VALORIFICARE A RESURSELOR AGRICOLE INDIGENE REGENERABILE

Director de proiect:

Mihaela Begea

Echipa de cercetare a proiectului

CS I Dr. Ing. Mihaela Begea – Director de proiect

CS I Prof. univ. dr. Gheorghe Mencinicopschi – Cercetator cu experienta

Cornelia Cîmpeanu – Cercetător în formare / doctorand. Sustinere doctorat in 26.03.2010

Cristina Stoicescu – Cercetător în formare / doctorand

Perioada de desfasurare a proiectului: octombrie 2007 – septembrie 2010

Obiectiv general si rezultatele estimate a fi obtinute

1. Studierea, testarea si caracterizarea din punct de vedere fizico – chimic si bacteriologic a unor resurse agricole indigene regenerabile
2. Testarea, studierea si verificarea la nivel de laborator si pilot a unor preparate enzimatice de ultima generatie si a unor tulpini de drojdie capabile sa produca biomasa monocelulara
3. Selectionarea unor culturi de drojdie termorezistente si alcoolotolerante, pentru producerea de bioetanol si stabilirea mediilor de cultura optime pentru multiplicarea culturilor de drojdii, in vederea producerii de biomasa monocelulara
4. Stabilirea si definitivarea conditiilor optime necesare fermentarii substraturilor specifice obtinerii de bioetanol si biomasa
5. Elaborarea unor metode de izolare, testare, selectie, verificare si pastrare a unor noi tulpini de drojdie termorezistente si alcoolotolerante si a unor noi tulpini de drojdie capabile sa produca cantitati mari de biomasa
6. Elaborarea de fluxuri tehnologice pe baza studiilor si experimentarilor efectuate la nivel pilot, in vederea propunerii unei tehnologii optime, cu potential de aplicare practica
7. Efectuarea de bilanturi energetice si de materiale, la producerea bioetanolului si a biomasei monocelulara alimentare si furajere, din resurse agricole indigene regenerabile indigene, in scopul eficientizarii biotehnologiilor elaborate

Activitati

- 1.1 Studierea, testarea si caracterizarea din punct de vedere fizico – chimic, bacteriologic si al continutului de micotoxine a diferitelor resurse agricole indigene regenerabile si identificarea acelor resurse care sa asigure randamente tehnologice optime, la obtinerea de bioetanol
- 1.2 Studierea, testarea si caracterizarea din punct de vedere fizico – chimic si bacteriologic a unor resurse vegetale indigene, potential producatoare de biomasa proteica monocelulara
- 2.1 Testarea, studierea si verificarea atat in laborator, cat si in instalatiile pilot, a unor preparate enzimatice de ultima generatie, in vederea stabilirii activitatii enzimatice la un moment dat, precum si pierderi de activitate enzimatica pe parcursul pastrarii in anumite conditii de temperatura si umiditate relativa a aerului
- 2.2 Testarea, studierea si verificarea in conditii de laborator si in instalatiile pilot a unor tulpini de drojdie capabile sa produca biomasa monocelulara in vederea identificarii unor tulpini cu activitate optima (capacitate de multiplicare ridicata)

- 3.1 Selectionarea unor culturi de drojdie termorezistente si alcoolotolerante si identificarea unor suse care sa permita obtinerea unui continut cat mai ridicat de alcool
- 3.2 Selectionarea unor culturi de drojdie capabile sa produca o cantitate ridicata de biomasa cu continut ridicat de aminoacizi esentiali si de aminoacizi cu sulf
- 4.1 Stabilirea dozelor optime de preparate enzimatice industriale si a parametrilor optimi de actiune asupra amidonului, precum si urmarirea evolutiei proceselor enzimatice de hidroliza a amidonului, la producerea de bioetanol din resurse agricole indigene regenerabile
- 4.2 Stabilirea mediilor de cultura optime pentru multiplicarea culturilor de drojdie selectate prin teste anterioare privind compozitia optima prin introducerea de microelemente, vitamine si factori bios care sa compenseze deficitul de factori nutritivi din materiile prime prelucrate
- 4.3 Diseminarea pe scara larga a informatiilor folosind medii virtuale on-line
- 5.1 Elaborarea unor metode de izolare, testare, selectie, verificare si pastrare a unor noi tulpini de drojdie termorezistente si alcoolotolerante, specifice pentru Romania
- 5.2 Elaborarea unor metode de izolare, testare, selectie, verificare si pastrare a unor noi tulpini de drojdie capabile sa produca cantitati mari de biomasa monocelulara pe medii nutritive sarace in factori de crestere si factori bios
- 6.1 Elaborarea unor fluxuri tehnologice pe baza studiilor si experimentarilor efectuate in instalatia pilot pentru propunerea unei tehnologii optime de productie a bioetanolului din resurse agricole indigene regenerabile indigene, cu potential de aplicare practica
- 6.2 Elaborarea unor fluxuri tehnologice pe baza studiilor si experimentarilor efectuate in instalatia pilot pentru propunerea unei tehnologii optime de productie a biomasei monocelulara alimentare si furajere din resurse agricole indigene regenerabile indigene, cu potential de aplicare practica
- 6.3 Diseminarea pe scara larga a informatiilor folosind medii virtuale on-line
- 7.1 Realizarea bilanturilor de materii prime, materiale auxiliare si utilitati pe fluxul tehnologie elaborat, cu precizarea fazelor de recirculare a surselor de caldura si apa, pentru obtinerea de bioetanol
- 7.2 Realizarea bilanturilor de materii prime, materiale auxiliare si utilitati pe fluxul tehnologie elaborat, cu precizarea fazelor de recirculare a surselor de caldura si apa, pentru obtinerea de biomasa
- 7.3 Diseminarea pe scara larga a informatiilor folosind medii virtuale on-line

Rezumatul proiectului

Proiectul cercetari pentru stabilirea unor biotehnologii de valorificare a resurselor agricole indigene regenerabile isi propune abordarea a doua directii, respectiv:

1. studii si cercetari referitoare la obtinerea bioetanolului din productiile agricole indigene excedentare (energy crops);
2. studii si cercetari privind multiplicarea drojdiei pe suporturi nutritive optimizate, in vederea obtinerii de biomasa proteica monocelulara destinata furajarii si alimentatiei.

Cercetarile efectuate in Romania privind obtinerea de bioetanol din biomasa vegetale – energy crops – se afla in faza incipienta, iar dezvoltarea rapida a acestui gen de cercetari este impusa de necesitatea inlocuirii cat mai rapide a unei proportii de combustibili fosili cu cei proveniti de resurse vegetale regenerabile.

Prin prezentul proiect se propune obtinerea de bioetanol de generatia I din resurse agricole energetice regenerabile autohtone. Proiectul are in vedere elaborarea de solutii stiintifice si tehnice viabile, de absoluta noutate pentru România, pentru obtinerea de alcool carburant din materii prime agricole indigene regenerabile, aplicind tehnologii ecologice.

Cercetarile privind multiplicarea drojdiei pe suporturi nutritive optimizate in vederea obtinerii de biomasa proteica monocelulara destinata furajarii si alimentatiei au in vederea studiul urmatoarelor substraturi: suc de sorg zaharat, melasa provenita de la prelucrarea

sfeclei de zahar, solutie reziduala rezultata de la rafinarea zaharului brut de trestie, lichide zaharate.

Descrierea diferitelor evenimente derulate in cadrul proiectului

Articole cotate ISI

1. Mihaela Begea, Mariana Vlădescu, Gheorghe Bâldea, Cornelia Cîmpeanu, Cristina Stoicescu, Marius Toboşaru, Paul Begea (2010). *Utilization of last generation enzymes for industrial use in order to obtain bioethanol from locally available agricultural renewable resources*, Romanian Agricultural Research, nr. 27, 15-20.
2. Cîmpeanu Cornelia, Cîmpeanu Gheorghe, Begea Mihaela, Vlădescu Mariana (2010). *Bioethanol production by new thermotolerant Romanian yeast strains*, Romanian Biotechnological Letters, vol. 15(3), 5310-5316.
3. Cristina Stoicescu, Mihaela Begea, Mariana Vlădescu, Gheorghe Bâldea, Paul Begea, Alexandru Cîric (2011). New isolated single cell biomass producing yeast strains for food and feed industry, Romanian Agricultural Research, nr. 28 (acceptata spre publicare).

Articole acceptat spre publicare in reviste indexate in baze de date internationale

Lucrări publicate în volumul Lucrări științifice. Seria Agronomie

- BDI Index: CABI – Publishing Website Serials Cited Submission (www.cabi.org); CAB International – Anglia;
- CNCSIS category: B+ (Journal index: BDI)

1. Ion Stroia, Mihaela Begea, Paul Begea (2007). *Is the utilisation of grains as raw material rationable to produce bioethanol?*, Lucrări Științifice, Seria Agronomie, vol. 50, ISSN 1454-7414. Lucrare prezentata și in cadrul Simpozionului științific "Agricultura si mediul - prezent si perspective", Iasi, 18 - 19 octombrie 2007.
2. M. Begea, C. Stoicescu, G. Bâldea, M. Vlădescu, E. Baron (2008). *Isolation and selection of yeast strains able to produce single cell protein*. Lucrări Științifice – vol. 51, seria Agronomie, ISSN 1454-7414, CD. Lucrare prezentata și in cadrul Simpozionului științific "Agricultura durabilă în contextul schimbărilor de mediu", organizat de Facultatea de agricultura din cadrul USAMV Iasi, care s-a desfășurat în perioada 16 - 18 octombrie 2008.
3. Mihaela Begea, Cornelia Cîmpeanu, Gheorghe Bâldea, Mariana Vlădescu, Elena Baron, Liliana Bălăuță, Stela Mușu, Șerban Berilă, Paul Begea (2008). *Characterization of some energy crops specific for Romania, in order to produce bioethanol*. Lucrări Științifice – vol. 51, seria Agronomie, ISSN 1454-7414, CD. Lucrare prezentata și in cadrul Simpozionului științific "Agricultura durabilă în contextul schimbărilor de mediu", organizat de Facultatea de agricultura din cadrul USAMV Iasi, care s-a desfășurat în perioada 16 - 18 octombrie 2008.

Lucrări publicate în Journal of Agroalimentary Processes and Technologies

- BDI Index: IFIS – International Food Information Service (www.Foodsciencecentral.com); CAS – Chemical Abstracts Service (www.cas.org; CAS ref; 163659); CABI – Publishing Website Serials Cited Submission (www.cabi.org);
 - CNCSIS category: B+(Journal index: BDI)
1. Stroia, Mihaela Begea, P. Begea, Mariana Vlădescu (2007). *Utilisation of industrial enzymes to produce bioethanol from autochthonous energy crops*, Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, vol.13 (2), p. 263-270.

2. Mihaela Begea, Mariana Vlădescu, Gheorghe Bâldea, Cornelia Cîmpeanu, Cristina Stoicescu, Paul Begea (2009). *Isolation and selection of high ethanol producing yeast strains*, Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, Vol 15 (1), p. 107-111.
3. Mihaela Begea, Liliana Balauta, Elena Baron, Liliana Vasilescu (2009). *Mycotoxins incidence in the Romanian malting barley (harvest 2007)*, Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, Vol 15 (1), p. 112-116.
4. Mihaela Begea, Mariana Vlădescu, Cristina Stoicescu, Daniela Simion, Paul Begea (2010). *Utilisation of Micro-Elements and Vitamins as Supplements to Balance the Content in Nutritive Factors in Culture Media to Produce Yeast Biomass*, Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, Volumul 16 (2), 200-206.
5. Mihaela Begea, Mariana Vlădescu, Cristina Stoicescu, Daniela Simion, Paul Begea (2010). *Calculation of the Specific Technological Parameters for the Technological Process to Produce Baking Yeast in Shorter Multiplication Cycle*, Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, Volumul 16 (2), 196-199.

Lucrări publicate în Lucrări Științifice UȘAMV București

- BDI Index: CABI – Publishing Website Serials Cited Submission (www.cabi.org);
- CNCSIS category: B+(Journal index:BDI)

1. Mihaela Begea, Cristina Stoicescu, Gheorghe Bâldea, Mariana Vlădescu, Șerban Berilă, Paul Begea (2008). *Optimization of the molasses based culture media to obtain single cell protein*. Lucrări Științifice U.Ș.A.M.V.B., Seria B – Horticultură, editate sub forma de CD-ROM cu ISSN 1222-5312 (Cod CNCSIS 846 - clasata in categoria B).

Alte publicatii

1. Mihaela Begea, Ion Stroia, Paul Begea (2008). Utilization of cereals as renewable agricultural resources, in order to produce bioenergy (bioethanol), under romanian conditions. 13th ICC Cereal and Bread Congress - Cerworld 21st Cereals worldwide in the 21st century: present and future, Madrid, 15-18 iunie, rezumat publicat in Book of abstracts, ISBN 978-84-612-4517-8, 386.
2. Mihaela Begea, Elena Baron, Elena Balauta, Stela Musu (2008). Mycotoxins incidence in raw materials and cereals based food products. 13th ICC Cereal and Bread Congress - Cerworld 21st Cereals worldwide in the 21st century: present and future, Madrid, 15-18 iunie, rezumat publicat in Book of abstracts, ISBN 978-84-612-4517-8, 169.

A fost prezentata o lucrare in cadrul unui simpozion international:

3. Mihaela Begea, Paul Begea (2009). *Producerea de biocombustibili lichizi – o amenințare pentru sectorul agro-alimentar?*. Simpozionul Internațional cu tema "COMPETITIVITATEA AGRICULTURII ROMÂNEȘTI ÎN PROCESUL DE INTEGRARE EUROPEANĂ", organizat de Institutul de Cercetare pentru Economia Agriculturii si Dezvoltare Rurală, in colaborare cu Institutul de Economie Agrară din Belgrad (Serbia), sub patronajul Academiei de Științe Agricole și Silvice "Gheorghe Ionescu Șișești", 5-6 iunie 2009, București. Publicat in volumul Lucrări științifice ale simpozionului „Competitivitatea Agriculturii Românești in Procesul de Integrare Europeană”, Editura Ars Academica, București, 62-68.

A fost tiparita cartea:

1. **Begea Mihaela**, Stroia Ion (2010). *Tehnologii alimentare fermentative, Volumul I - Tehnologii de producere a drojdiilor*, București, Editura Printech, ISBN 978-606-521-488-0.

A fost, de asemenea, transmisă și acceptată spre publicare lucrarea:

M. Begea, E. Bălăuță, L. Vasilescu, A - Sirbu. *Mycotoxins incidence in Romanian malting barley (harvest 2009)*, Journal of Agricultural Science and Technology (SUA), ISSN 1939-1250.

În plus, au fost publicate articole într-o publicație care se adresează în primul rând unităților producătoare din industria alimentară din România, respectiv **GLOBUS – Revista industriei alimentare românești**. Articolul se adresează în special unităților cu specific de industrie alimentară fermentativă.

Articolele publicate sunt următoarele:

1. Begea, M. (2008). *Biomasele proteice monocelulare – o problema de mare actualitate*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **101**, 20, 28, 30.
2. Begea, M., Baldea, Gh., Vlădescu, M., Musu, S., Balaută, E., Baron, E. (2008). *Utilizarea preparatelor enzimactice industriale la producerea bioetanolului din materii prime amidonoase*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **112**, 16-17.
3. Baron, E., Begea, E., Musu, S., M., Balaută (2008). *Preparate enzimactice celulozolitice utilizate la hidroliza deșeurilor celulozice, în vederea obținerii de bioetanol*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **112**, 34.
4. Begea, M. (2009). *Biorafinarea - un concept actual*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **114**, 12.
5. Begea, M. (2009). *Producerea drojdiei de panificație comprimate*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **115**, 26.
6. Begea, M., Vlădescu, M., Gheorghe Bâldea, Cornelia Cîmpeanu, Cristina Stoicescu (2009). *Experimentari de inocuire partială a melasei cu zahăr comercial, la obținerea alcoolului etilic la nivel industrial*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **118**, 4.
- Begea, M., Vlădescu, M., Gheorghe Bâldea, Cornelia Cîmpeanu, Cristina Stoicescu (2009). *Experimentari de inocuire partială a melasei cu zahăr comercial, la obținerea alcoolului etilic la nivel industrial (II)*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **119**, 12-13.
7. Mihaela Begea, Elena Baron (2009). *Procedee tehnologic de plămădire-zaharificare cu plămezi de densitate înaltă (Very High Gravity), la obținerea etanolului*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **119**, 10.
8. **Mihaela Begea**, Elena Baron, Stela Mușu-Coman, Elena Bălăuță (2009). *Deșeuri din industria spirtului – modalități de valorificare*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **120**, 14.
9. **Mihaela Begea**, Mariana Vlădescu, Cristina Stoicescu, Cornelia Cîmpeanu (2009). *Studiul termorezistenței și osmotoleranței unor tulpini de drojdii izolate (*Saccharomyces cerevisiae*)*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **121**, 16-17.
10. **Mihaela Begea**, Elena Baron, Stela Mușu (2009). *Etanolul din generațiile I și a II-a de biocombustibili: prezent și perspective*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **122**, 34.
11. Begea, M., Vladescu, M. (2010). *Controlul drojdiei comprimate în procesul de fabricație industrial*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **123**, 26.
12. Begea, M., Vladescu, M. (2010). *Controlul drojdiei comprimate în procesul de fabricație industrial (II)*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **124**, 8-9.
13. Begea, M., Vladescu, M. (2010). *Utilizarea drojdiei comprimate în unitățile de panificație*. GLOBUS FOOD&DRINKS – Revista industriei alimentare românești, **126**, 24.

A fost înregistrată cererea pentru brevetul cu titlul **Procedeu tehnologic de obtinere a drojdiei de panificație în ciclu redus de multiplicare** (înregistrare la OSIM cu numărul A/00652 din 27.06.2010).

Principalele rezultate noi, originale, valoroase din punct de vedere științific

- obținerea unei baze de date referitoare la categoriile de materiile prime și la parametrii de calitate ai acestora, care va permite dezvoltarea unei metodologii de urmărire a evoluției anumitor parametri până la produsul finit sau subproduse rezultate din procesul tehnologic de bază, precum și stabilirea tehnologiilor optime, cu eficiență și randamente maxime;
- testarea, caracterizarea și verificarea în paralel a testelor clasice și a celor API de identificare a drojdiilor;
- selecționarea de tulpini de drojdie înalt productoare de etanol, termorezistente și alcoolotolerante, testate și verificate pe diverse substraturi de fermentare, până la nivel pilot;
- drojdiile selecționate pot fi utilizate atât pentru fermentarea alcoolică a plamezilor din cereale, cât și a plamezilor din fructe;
- experimentările efectuate în condiții de laborator și pilot, pe plamezi pe baza de melasă și porumb, au demonstrat că se pot selecta culturi de drojdie cu potențial alcooligen ridicat, capabile să fermenteze materii prime diferite;
- prin fermentări succesive pe substraturi a căror concentrație în zahăruri crește progresiv, se permite selecționarea unor drojdii înalt alcooligene, care se pretează la utilizarea industrială pentru producerea de bioetanol;
- studii comparative în condiții pilot utilizând drojdii înalt alcooligene izolate în cadrul proiectului și drojdii comercializate de firme internaționale de profil;
- propunerea unor diagrame pentru prelucrarea porumbului la bioetanol, cu utilizarea preparatelor enzimactice de ultimă generație destinate special producerii de bioetanol din cereale, care asigură obținerea de randamente în etanol și consumuri specifice foarte bune;
- selecționarea de drojdiile din diferite substraturi naturale și din microflora epifită a fructelor, chiar dacă s-au dovedit că aparțin aceleiași gen (*Saccharomyces cerevisiae*), prezintă caracteristici de fermentare diferențiate a substraturilor zaharoase;
- selecționarea de tulpini de drojdie înalt productoare de biomasă, testate pe medii suporturi nutritive optimizate;
- selecția și testarea de drojdii capabile să metabolizeze grăsimi, cu obținerea de biomasă proteică monocelulară furajeră având calități superioare;
- stabilirea și optimizarea tehnologiei pilot de procesare a principalei culturi energetice specifice României – porumbul – în scopul obținerii de bioetanol, utilizând diverse preparate enzimactice industriale de ultimă generație;
- aplicarea și optimizarea de procedee cu plamezi concentrate (VHG), cu obținerea de randamente superioare în etanol;
- dezvoltarea, experimentarea și verificarea unui nou concept pentru România, respectiv aplicarea unor temperaturi de lichefiere diferite de cele recomandate și recunoscute de literatura de specialitate și practica industrială curentă. Astfel, deși temperatura de lichefiere a amidonului din porumb este, conform literaturii de specialitate, de 90°C, am demonstrat aplicabilitatea utilizării unei temperaturi de lichefiere pentru porumb între 83 – 86°C;
- creșterea potențialului drojdiilor de a forma biomasă, prin optimizarea diagramelor de lucru și a mediilor de cultură utilizate;
- pe parcursul derulării întregului proiect, s-a observat o bună concordanță între valorile obținute în laborator și cele realizate în stația pilot.

Implicarea tinerilor cercetatori

- Cristina Stoicescu, doctorand la zi in cadrul USAMV Bucuresti, indrumator de doctorat prof. univ. dr. Ioan Namolosanu.

- Teza de doctorat: **Influenta factorilor si a compozitiei mediului asupra randamentului in biomasa**
- Referat sustinut in 2008 - **Studii in vederea optimizarii mediului de cultura pentru obtinerea de biomase monocelulare, destinate alimentatiei si furajarii**
- Referat sustinut in 2009 - **Utilizarea de microorganisme specifice pentru obtinerea de biomasa monocelulara, pe suporturi vegetale optimizate**

- Cornelia Cîmpeanu, doctorand in cadrul USAMV Bucuresti, indrumator de doctorat prof. univ. dr. Gheorghe Cîmpeanu.

- Teza de doctorat: **Cercetari privind obtinerea carburantilor ecologici din materii prime vegetale autohtone**

Teza a fost sustinuta public in data de 26.03.2010

- Referat sustinut in 2008 - **Studii comparative intre tehnologiile de prelucrare a plamezilor de cereale destinate obtinerii de bioetanol**
- Referat sustinut in 2009 – **Studiul evolutiei si optimizarii procesului de fermentare a plamezilor de cereale destinate obtinerii de bioetanol**

- Cele doua doctorande sunt implicate in proiect ca cercetatori in formare.
- Pentru stimularea si formarea lor ca cercetatori, celor doi doctoranzi au atribuite sarcini si activitati clare, pentru desfasurarea de lucrari in laboratoare si statiile pilot, acest lucru contribuind si la formarea capacitatii lor manageriale, de conducere si derulare proiecte de cercetare.
- Implicarea lor ca timp este de 100%, iar raportat la total cheltuieli salariale le sunt alocate cca. 30% din fonduri.