

AKADEMIA TECHNICZNO-ROLNICZA
im. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH
w Bydgoszczy



ZESZYTY NAUKOWE

Nr 24

CHEMIA I TECHNOLOGIA
CHEMICZNA

(3)

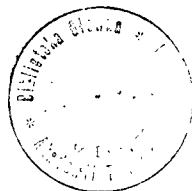
CZESŁAW WITKOWSKI

OTRZYMYWANIE BIOMASY DROŻDŻY Z NIEKTÓRYCH
ODPADÓW PRZEMYSŁOWYCH I ROLNICZYCH

Bydgoszcz 1975

10.4.1975

AKADEMIA TECHNICZNO-ROLNICZA
im. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH
w Bydgoszczy



ZESZYTY NAUKOWE

Nr 24

CHEMIA I TECHNOLOGIA
CHEMICZNA

(3)

CZESŁAW WITKOWSKI

OTRZYMYWANIE BIOMASY DROŹDŹY Z NIEKTÓRYCH
ODPADÓW PRZEMYSŁOWYCH I ROLNICZYCH

Bydgoszcz 1975

REDAKTOR NACZELNY

Zbigniew Kikiewicz

REDAKTOR NAUKOWY

Włodzimierz Brandel

REDAKTOR TECHNICZNY

Elżbieta Rubaszkiewicz

Wydano za zgodą Rektora
Akademii Techniczno-Rolniczej
w Bydgoszczy

WYDAWNICTWO UCZELNIANE AKADEMII TECHNICZNO-ROLNICZEJ
W BYDGOSZCZY

Druk UMK zam. 841, nakład 150, ark. wyd. 2,4, — S-5 27 VI 75, cena zł 10

SPIS TREŚCI

Strona

| | |
|---|----|
| I. Wykorzystanie wodnego hydrolizatu bukowego do produkcji drożdży paszowych | 6 |
| 1. Adaptacja wstępna | 11 |
| 2. Wypracowany sposób postępowania | 14 |
| 3. Wyniki | 16 |
| 4. Dyskusja | 18 |
| II. Wykorzystanie dehydrolizatu bukowego do produkcji drożdży paszowych | 22 |
| 1. Materiał i metody | 23 |
| 2. Wyniki i ich omówienie | 24 |
| III. Wykorzystanie ligniny powanilinowej do produkcji drożdży paszowych | 25 |
| 1. Materiał i metody | 26 |
| 2. Omówienie wyników | 27 |
| IV. Wykorzystanie słomy rzepakowej do produkcji drożdży paszowych | 27 |
| 1. Materiał i metody | 30 |
| 2. Omówienie wyników | 31 |
| V. Ocena wyprodukowanych drożdży pod względem składu aminokwasowego i witamin grupy B | 34 |
| 1. Materiał i metody | 35 |
| 2. Omówienie wyników | 38 |
| Literatura | 42 |

Czesław Witkowski

OTRZYMYWANIE BIOMASY DROŻDZY
Z NIEKTÓRYCH ODPADÓW PRZEMYSŁOWYCH I ROLNICZYCH

W pracy przedstawiono wyniki długoletnich badań dotyczących drożdżowania kilku odpadów fabrycznych i rolniczych. Wyhodowany uprzednio szczep drożdży *Monilia murmanica* Bf zaadaptowano do produkcji biomasy na wodnych hydrolizatach z drewna bukowego, będących produktem odpadowym kierowanym obecnie do Wisły przez Kombinat Celulozowo-Papierniczy koło Świecia. W pierwszym etapie badań osiągnięto pozytywne wyniki stosując hydrolizat rozcieńczony wodą wodociągową do 10 g SR w litrze. Długotrwała praca adaptacyjna nad rasą drożdży *Monilia murmanica* Bf i zastosowanie do fermentacji metody ciągłej, pozwoliło na zwiększenie SR w dodawanym hydrolizacie, pomimo jego wysokiej toksyczności do 18 g/l SR. Z fermentującej brzożki otrzymano wykorzystanie SR w 75 %, a kwasów organicznych w 100 % i równocześnie wysoką wydajność drożdży dochodzącą do 50 % w stosunku do całkowitej ilości SR obecnych w hydrolizacie. Stanowi to około 16 g suchej masy drożdży z 1 litra surowego hydrolizatu.

Równoległe wypracowano w skali laboratoryjnej optymalne parametry produkcji drożdży i przedstawiono je w świetle dotychczasowych danych literaturowych. Praca badawcza prowadzona nad innym sposobem wykorzystania odpadów fabryki celulozy koło Świecia doprowadziła do opracowania metody otrzymywania furfurołu, przy produkcji którego powstawałby odpad wtórny tak zwany dehydrolizat, o niższej zawartości SR, ale wyższej kwasów organicznych niż wycięściowy hydrolizat bukowy. Próby hodowania drożdży *Monilia murmanica* Bf na dehydrolizacie również zostały uwieńczone sukcesem. Drożdże produkowały biomasę głównie z kwasów organicznych, ponieważ miały w pożywce niewielkie ilościocukrów.

W następnym etapie pracy zaadaptowano posiadaną rasę drożdży do życia i rozmnażania na podłożu pozbawionym całkowicie cukrów, zawierającym kwasy organiczne jako jedyne źródło węgla. Pożywkę produkowano z ligniny, odpadu fabryki waniliny, przeprowadzając jej rozkład w środowisku tlenowo-amoniakalnym. Wykonane badania wykazały realną możliwość wykorzystania ligniny powanilinowej do produkcji białka paszowego.

Wykonano ponadto udane próby zdrożdżowania hydrolizatów ze słomy rzepakowej. Z tego podłoża otrzymano również dobrą wydajność biomasy drożdży. Przy wykorzystaniu odpadów rolniczych do produkcji drożdży paszowych, cukry i kwasy z hydrolizatów są dobrze wykorzystywane przez drożdże *Monilia murmanica* Bf - problem istnieje jedynie w ustaleniu korzystnych parametrów procesu hydrolizy.

Drożdże wyhodowane na odpadach fabrycznych i rolniczych poddano ocenie pod względem zawartości białka, jego składu aminokwasowego oraz zawartości kilku witamin grupy B. Wyniki wykazały, że z odpadów, które jeszcze obecnie nie są zagospodarowane, można wyprodukować biomasę o dużej zawartości białka i cennym składzie aminokwasowym, zawierającą ponadto witaminę oraz prowitaminę D a także duże ilości witamin grupy B i składników bardzo potrzebnych w żywieniu zwierząt.

I. Wykorzystanie wodnego hydrolizatu bukowego do produkcji drożdży paszowych

Wyżywienie stale wzrastającej liczby ludności świata staje się obecnie pierwszoplanowym problemem. Słynna teoria Mathiusa głosiła, że przyrost ludności będzie kształtował się w postępie geometrycznym a produkcja żywności w postępie arytmetycznym. Historia wykazała, że tempo przyrostu ludności może być jeszcze większe niż powyższe przewidywania, ale wykazała również iż tempo przyrostu produkcji żywności może przewyższać tempo wzrostu zaludnienia. Przy obecnym stanie wiedzy, granicami możliwości produkcji żywności są jedynie ilości węgla na ziemi i dostępne energie promieniowania słonecznego [39]. Nie zmienia to jednak faktu, że 4/5 ludności świata posiada za mało pożywienia i że nauka ma jeszcze w tym kierunku bardzo duże pole do działania

Wiadomym jest już ogólnie, że nawet najbardziej intensyfikowane rolnictwo nie zaspokoi ciągle rosnących potrzeb żywnościowych wznoszącej się liczby ludności globu ziemskiego, tym bardziej, że obszar ziemi uprawnej stale zmniejsza się w związku z ciągłym zajmowaniem nowych terenów pod zabudowę, drogi i place. W skali światowej niedobór białka, podstawowego produktu w żywieniu ludzi i zwierząt, mimo stałego postępu w rolnictwie nie zmniejsza się a wprost przeciwnie, z roku na rok wzrasta. Według Champagnat [10] roczny deficyt białka zwierzęcego wynosi 3 mln ton, co odpowiada 15 mln ton mięsa. Na wyprodukowanie białka dla wyrównania tego deficytu potrzeba 40 lat. Ten stan wymaga od nauki wzmoczonej pracy w kierunku wyprodukowania białka szybszymi metodami.

Wysiłki naukowców podejmowane w celu likwidacji głodu na świecie idą nie tylko w kierunku zwiększania ilości płodów rolnych i produkcyjnych zwierząt gospodarskich, ale również w kierunku produkcji białka na drodze biosyntezy przez bakterie i drożdże [5,12]. Tak wyprodukowane białko obniża jego deficyt nie tylko pośrednio jako pasza dla zwierząt /drożdże paszowe/ ale i bardziej bezpośrednio, jako konsumpcyjne preparaty drożdżowe produkowane ostatnio przez przemysł spożywczy [21,23,53].

Wysoka zawartość aminokwasów egzogennych i endogennych oraz witamin grupy B w ekstraktach drożdżowych rokuje dużą przyszłość dla rozwoju tego kierunku przemysłu spożywczego a więc i dla wykorzystania różnych odpadów przemysłowych i innych źródeł węgla do produkcji drożdży.

Hodowla drożdży i innych drobnoustrojów daje duże szanse przyspieszenia wytwarzania białka oraz pozwala wykorzystać do produkcji tanie surowce, jak na przykład różne odpady fabryczne i rolnicze, które nie tylko że nie nadają się bezpośrednio do celów spożywczych i paszowych lecz są często kłopotliwym balastem.

Drobnoustroje charakteryzują się tym, że hodowane a różnych surowcach zawsze produkują dobre białko o wysokiej wartości odżywczej i cennym składzie aminokwasów. Aby zwierzęta wyprodukowały wysoko gatunkowe mięso muszą być żywione w sposób właściwy, według recept ściśle określonych, stosunkowo drogimi paszami. Produkcja białka drogą hodowli drożdży jest 2500 razy szybsza niż drogą hodowli zwierząt rzeźnych. Jedno zwierzę o wadze 500 kg żywione na pastwisku syntetyzuje około 0,5 kg białka dziennie, natomiast 500 kg żywych komórek drożdżowych w kadzi fermentacyjnej w tym czasie produkuje 2500 kg drożdży, co stanowi 1250 kg białka.

Hodowla drożdży pozwala na dużo szybsze i łatwiejsze nagromadzenie wysokowartościowej paszy białkowej w porównaniu z uprawą zboża. Przy plonie 20 q jęczmienia pastewnego o zawartości 14 % białka z hektara uprawy otrzymujemy w ciągu jednego okresu wegetacyjnego taką ilość białka, jaka jest zawarta w 600 kg suchej masy drożdży. A więc hodowla drożdży prowadzona w kadzi o pojemności 300 m³ dostarcza w ciągu 12 godzin tyle białka, ile w ciągu roku daje plon jęczmienia zebrany z 1 ha. Drożdże posiadają około 50 % białka, są więc szczególnie cenną paszą białkową i odgrywają bardzo ważną rolę jako dodatek do pasz ubogich w białko. 1 kg drożdży pastewnych zawiera 397,7 g białka przyswajalnego i odpowiada 1 159 jednostkom owsianym [60]. Dzięki temu, że drożdże zawierają tak dużo białka, ich wartość odżywcza jest prawie równa wartości odżywczej mączki rybnej i mięsnej.

Rozwój hodowli zwierząt gospodarskich i drobiu jest jeszcze ciągle hamowany przez deficyt pasz białkowych. Wysoko białkową paszą są drożdże, ale produkcja ich w kraju jest jeszcze niska. W roku 1970 krajowy deficyt drożdży paszowych wynosił 12,2 tysiące ton, a przewiduje się że w latach 1975-85 ten niedobór wzrośnie aż do 98,6 tysięcy ton [41]. Według danych Zjed-

noczenia Przemysłu Spirytusowego produkcja poszczególnych rodzajów drożdży w Polsce w roku 1969 wynosiła:

| | | |
|---------------------------|---|------------|
| drożdże melasowe | - | 15 974 ton |
| drożdże wywarowe melasowe | - | 11 125 " |
| drożdże pospirytusowe | - | 3 934 " |
| drożdże posulfitowe | - | 2 155 " |
| drożdże z gęstwiny piwnej | - | 310 " |

Ogółem 39 499 ton

Liczby te obecnie niewiele się zmieniły. Produkcja jest ciągle niska a już szczególnie z surowców odpadkowych, których olbrzymie ilości są jeszcze stale niewykorzystane.

Próby likwidacji deficytu białkowego poprzez hodowlę drożdży z węglowodorów, torfu i różnych odpadów przemysłowych /kukurydza, ryżowe i słonecznikowe, kolby kukurydzy i trzciny cukrowej, wywary i ługi posiarczynowe z drewna/ są podejmowane na dużą skalę we Francji, Holandii, Japonii i Związku Radzieckim [4,50, 71].

W Polsce nad hodowlą drożdży z węglowodorów pracuje, w Instytucie Chemii i Technologii Rolnej w Lublinie prof. Bujak. Ponieważ jednak Polska należy do krajów importujących ropę naftową, tańszymi źródłami surowców do produkcji drożdży są u nas różne odpady przemysłowe, zwłaszcza odpady przemysłu celulozowo-papierniczego. Produkcja drożdży z ługów i wywarów posiarczynowych została już rozwiązana na skalę półtechniczną [28].

Wprowadzenie do uszlachetniania mas celulozowych, produkowanych z drzew liściastych, wstępnej hydrolizy wodnej [11,75]. stało się źródłem nowych odpadów, które w przypadku drewna bukowego są bogate w substancje redukujące /SR/ oraz kwasy organiczne [87,91].

Pierwsze próby laboratoryjne hodowli drożdży na wodnych hydrolizatach drewna bukowego wypadły negatywnie [3]. Badania własne wykonane na hydrolizatach wytwarzanych laboratoryjnie, z dwóch buków pochodzących z okolic Bydgoszczy, wypadły pomyślnie [35]. Po dwuletniej pracy udało się zaadaptować drożdże rasę *Monilia murmanica* do rozwoju na wodnym hydrolizacie bukowym, bez odpędzenia furfurołu z parą wodną tj. do produkcji biomasy drożdży w obecności stężenia furfurołu dochodzącego do 0,4 % [83]. Szczep nazwano *Monilia murmanica* Bf /B-Bydgoszcz, f-furfurol/. Wyeliminowanie usuwania furfurołu z hydrolizatu bukowego automatycznie wzbogaciło go w lotne kwasy, które szczep drożdży *Monilia murmanica* Bf zużywał do produkcji biomasy, łącznie z nielotnymi kwasami organicznymi [87]. Wyprodukowane drożdże charakteryzowały się dużą zawartością witaminy D [86] i białka, którego skład aminokwasowy był zbliżony do składu aminokwasowego dobrych drożdży paszowych, wyhodowanych na melasie [84].

W 1968 roku w Świeciu nad Wisłą został uruchomiony kombinat celulozowo-papierniczy, który produkuje celulozę z drewna bukowego, sprowadzanego głównie z Bieszczad, przy zastosowaniu uszlachetniania masy celulozowej metodą wstępnej hydrolizy wodnej. Obecnie ilość tego hydrolizatu kierowanego do Wisły wynosi około 500 ton dziennie. Jeżeli przyjąć średnią zawartość SR 25 g w litrze i średnią wydajność biomasy drożdży 70 % SR [37] czyli około 16 g suchej masy drożdży, to otrzymamy 8 g czystego białka z 1 litra hydrolizatu. Przerobienie 500 ton odpadów dałoby więc około 4 tony czystego białka dziennie. Powyższe wyliczenie jest zgodne z wsześniejszymi przewidywaniami [27]. Utylizacja odpadów fabryki w Świeciu na drodze produkcji drożdży jest więc problemem godnym rozwiązania.

Celem pracy była próba zaadaptowania wyhodowanego szczepu drożdży *Monilia murmanica* Bf do wzrostu i rozwoju na wodnym hydrolizacie bukowym stanowiącym odpad fabryki celulozy w Świeciu.

Na podstawie omówionych na wstępie wyników prac własnych [37,83, 87] sądzono, że wystarczy hydrolizat sprowadzić z fabryki i prowadzić produkcję biomasy drożdży, według parametrów opracowanych dla hydrolizatu wyprodukowanego laboratoryjnie. Wstępne próby przyniosły rozczarowanie, otrzymano wyniki negatywne. Rozpoczęto więc pracę adaptacyjną od podstaw, która dopiero po rocznych wysiłkach zaczęła przynosić pozytywne efekty.

1. Adaptacja wstępna

Hydrolizaty wodne drewna bukowego pobierano w fabryce celulozy w Świeciu, wprost z warnika, gdzie miały temperaturę ponad 100°C , do szklanych balonów 50 litrowych i przywożono do WSI w Bydgoszczy. W sumie pobrano 8 balonów. Zewnętrzny wygląd hydrolizatów fabrycznych był zbliżony do produkowanych laboratoryjnie [35,36]. Hydrolizaty fabryczne były tylko nieco ciemniejsze i posiadały więcej zawiesiny. Niektóre nie dawały się sklarować przez dekantację i sączenie. Zakwaszenie hydrolizatów fabrycznych wahało się od 3,1 do 3,3 pH. Przywiezione hydrolizaty różniły się między sobą bardzo znacznie zawartością SR. W jednym hydrolizacie zawartość SR wynosiła 12 g na litr, w pozostałych wahała się w granicach od 24 do 32 g na litr.

Wszystkie partie przywiezionych hydrolizatów były silnie trujące, czym głównie różniły się od hydrolizatów wyprodukowanych laboratoryjnie. Hydrolizaty fabryczne pozostawione na okres roku w otwartych zlewkach na stole laboratoryjnym, nie pokrywały się pleśnią, stosując zaś badania mikroskopowe i wysiewy nie stwierdzono w nich żadnych drobnoustrojów. Dzięki ostrej właściwości prowadzenie hodowli drożdży na tych hydrolizatach nie wymaga przestrzegania zasad czystości mikrobiologicznej. Silnie trujące właściwości hydrolizatów fabrycznych były jednak zabójcze i dla posiadanego szozepu drożdży *Monilia murmanica* Bf.

W pierwszym etapie podjęto próby obniżenia trujących właściwości hydrolizatów fabrycznych stosując kolejno:

- 1/ odpędzenie substancji lotnych z parą wodną
- 2/ neutralizację wapnem gaszonym i odsączenie osadu
- 3/ gotowanie z 2-3 % kwasem siarkowym

Żadną z tych metod nie udało się usunąć substancji trujących z hydrolizatu. Wyniki hodowli drożdży pozostawały nadal negatywne. Brak możliwości izolowania tej, czy tych substancji za pomocą sefadeksów i ewentualne trudności i koszty późniejszego wprowadzania dodatkowych zabiegów na skalę techniczną, spowodowały zaniechanie dalszych prób w kierunku usunięcia substancji trującej.

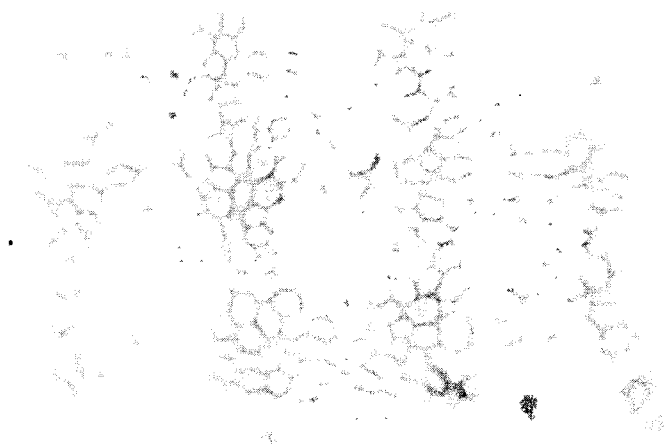
W drugim etapie rozpoczęto powolną adaptację drożdży do rozmnażania się na hydrolizacie fabrycznym, stosując kolejno i w kombinacjach:

- 1/ hodowlę drożdży na hydrolizacie wyprodukowanym laboratoryjnie ze stopniowym zwiększaniem dodatku hydrolizatu fabrycznego
- 2/ rozcieńczanie hydrolizatu fabrycznego wodą wodociągową w stosunku 1:4

Na hydrolizacie wyprodukowanym laboratoryjnie drożdże rozmnażały się ładnie, jednak zwiększenie ilości dodawanego hydrolizatu fabrycznego powyżej 1/4 objętości brzeczki, zawsze kończyło się obumieraniem komórek drożdżowych. Nasunęło to przypuszczenie, że czterokrotne obniżenie stężenia substancji trujących w hydrolizacie fabrycznym wystarczy, aby hydrolizat przestał być toksyczny dla drożdży *Monilia murmanica* Bf. W dalszej pracy adaptacyjnej wprowadzono więc rozcieńczanie hydrolizatu fabrycznego wodą w stosunku 1:4. Przy tym systemie zaczęto coraz częściej obserwować dobry rozwój drożdży, a po pewnym czasie już stale bardzo dobry rozwój i dobrą wydajność biomasy

drożdży. Dodatnie wyniki zachęciły do dalszego zmniejszania rozcieńczenia hydrolizatów fabrycznych. Od tego momentu zaprzestano dodawania hydrolizatu laboratoryjnego. Jednak zwiększenie stężenia SR do 1,5 % w fermentującej brzeczce nadal kończyło się niepowodzeniem.

Pierwszy etap rozwoju drożdży przebiegał prawidłowo przy stężeniu SR 1 %, to jest rozcieńczeniu hydrolizatu fabrycznego wodą w granicach od 1:1 do 1:2. Hodowla drożdży była prowadzona w litrowych płuczkach z dnem porowatym, wstawionych do termostatu o temperaturze 32°C, nawietrzano przy pomocy sprężarki. Jako pożywkę dodawano 5 g NH_4/SO_4 i 2 g K_2HPO_4 na litr brzeczki. Po zaszczepieniu drożdży /pobranej uprzednio w czasie fermentacji głównej, przemytych i odwirowanych/ fermentację prowadzono 10 do 12 godzin. Spadek SR po fermentacji wynosił co najmniej 50 %. Wydajność drożdży, oznaczona wagowo, dochodziła do 4 g suchej masy drożdży na litr brzeczki, to jest 4 g czystego białka na litr hydrolizatu. Na załączonym zdjęciu 1 przedstawiono obraz mikroskopowy drożdży pobranej w czasie fermentacji przy powiększeniu 800 razy.



Rys.1. Obraz mikroskopowy drożdży *Monilia murmanica* Bf wychodowanych na wodnym hydrolizacie bukowym z fabryki w Świeciu, powiększenie 800 razy

Według H. Krach [47] stężenie SR w fermentującej brzezce powinno wynosić od 0,5 do 1,5 %. Większość badaczy uważa, że optymalne stężenie SR wynosi 1 % [73], chociaż niektórzy otrzymują dobrą wydajność biomasy drożdży przy stężeniu dochodzącym do 1,5 % SR [18]. Czterokrotne rozcieńczanie hydrolizatu fabrycznego dawało stężenie około 0,5 % SR, czyli dolną granicę normy. Zaadaptowanie drożdży *Monilia murmanica* Bf do rozmnażania i produkcji biomasy na hydrolizacie fabrycznym rozcieńczonym do 1 % SR było dużym sukcesem.

Dalsza praca polegała na zwiększeniu stężenia SR w fermentującej brzezce do 1,5 %, to jest do górnej granicy normy, aby zmniejszyć do minimum rozcieńczanie wodą a tym samym objętość kadzi fermentacyjnej przy praktycznym rozwiązaniu problemu utylizacji wodnych hydrolizatów bukowych w Świeciu. Ten etap pracy adaptacyjnej, trwający około dwóch lat, doprowadził do ustalenia optymalnych parametrów dla produkcji drożdży paszowych na wodnych hydrolizatach bukowych. Obecnie opisano wypracowany sposób postępowania i poszczególne etapy przedyskutowano w świetle wyników i poglądów innych autorów.

2. Wypracowany sposób postępowania

W dotychczasowej pracy nad adaptacją drożdży do życia i rozmnażania na wodnym hydrolizacie bukowym, tak wyprodukowanym laboratoryjnie jak i fabrycznie [37,89], stosowano do prowadzenia fermentacji metodę okresową lub okresowo-dolewową. Obecnie zastosowano metodę ciągłą. W tym celu litrowe płuczki Schota zastąpiono 5 litrowymi zlewkami. Dodanie przygotowanej brzezki i odbieranie fermentującej, przeprowadzono przy pomocy mikropompy "Unipan". Pompę dozującą ustawiono tak aby ilość płynu doprowadzana do zlewki była taka sama jak odprowadzana. Nawietrzanie i równoczesne mieszanie rozwiązano przez wprowadzenie do zlewki szklanego grzyba o powierzchni porowatej, wykonanej ze szkła spiekanego G₂ o średnicy 120 mm/. Powietrze

doprowadzano ze sprężarki KP₂. Zlewki wstawiono do ciepłarki z płaszczem wodnym utrzymującej automatycznie temperaturę 35°C.

Wodny hydrolizat zrębków bukowych pobierano kranem spustowym z werników fabryki celulozy w Przechowie natomiast po ukończonym procesie hydrolizy, temperatura hydrolizatu wynosiła ponad 100°C, pobierano go więc najpierw do wiader a dopiero potem przelewano do dużych balonów i przetransportowywano do laboratorium. Przygotowanie hydrolizatu do fermentacji rozpoczynano od obniżenia jego kwasowości do pH 5 za pomocą 25 % wody amoniakalnej. Wprowadzony w ten sposób azot służył równocześnie jako pożywka dla drożdży [25]. Następnie dodawano fosfor w postaci KH₂PO₄, w ilości 1 g/l oraz ślady Zn i Cu w postaci ZnSO₄ i CuSO₄. Wzbogacony w sole hydrolizat sączono w celu usunięcia zawiesiny. Klarowny płyn rozcieńczano wodą wodociągową tak, aby końcowe stężenie substancji redukujących /SR/ wynosiło 1,8 % i dodawano 1 do 2 kropli oleiny w celu zapobieżenia pienieniu.

Fermentację rozpoczynano z 1 litra przygotowanego jak wyżej hydrolizatu, który zaszczeplano drożdżami *Monilia murmanica* Bf, zaadaptowanymi do produkcji biomasy na hydrolizacie fabrycznym [89]. Drożdże zarodowe pobierane były w czasie fermentacji głównej, tak aby zawierały dużą ilość kcmórek pączkujących, odwirowane i przechowywane w lodówce. Następnie uruchamiano nawietrzanie i po wstępnym okresie rozwoju trwającym około 4 godzin, podłączano pompę dozującą.

Od tego momentu fermentacja mogła przebiegać teoretycznie bez przerwy. Praktycznie była ograniczona przede wszystkim wytrzymałością rurek teflonowych w pompie dozującej, które pękały po około dwutygodniowej pracy. Przerwa w dopływie hydrolizatu powodowała zaburzenie równowagi i fermentację rozpoczynano od początku. W czasie prawidłowego przebiegu fermentacji ustalała się równowaga, przy której stężenie SR w brzeczce fermentującej wynosiło około 0,9 %, pH około 6 jednostek, temperatura w fermentującej brzeczce utrzymywała się na poziomie 33°C. Taki u-

kład osiągnano gdy szybkość dopływu podłoża i odpływu brzeczki z drożdżami wynosiła 120 ml na godzinę.

Odprowadzoną brzeczkę poddawano dofermentowaniu w drugiej 5 l zlewce stosując, podobnie jak dla fermentacji głównej, nawietrzanie i mieszanie strumieniem powietrza ze sprężarki przez szklany grzybek, w cieplarni z płaszczem wodnym o temperaturze 35°C. Ponieważ w czasie fermentacji głównej pH podniosło się z 5 do 6 jednostek, przed dofermentowaniem obniżano je ponownie do pH 5 za pomocą kwasu siarkowego. Było to konieczne, ponieważ bez dodatku kwasu siarkowego w czasie dofermentowania następował szybki wzrost pH do 7 a nawet powyżej 8 jednostek, który zahamowywał fermentację. Dofermentowanie prowadzono w czasie 14-16 godzin. Po tym okresie stężenie SR w brzeczce spadło do 0,5%. Wszystkie cukry proste zostały więc przez drożdże wykorzystane, pozostały jedynie inne związki mające zdolność redukcji płynu Felinga. W obrazie mikroskopowym malała ilość komórek pączkujących a wzrastała ilość komórek starych, z wakuolami. Przedłużanie okresu dofermentowania nie zwiększało plonu drożdży.

Po ukończeniu okresu dofermentowania zbierano plon biomasy. Dla oznaczenia wydajności odsączano zawiesinę drożdży przez tygiel Schota G₄ i oznaczano je wagowo po wysuszeniu w temperaturze 105°C. Furfurol oznaczano metodą bromianową. Stężenie SR oznaczano metodą Layna Eynona, pH na pehametrze LBS.

3. Wyniki

W tabelicy 1 przedstawiono stężenie SR i furfurołu oraz pH w kolejnych etapach przy optymalnym przebiegu procesu fermentacji. W tabelicy 2 wykorzystanie SR w stosunku do hydrolizatu rozcieńczonego i surowego oraz plon drożdży w g/l i w procentach w stosunku do całkowitej ilości SR. Plon drożdży wyliczony w stosunku do SR wykorzystanych wynosi około 70%.

Tablica 1

Stężenie substancji redukujących /SR/ i furfurołu oraz pH w poszczególnych etapach procesu hodowli drożdży

| Etap fermentacji | SR w g/l | pH | furfurol w g/l |
|---|-------------|---------------|----------------|
| 1.Surowy hydrolizat fabryczny | 32 ± 2 | $3,1 \pm 0,2$ | od 7 do 11 |
| 2.Brzeczką przygotowaną do fermentacji | 18 | 5 | od 4 do 6 |
| 3.Fermentująca brzeczką /i odciek ferm.głównej/ | $9 \pm 0,1$ | $6,0 \pm 0,2$ | od 2 do 3 |
| 4.Brzeczką przygotowaną do procesu doferment. | $9 \pm 0,2$ | 5 | od 2 do 3 |
| 5.Odciek po ukończeniu ferm. /odpad/ | $5 \pm 1,0$ | $8,0 \pm 0,2$ | od 2 do 3 |

Tablica 2

Wykorzystanie SR i wydajność drożdży

| | | w g/l | w % |
|--------------------------|----------------|----------------|------------|
| SR ulegające fermentacji | a/ z podłoża | 13 ± 1 | 72 ± 6 |
| | b/ z sur.hydr. | $23 \pm 1,5$ | |
| Plon drożdży | a/ z podłoża | $8,8 \pm 0,2$ | 48 ± 2 |
| | b/ z sur.hydr. | $15,6 \pm 0,4$ | |

4. Dyskusja

Zaadaptowanie rasy drożdży *Monilia murmanica* Bf do produkcji biomasy z wodnych hydrolizatów bukowych, będących odpadem fabryki celulozy w Przechowie koło Świecia, jest dużym sukcesem przede wszystkim ze względu na toksyczne właściwości podłoża [89]. Odporność grzybka *Monilia murmanica* na szkodliwe wpływy otoczenia /tak związki toksyczne obecne w podłożu jak i produkty przemiany/, jego zdolność przyswajania pentoz, w które obfitują hydrolizaty drewna oraz duża szybkość produkowania biomasy, były znane od dawna [54,65]. Wiadomo było również, że grzybek ten, podobnie jak *Candida utilis* i wiele innych, wytwarza biotylenę i wszystkie potrzebne do życia i rozwoju witaminy [1,2,51, 54].

Zaadaptowany szczep Bf charakteryzuje się ponadto olbrzymią odpornością na duże stężenie furfurołu i inne związki toksyczne, które według dotychczasowych poglądów należało usuwać z podłoża [54].

Jak wykazano w tablicy 1 stężenie furfurołu w surowym hydrolizacie fabrycznym wahało się w granicach od 7 do 11 g/l, a w przygotowanej brzooczce od 4 do 6 g/l. W odcieku po fermentacji głównej, a więc i w całym środowisku fermentującym, stężenie furfurołu obniżało się do 3 a nawet do 2 g/l. Część furfurołu mogła więc ulatniać się w czasie nawietrzania, lub ulegała rozkładowi w czasie fermentacji. Innych substancji toksycznych nie oznaczono.

Zastosowanie do hodowli drożdży metody ciągłej w pierwszej głównej fazie fermentacji, pozwoliło na utrzymanie stale jednokowych warunków środowiska [61]. Lefrancois [51] przewidział i doświadczalnie wykazał, że w wielkim fermentatorze utrzymanie jednorodnego środowiska i równowagi daje możliwość prowadzenia kilka lat tej samej kolonii drobnoustrojów w czystej kulturze, nawet bez sterylizacji powietrza do nawietrzania. Raz rozmnożone i

zaadaptowane drożdże nie degenerują się i nie należy ich wymieniać [52]. Dodatkowo strony zastosowania metody ciągłej obserwowano również przy produkcji drożdży w pianie [58] i przy zdrożdżowywaniu odcieku cytrynowego [46].

Observacje własne wykazały, że i w małym układzie, w skali laboratoryjnej, utrzymanie jednakowych parametrów pozwala na prowadzenie hodowli drożdży metodą ciągłą bez zaburzeń. Ponadto w takim układzie jednorodnym najłatwiej ustalić optymalne parametry hodowli, to jest szybkość dopływu substratu, pH, temperaturą i stężenie SR. Ideałem byłoby, już po ustaleniu optymalnych parametrów, prowadzenie hodowli bez przerwy. Im dłuższe przerwy w hodowli, tym powrót do dobrego rozwoju drożdży trudniejszy, pomimo optymalnego ustawienia wszystkich parametrów.

Drugą zaletą zastosowania metody ciągłej jest możliwość znacznego zmniejszenia rozcieńczania surowego hydrolizatu fabrycznego. Po wprowadzeniu drożdży do produkcji na skalę fabryczną pozwoli to na znaczne zmniejszenie objętości fermentatorów. Przy podawaniu wodnego hydrolizatu bukowego o stężeniu 1,8 % SR, ich stężenie w fermentującej brzeczce utrzymywało się na poziomie 0,9 %, to jest w granicach uznanych przez większość autorów za optymalne dla rozwoju drożdży [28,73,80,92].

Granice optymalnych stężeń SR są różne w zależności od stosowanej metody, rasy drożdży i przede wszystkim podłoża. Dla hydrolizatów drewna stężenie SR może wahać się od 0,5 do 1,5 % [47], dla wywarów posulfitowych od 0,78 do 1,02 % [28], dla odcinka fermentacji cytrynowej 1,5 % [46]. Według Małkowa [54] podwyższenie stężenia SR powyżej 2 % jest niekorzystne dla rozwoju drożdży. Wydaje się jednak, że stosowanie stężeń niższych niż 2% SR jest podyktowane również koniecznością obniżenia toksyczności podłoża [55,77,89]. Zwiększenie stężenia SR w fermentującej brzeczce wpływa ponadto na przedłużenie czasu fermentacji [92].

W opisanym sposobie postępowania spełnione są optymalne warunki gwarantujące szybki i prawidłowy przebieg rozwoju drożdży *Monilia murmanica* Bf. W czasie fermentacji głównej połowa SR zostaje wykorzystana do produkcji biomasy. W czasie procesu dofermentowania-reszta cukrów. W odcieku po dofermentowaniu pozostaje około 0,5 %, są to **związki niecukrowe, nieprzyswajalne** przez drożdże, prawdopodobnie: furfurol, oksymetylofurfurol, deksytryna, kwasy uronowe, związki pochodzenia humusowego i ligninowego [44].

Optymalny zakres pH w fermentującej brzeczce zależy głównie od rasy hodowanych drożdży. Najbardziej odporne na kwaśne środowisko są drożdże *Candida utilis*, które rozmnażają się dobrze przy pH od 3 do 7 [1]. Dla większości ras największą szybkość drożdżowywania osiągnano przy pH od 5 do 6 [54,90]. Zakresy podawane przez innych autorów mieszczą się w granicach od pH 4,8 [46], do pH 6,3 [7]. Według Szarkowa [76] drożdże rasy *Monilia murmanica* rozwijają się najlepiej przy pH 5,6 do 6. Zgodnie z własnymi obserwacjami zaadaptowana rasa drożdży *Monilia murmanica* Bf rozwija się bardzo dobrze w granicach pH od 5 do 7.

Zastosowane w pracy obniżanie kwasowości hydrolizatu fabrycznego z pH 3 do pH 5 za pomocą wody amoniakalnej jest bardzo korzystne ze względu na wzbogacenie podłoża w azot [1,25,79]. W czasie fermentacji głównej pH podnosiło się do 6. Drożdże do budowy biomasy wykorzystują bowiem równocześnie z cukrami kwasy organiczne obecne w hydrolizacie [17,86]. Przed uruchomieniem dofermentowania trzeba więc z powrotem obniżyć pH do 5. Wyeliminowanie tej czynności prowadzi do szybkiego wzrostu pH i rozwój drożdży ulega zahamowaniu.

Zakwaszenie kwasem siarkowym w drugim etapie fermentacji powoduje, poza utrzymaniem optymalnego pH, wypieranie słabych kwasów organicznych z ich soli i ułatwia wykorzystanie ich przez drożdże do budowy biomasy.

Hodowlę prowadzono w termostacie z płaszczem wodnym, nastawionym na 35°C . Silny przepływ powietrza nawietrzającego, pobieranego przez sprężarkę z pomieszczenia laboratoryjnego o temperaturze około 20°C , powoduje obniżenie temperatury w fermentującej brzeczce nawet do 27°C . Po ustaleniu się równowagi i przy prawidłowym przebiegu fermentacji głównej, temperatura w brzeczce podnosi się do 33°C i na tym poziomie się utrzymuje. Ciepło wydzielone w procesie rozwoju drożdży równoważy w dużym stopniu ochładzanie spowodowane nawietrzaniem.

Większość autorów uważa, że rozwój drożdży przebiega najlepiej w temperaturze od 30 do 35°C [46,80,92], lub nawet nieco wyższych od 36 do 37°C [72]. Niższe temperatury polecane są dla hodowli pleśni [5]. W czasie pracy nad adaptacją drożdży *Monilia murmanica* do rozwoju na wodnym hydrolizacie bukowym nie zauważono dużego wpływu obniżenia lub nawet podwyższenia temperatury na wydajność. Przy prowadzeniu hodowli drożdży na skalę techniczną zwiększy się ilość wydzielanego ciepła i nawietrzające powietrze prawdopodobnie nie wystarczy do ochłodzenia fermentującego podłoża, powstanie dodatkowy problem chłodzenia.

Przy prowadzeniu fermentacji drożdży wypracowaną i opisaną metodą, zużycie SR obecnych w hydrolizacie wynosi przeciętnie 72 % /tabl.2/. Można więc założyć, że wszystkie cukry proste zostały wykorzystane do budowy biomasy, a w odpadzie po fermentacji pozostały inne związki, mające zdolność redukcji płynu Felinga, jak kwasy uronowe, furfuroł, oksymetylofurfuroł, dekstryny, związki pochodzenia humusowego i ligninowego [44]. Otrzymano bardzo wysoką wydajność drożdży wynoszącą około 16 g suchej masy z 1 litra surowego hydrolizatu, co w przeliczeniu na wszystkie SR w podłożu wynosi 48 %. Według danych innych autorów wydajność w granicach 32 % uważana jest za bardzo dobrą [28, 56], rzadziej spotyka się uzyskiwanie wyższych wydajności. Plan drożdży przeliczony na ilość wykorzystanych SR wynosi około 16 g, co wskazuje na duże wykorzystanie do budowy biomasy kwasy

ganicznych obecnych w hydrolizacie [17,86].

II. Wykorzystanie dehydrolizatu bukowego do produkcji drożdży paszowych

Hydrolizat bukowy, odpad fabryki celulozy w Świeciu, tak jak wszystkie hydrolizaty z drewna liściastego jest bogaty w węglowodany pięciowęglowe, głównie w ksylozę i w niewielkiej ilości w arabinozę. Węglowodany te mogą być surowcem do produkcji furfurołu. Poza próbami wykorzystania wodnego hydrolizatu bukowego do produkcji drożdży paszowych, prowadzono równoległe próby wykorzystania go do produkcji furfurołu. Opracowano laboratoryjną metodę otrzymywania furfurołu z hydrolizatu bukowego [38]. Metoda ta polega na podgrzewaniu hydrolizatu w autoklawie do temperatury 180°C przez około 90 minut. W tych warunkach zachodzi dehydratacja cukrów pięciowęglowych do furfurołu, który odparowuje się z parą wodną przez okres 60 minut, otwierając zawór autoklawu, przy zachowaniu stałej temperatury 180°C . Po odebraniu około 500 cm^3 kondensatu /z autoklawu o pojemności 1600 cm^3 / przerywa się podgrzewanie i odbiera się drugą porcję kondensatu przez 30 minut /około 250 cm^3 . Furfurol powstały z ksylozy i arabinozy w opisanym procesie autoklawowania przechodzi do odebranych kondensatów. Pozostałość w autoklawie, po odparowaniu furfurołu, nazwano dehydrolizatem. Odpad ten zawiera jeszcze małe ilości furfurołu, zawartość SR w porównaniu z wyjściowym hydrolizatem bukowym spada z około 3 % do około 1 %, a zawartość kwasów, w przeliczeniu na kwas octowy, wzrasta z 2 do 3 %.

Furfurol jest bardzo cennym produktem i ma ogromne zastosowanie w technice. Duże ilości furfurołu zużywa przemysł petrochemiczny do selektywnego rozpuszczania olejów mineralnych. Furfurol ma zastosowanie w produkcji farb i lakierów, w produkcji włókien sztucznych, takich jak: nylon i sztuczna skóra oraz w przemyśle farmaceutycznym.

Jeżeli opracowany sposób produkowania furfurołu z wodnego hydrolizatu bukowego zostanie wprowadzony na skalę techniczną, powstaną duże ilości dehydrolizatu, wtórnego odpadu. Dehydrolizat jest uboższy w substancje redukujące /SR/ ale bogatszy w kwasy organiczne, które również mogą być wykorzystane do produkcji drożdży. Podjęto próby adaptacji posiadanej rasy drożdży *Monilia murmanica* Bf do rozmnażania się i produkowania biomasy na brzezce przygotowanej z dehydrolizatu bukowego.

1. Materiał i metody

W tabelicy 1 podano skład hydrolizatu bukowego odpadu fabryki celulozy i papieru w Świeciu nad Wisłą oraz dehydrolizatu bukowego, pozostałości po procesie otrzymywania furfurołu na skalę laboratoryjną.

Tablica 1

| Skład | substancje redukujące SR w % | kwasy organ. w przel. na kw.octowy w % | sucha masa w % |
|---------------------|---------------------------------|---|-------------------|
| hydrolizat bukowy | 3,0 ± 0,5 | 1,8 ± 0,2 | 4,1 ± 0,5 |
| dehydrolizat bukowy | 1,1 ± 0,1 | 2,9 ± 0,2 | 3,5 ± 0,5 |

Proces rozmnażania drożdży *Monilia murmanica* Bf rozpoczęto na brzezce przygotowanej z wodnego hydrolizatu drewna bukowego z fabryki celulozy i papieru koło Świecia nad Wisłą. Zamieniając stopniowo hydrolizat dehydrolizatem po 25-ciu dniach otrzymano całkowite zaadaptowanie drożdży *Monilia murmanica* Bf do rozmnażania się na brzezce z dehydrolizatów.

Proces fermentacji prowadzono analogicznie jak we wstępnym etapie adaptacji drożdży *Monilia murmanica* Bf do hydrolizatu bukowego. Dehydrolizat do fermentacji wzbogacano stał w sole amonowe i fosforowe oraz rozcieńczano wodą wodociągową w stosunku 1:1. Dalsze zmniejszanie ilości wody wodociągowej stosowanej do rozcieńczania dehydrolizatu prowadziło do hamowania fermentacji, pojawiały się komórki drożdżowe martwe i zmniejszała się wydajność drożdży. Uznano, że rozcieńczenie dehydrolizatu wodą wodociągową w stosunku 1:1 jest rozcieńczeniem krańcowym i na takich brzeczkach prowadzono fermentację.

2. Wyniki i ich omówienie

Ilościowe oznaczenia przyrostu biomasy drożdży w procesie fermentacji, wykonywano przez okres dwóch miesięcy. Średnie z uzyskanych wyników zestawiono w tabelicy 2.

Tablica 2

| plon suchej masy drożdży po fermentacji w g/l | pH brzeczki | | czas fermentacji w godzinach |
|---|-------------------|----------------|------------------------------|
| | przed fermentacją | po fermentacji | |
| 4,0 ± 0,6 | 5,5 ± 0,1 | 7,4 ± 0,4 | 7 - 10 |

Przyrost suchej masy drożdży w procesie fermentacji wynosi średnio 4 g na litr brzeczki, a więc z litra dehydrolizatu można otrzymać 8 g suchej masy drożdży czyli około 4 g czystego białka.

Drożdże rozwijały się na brzeczkach z prehydrolizatu dobrze przyswajając głównie kwasy organiczne oraz niewielkie ilości cukrów, które występują w dehydrolizacie. Hodowla drożdży na dehydrolizacie jest korzystna, ponieważ daje możliwości uprzed-

niego wykorzystania hydrolizatu do produkcji furfuruolu bardzo poszukiwanego w przemyśle.

III. Wykorzystanie ligniny powanilinowej do produkcji drożdży paszowych

W Polsce podczas produkcji waniliny otrzymuje się ligninę powanilinową, której w procesie produkcyjnym powstaje około tysiąca ton rocznie [31]. Produkt ten w zasadzie nie jest wykorzystywany. Próby produkowania z niego garbników [30, 33, 34] nie dawały zadowalających wyników. Lignina powanilinowa, której ilość ma jeszcze wzrosnąć w związku z planowaną wyższą produkcją waniliny, może być wykorzystana po odpowiedniej przeróbce do produkcji nawozu azotowego oraz hodowli drożdży.

Prace nad utylizacją ligniny prowadził Czudakow [15]. Opracował on metodę utleniającą destrukcji ligniny w roztworze alkalicznym w określonych warunkach temperatury i ciśnienia, otrzymując z organicznego związku ligniny 75-80 % kwasów organicznych lotnych i nielotnych. Osiągał wydajność kwasów organicznych w przeliczeniu na kwas octowy 20-25 % w stosunku do ligniny. Prowadzono już hodowlę drożdży na podłożu zawierającym obok cukrów również kwasy organiczne i otrzymywano plon drożdży dużo wyższy niż to wynikało z obliczeń w stosunku do przyswojonego cukru. Dokładniejsze badania wykazały, że drożdże przetwarzają na budowę biomasy kwasy organiczne lotne i nielotne [45]. Wcześniejsze porównania zdolności przyswajania różnych kwasów organicznych u kilku ras drożdży sugerowały, że kwas octowy jest najlepszym źródłem węgla do produkcji biomasy [65]. Również dobrą wydajność biomasy dają takie kwasy jak: bursztynowy, fumarowy, pirogronowy, lewulinowy i jabłkowy. Najniższą wydajność otrzymano z kwasu mrówkowego, a kwas szczawiowy okazał się całkiem nieprzyswajalny. Wyniki tego doświadczenia wykazują, że każdy kwas wchodzący w skład cyklu Krebsa może być również pobierany przez drożdże z podłoża. Wykorzystywanie kwasów

lotnych według Kozłowskiej i Malanowskiej [45] wynosi 100 %. Mieszanki kwasów są przyswajalne lepiej niż każdy kwas oddzielnie. Podczas hodowli drożdży w środowisku z kwasami organicznymi w charakterze jedyne go źródła węgla, okres fermentacji trwa dłużej i mniej intensywnie [8]. Skład chemiczny drożdży hodowanych na czystych cukrach, oraz wykorzystujących różne kwasy organiczne jest według wcześniejszych danych taki sam [65,91].

Fermentację kwasów organicznych rozpracował Czudakow i in. [14], prowadził destrukcję hydrolizowanej ligniny w środowisku amoniakalnym w temperaturze 180-220°C, w czasie 4-6 godzin, przy hydromodule 1:15, uzyskując mieszaninę kwasów organicznych takich jak octowy, jabłkowy, maleinowy, szozawiowy, bursztynowy i inne. Wszystkie te kwasy oprócz szozawinowego mogą służyć jako pożywka dla drożdży [74]. Biosynteza białka przez niektóre gatunki drożdży może zachodzić w nieobecności monocukrów, gdy jedynym źródłem węgla do budowy biomasy będą kwasy organiczne.

Celem pracy było zaadaptowanie drożdży *Monilia murmanica* Bf do życia i rozmnażania się na surowcu pozbawionym cukrów a zawierającym kwasy organiczne, otrzymane w drodze destrukcji ligniny powanilinowej, którą przeprowadzono w środowisku tlenowo amoniakalnym.

1. Materiał i metody

Utleniającą destrukcję ligniny powanilinowej przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych. Środkiem utleniającym było powietrze. Stosowano temperatury 200°C, ciśnienie 42 atmosfery, czas ogrzewania 5 godzin, moduł cieczy 1:15, to jest jedna część ligniny na piętnaście części wody amoniakalnej o stężeniu 1,5 % [38]. Otrzymane produkty destrukcji ligniny rozdzielono na lejku Büchnera i fazę olejką poddano przerobowi na drożdże paszowe.

Próby bezpośredniej hodowli drożdży *Monilia murmanica* Bf na brzezce przygotowanej z produktu destrukcji ligniny przeprowadzone w sposób dotychczas stosowany nie dały pozytywnych rezul-

tatów. Drożdże nie rozmnażały się i ginęły. Rozpoczęto powolną adaptację drożdży *Monilia murmanica* Bf do nowego surowca, przygotowując do fermentacji brzezki wodnego hydrolizatu bukowego pochodzącego z fabryki w Świeciu. Stopniowo zmniejszano ilość hydrolizatu bukowego w brzezce a **zwiększano** ilość produktu destrukcji ligniny. Po 30 dniach zaczęto dodawać tylko nowy surowiec wzbogacony w sole fosforowe i zakwaszony kwasem siarkowym do pH 5,5. Drożdże żyły i rozmnażały się, co stwierdzono stosując badania mikroskopowe. Przystawanie kwasów określono na podstawie pH dodawanej brzezki, które z 5,5 wzrastało po fermentacji do około 7,7.

2. Omówienie wyników

Przyrost biomasy w czasie 8-mio godzinnej fermentacji oznaczano wagowo. Plon drożdży uzyskany w procesie fermentacji wynosił średnio 4 g s.m. drożdży na litr brzezki. Drożdże *Monilia murmanica* Bf przystosowały się łatwo do nowego środowiska i produkowały biomasę na zupełnie bezcukrowym podłożu. Utylizacja powanilinowej ligniny do hodowli drożdży jest ogromnym sukcesem, ponieważ duże ilości kłopotliwego odpadu fabrycznego po przeprowadzeniu amoniakalnej destrukcji mogłyby być zużytkowane na paszę zaś stała pozostałość na nawóz.

III. Wykorzystanie słomy rzepakowej do produkcji drożdży paszowych

Stale wzrastające w kraju zapotrzebowanie na pasze może być rozwiązane między innymi drogą hydrolizy produktów odpadowych rolniczych. Poprzez rozkład surowców posiadających polisacharydy można otrzymać monocukry, które już są bardzo dobrym źródłem węgla dla drożdży i innych mikroorganizmów. Do chwili obecnej w Polsce nie produkuje się hydrolizatów i nie prowadzi zdrożdżowania jakichkolwiek odpadów rolniczych. Ciągłe jeszcze podstawowym surowcem, z którego nadal w kraju produkuje się drożdże je-

melasa. Surowiec ten będący odpadem cukrowni, daje się łatwo fermentować i nie wymaga żadnego uprzedniego uzdatniania. Jednakże ze względu na ograniczoną ilość melasy i jej stosunkowo wysoką cenę, coraz częściej /przede wszystkim za granicą/ poszukuje się innych tańszych surowców, z których można w drodze biosyntezy wyprodukować białko, tak bardzo potrzebne dla celów hodowli zwierząt i drobiu. Różne odpady pochodzenia roślinnego stanowią cenny surowiec do produkcji białka w drodze fermentacji drożdżowej. Takimi surowcami, które zostały wykorzystane do produkcji drożdży za granicą są: kolby kukurydziane, sitowie, łuski słonecznikowe i ryżowe [6,69,21], łuski nasion bawełny [21, 26], słoma pszenna [26], drewno bukowe [65], odpady drewna, brociny [42], trzcina cukrowa [13], paździerz konopne [69], torf [40] i wiele innych odpadów roślinnych, bogatych w wielocukry.

Nie pazerabiano jeszcze na drożdże słomy rzepakowej. Jest ona odpadem rolniczym, który w zasadzie nie nadaje się na paszę [60] i na ściózkę. Ilość jej w kraju, po sezonowym omłocie rzepaku wynosi, według wyliczenia na podstawie planu rzepaku w 1969 roku, około 600 tysięcy ton [69]. Wykorzystanie tej słomy do produkcji drożdży byłoby najracjonalniejszym jej zużycowaniem.

Drożdże bezpośrednio nie przyswajają wielocukrów będących głównymi składnikami roślin. Dlatego też celuloza, hemiceluloza, skrobia, inulina itp. wielocukry roślinne muszą być uprzednio rozłożone na cukry proste i w tej formie stanowią pożywkę dla drożdży. W celu otrzymania monocukrów materiały pochodzenia roślinnego poddawane są procesowi hydrolizy. Hydrolizę przeprowadza się kwasem siarkowym, kwasem solnym, fluorowodorem lub wodą. Po przeprowadzeniu hydrolizy kwasem siarkowym najlepsze wyniki osiągnano stosując stężenie kwasu od 0,4 do 7 %, temperaturę hydrolizy od 100 do 180°C i czas hydrolizy od 10 minut do 8-miu godzin [13,40,21]. Dobre wyniki osiągnano również stosując do hydrolizy wielocukrów kwas solny [48,49], fluorowódor gazowy i

chlorowódor gazowy [42]. Woda w podwyższonej temperaturze nasyca się kwasami organicznymi /zawartymi w materiale roślinnym/, które ułatwiają hydrolizę wielocukrów do cukrów prostych.

Hydrolizując materiał roślinny, z wielocukrów otrzymano cukry proste, które drożdże w procesie fermentacji wykorzystywały jako źródło węgla [19,21,43,70]. Ze słomy otrzymano 29,5 % substancji redukujących /SR/ [26], z kolb kukurydzianych 33,3 % SR [6], z drewna bukowego 44 % SR [19], z trocin z drewna bukowego 58 % [65], z mieszaniny łuski słonecznikowej i kolb kukurydzianych 60,9 % SR. Hydrolizując odpady przemysłu celulozowego i sitowia 0,5 % H_2SO_4 w temperaturze 156-192°C otrzymano hydrolizaty o zawartości 2,8-3,6 % cukrów nadających się do fermentacji drożdżowej [21]. Hydrolizaty po doprowadzeniu pH do 5,2-5,4 i dodaniu pożywek można zdrożdżowywać. Z jednej tony surowca otrzymano następujące ilości drożdży: z kolb kukurydzianych 250 kg, z łupin słonecznikowych 125 kg, z odpadów bawełnianych 325 kg, z trzciny 240 kg, z odpadów drzewnych 235 kg.

Wieloletnia praca nad produkowaniem drożdży paszowych z wodnych hydrolizatów bukowych przy zastosowaniu szczepu *Monilia murmanica* pozwoliła wyhodować szczep *Monilia murmanica* Bf, odporny na duże stężenie furfurołu i inne związki toksyczne [83]. Szczep ten, podobnie jak wyodrębniony przez E. Flewako [60] *Mycotorula Monilia murmanica*, charakteryzuje się dobrą przyswajalnością cukrów pięciowęglowych, przede wszystkim ksylozy, w którą są szczególnie bogate hydrolizaty drzewne i odpadki produktów rolniczych. Drożdże *Monilia murmanica* Bf wykorzystują do budowy biomasy również kwasy organiczne obecne w hydrolizatach roślin oraz syntetyzują z prostych związków wszystkie niezbędne dla własnego rozwoju witaminy.

Celem pracy było produkowanie drożdży paszowych ze słomy rzepakowej, po uprzednim jej uzdatnieniu drogą hydrolizy kwasowej.

1. Materiał i metody

Badania prowadzono na słomie rzepakowej pochodzącej ze zbiorów 1970 roku. Dla przygotowania materiału wyjściowego do hydrolizy, słomę rzepakową mielono w młynku bijakowym i 100 g tej mączki zawieszono w 900 ml rozcieńczonego kwasu siarkowego lub solnego, wprowadzano do autoklawu i poddawano procesowi hydrolizy jedno, trój i czterostopniowej.

Łącznie wykonano 25 prób hydrolizowania słomy rzepakowej, zmieniając każdorazowo jeden z parametrów: temperaturę hydrolizy, stężenie kwasu lub czas trwania hydrolizy. Proces hydrolizy prowadzono w czasie od 10 do 120 minut, w temperaturze od 30 do 190°C i przy stężeniu 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % i 2,0 % kwasu siarkowego lub solnego. Stopień hydrolizy oceniano na podstawie ilości uzyskanych SR /wyrażonych jako glukoza/. Otrzymany hydrolicyzat sączono przez sito, rozcieńczano wodą wodociągową w stosunku 1:1 i zobojętniano roztworem wody amoniakalnej do pH 5.

Przed rozpoczęciem fermentacji dodawano pożywki mineralne /siarczan amonu i wyciąg superfosfatu/, następnie sączono lub wiorowano. Do klarownej brzezki dodawano drożdże *Monilia murmanica* Bf, odwirowane i przemyte, w ilości 50 % w stosunku do SR. Fermentację drożdżową przeprowadzano w płuczkach litrowych z dnem porowatym stosując system dolewowy. Dno porowate spełniało rolę dyspergatora wprowadzanego powietrza. Zestaw do fermentacji umieszczano w ciepłarni z płaszczem wodnym, utrzymującej stałą temperaturę 30 ± 1°C. Do napowietrzania używano sprężarkę KP₂. Okres fermentacji wynosił 8 godzin. Plon drożdży oznaczano metodą wagową susząc odsączone i przemyte drożdże w temperaturze 105°C 68. SR oznaczano metodą Layne Eynona, kwasy lotne metodą destylacji z parą wodną, furfuroł metodą bromianową [29].

2. Omówienie wyników

Wyniki hydrolizy słomy rzepakowej i procesu fermentacji zestawiono w tablicy 1. Ilość substancji redukujących uzyskana w procesie hydrolizy ze 100 g mączki rzepakowej wahała się od 10 do 26 g. Stosując 0,5 % stężenie H_2SO_4 otrzymywano 10 % SR. Zwiększając stężenie kwasu siarkowego do 1 % uzyskano 15 % SR. Zwiększenie stężenia H_2SO_4 do 2 % dało 18 % SR. Jak widać ostatnie zwiększenie o 100 % stężenia kwasu, tylko w niewielkim stopniu wpłynęło na wzrost wydajności SR. Również zwiększenie czasu hydrolizy minimalnie wpłynęło na ilość uzyskiwanych substancji redukujących. Hydroliza trój i czterostopniowa, polegająca na trój lub czterokrotnym kolejnym hydrolizowaniu odsączonej masy z mączki rzepakowej kwasem siarkowym o wzrastającym stężeniu od 0,5 do 2 %, dała stosunkowo niewielkąwyżkę SR w porównaniu z jednostopniową. Dokonując hydrolizy kwasem solnym najlepsze wyniki osiągnano przy zastosowaniu 1 % HCl, temperatury $150^{\circ}C$ i czasu hydrolizy 120 min. Jednakże ilość biomasy wyprodukowana przez drożdże *Monilia murmanica* Bf w stosunku do SR osiągała tylko 30,6 %. Hydrolizując kwasem solnym w temperaturze $140^{\circ}C$ przez 90 minut osiągnano mniej SR, ale były one lepiej przyswajalne przez drożdże bo w 47,6 %. Hydrolizując tym samym kwasem w temperaturze $160^{\circ}C$ przez 120 minut i w $130^{\circ}C$ przez 90 minut, otrzymano zdecydowanie gorsze wyniki - mniej SR jak również i biomasy drożdży.

Wydajność drożdży osiągnana w procesie fermentacji jest wysoka i najczęściej przekracza 50 % w stosunku do SR zawartych w podłożu fermentacyjnym. Dzięki zastosowaniu drożdży *Monilia murmanica* Bf charakteryzujących się zdolnością produkowania biomasy w obecności furfurołu, osiągnięto tak wysoki wskaźnik wydajności.

Hydrolizaty otrzymane ze słomy rzepakowej zawierały od 0,30 % do 0,64 % furfurołu i były poddawane procesowi fermenta-

cji bez zabiegu odpędzania go z parą wodną. Dzięki temu zawierały one organiczne kwasy lotne w ilości od 0,30 do 0,64 %, w przeliczeniu na kwas octowy, z których drożdże również produkowały biomasę. Hydrolizę prowadzono metodą statyczną. Uzyskane ilości SR ze 100 g słomy rzepakowej nie przekraczały 26 %. Ilości SR uzyskiwane przez innych autorów z różnych surowców roślinnych wahały się od 29,5 % [26] do 60,9 % [6]. Przyczyną tak małej ilości rozkładu wielocukrów roślin do cukrów prostych było prawdopodobnie stosowanie niedoskonałych warunków hydrolizy. Większość autorów nie precyzuje dokładnie sposobów hydrolizy ograniczając się do podawania stężenia stosowanego kwasu [6,40], temperatury hydrolizy [26] względnie ilości otrzymanych SR [40] lub wydajności drożdży [40]. Jedynie Bielenkij [6], Fischer [21], Sawinyh [71], podają, że hydrolizę surowców roślinnych prowadzili w specjalnych aparatach perkolacyjnych osiągając ponad 40 % SR. Niskie ilości substancji redukujących uzyskiwane w procesie hydrolizy, wpłynęły z kolei na zaniżoną wydajność drożdży w przeliczeniu na 100 g słomy rzepakowej. Najwyższa ilość s.m. drożdży wyprodukowana ze 100 g słomy rzepakowej wynosiła 10,36g. Ilość ta jest dużo niższa od ilości, które otrzymywał Fischer [21] zdrożdżywując hydrolizaty łuski słonecznikowej, łuski bawełnianej i trocin. Ze 100 g łuski słonecznikowej otrzymywał 17,5 g drożdży, ze 100 g łuski bawełnianej 23,5 g s.m. drożdży, ze 100 g trocin 24 g s.m. drożdży. Wydaje się, że zwiększenie wydajności SR w procesie hydrolizy byłoby możliwe tylko przy zastosowaniu aparatu perkolacyjnego.

Natomiast produkcja biomasy na hydrolizatach ze słomy rzepakowej przebiegała prawidłowo. Otrzymano wysoką wydajność drożdży w przeliczeniu na substancje redukujące.

Tablica 1

Wydajność drożdży w zależności od zastosowanych parametrów
hydrolizy

| Stężenie kwasu w % | Temperatura °C | Czas hydrolizy w min. | Ilość SR ze 100 g s.m. słoju | Ilość s.m. drożdży w/g na 100 g s.m. słoju | Wydajność drożdży w przel. na ogól.zaw. SR |
|---|----------------|-----------------------|------------------------------|--|--|
| H ₂ SO ₄ 0,5 | 150 | 60 | 9,86 | 2,34 | 23,7 |
| | 160 | 60 | 10,20 | 4,09 | 40,0 |
| | 170 | 60 | 10,70 | 4,28 | 40,0 |
| H ₂ SO ₄ 1,0 | 160 | 120 | 19,45 | 8,38 | 43,0 |
| | 150 | 60 | 12,60 | 6,69 | 53,0 |
| | 160 | 60 | 14,00 | 6,94 | 49,5 |
| | 170 | 60 | 15,90 | 8,70 | 54,7 |
| | 180 | 60 | 14,67 | 7,75 | 52,7 |
| | 190 | 10 | 15,75 | 9,72 | 61,7 |
| H ₂ SO ₄ 2,0 | 130 | 120 | 21,27 | 10,02 | 47,1 |
| | 140 | 120 | 19,27 | 10,36 | 53,7 |
| | 150 | 60 | 17,30 | 6,30 | 34,8 |
| | 160 | 60 | 16,96 | 7,09 | 41,8 |
| | 170 | 60 | 18,32 | 7,11 | 38,7 |
| H ₂ SO ₄ 0,5 1,0 2,0 | 160 | 120 | 22,17 | 10,85 | 48,9 x/ |
| | 160 | 120 | | | |
| | 160 | 120 | | | |
| H ₂ SO ₄ 0,5 1,0 1,5 2,0 | 140 | 60 | 26,0 | 13,58 | 52,0 xx/ |
| | 140 | 60 | | | |
| | 140 | 60 | | | |
| | 140 | 60 | | | |
| HCl 1,0 | 160 | 120 | 18,40 | 2,55 | 13,8 |
| | 150 | 120 | 24,30 | 7,44 | 30,6 |
| | 140 | 90 | 21,30 | 10,14 | 47,6 |
| | 130 | 90 | 22,43 | 3,6 | 16,0 |

x/ hydroliza trójstopniowa, xx/ hydroliza czterostopniowa

V. Ocena wyprodukowanych drożdży pod względem składu aminokwasowego i witamin grupy B

Skład chemiczny drożdży oraz ich właściwości fizjologiczne zmieniają się w zależności od surowca z którego są produkowane, od warunków hodowli i rasy lub szczepu drożdży [22]. Jeżeli drożdże mają niezbędne źródło węgla jako pożywkę, rozmnażają się i produkują biomasę bogatą w białko. Prawie połowę masy drożdży stanowi ten najcenniejszy składnik paszowy. Białko jest więc głównym składnikiem drożdży i dlatego są one stosowane w żywieniu zwierząt jako czynnik wzbogacający w białko pasze objętościowe.

Wartość odżywczą paszy stanowi nie tylko zawartość białka, ale także jego skład aminokwasowy. Obecność i ilość aminokwasów egzogennych to jest takich których organizm zwierzęcy nie potrafi sam syntetyzować, decyduje o wartości biologicznej białka .

Na wartość żywieniową paszy wpływają również witaminy. Drożdże zawierają cały kompleks witamin z grupy A, witaminę PP /kwas nikotynowy/ kwas pantotenowy, witaminę H, witaminę i prowitaminę D, a często i inne.

Drożdże wyhodowane uprzednio na wodnym hydrolizacie bukowym spreparowanym w laboratorium /hydrolizat laboratoryjny, HL / były już oceniane pod względem zawartości białka i jego składu aminokwasowego [84] oraz poziomu witaminy i prowitaminy D [85]. Wodny hydrolizat bukowy pochodzący z fabryki /hydrolizat fabryczny, HF/ różnił się jednak znacznie od laboratoryjnego, głównie pod względem zawartości substancji toksycznych, które utrudniały hodowlę drożdży *Monilia murmanica* Bf [89].

Drożdże wyhodowane na wodnym hydrolizacie bukowym z fabryki w Świeciu, na dehydrolizacie i na roztworze z destrukcji ligniny, poddano ocenie pod względem zawartości aminokwasów. W próbkach z tych drożdży oznaczono suchą masę, zawartość białka surowego i skład aminokwasowy.

Dodatkowo w drożdżach wyhodowanych na hydrolizacie bukowym z fabryki w Świeciu oznaczono kilka witamin z grupy B. Wiadomo bowiem, że witaminy z grupy B, poza wartością odżywczą białka [9] i zawartością witaminy D decydują o wartości odżywczej drożdży, zwłaszcza przy żywieniu cieląt, prosiąt i drobiu [16, 78].

1. Materiał i metody

Drożdże *Monilia murmanica* Bf wyhodowane na wodnym hydrolizacie bukowym, pobranym z fabryki celulozy w Przechowie koło Świecia oraz na dehydrolizacie i roztworze z destrukcją ligniny, odwirowano i przemywano kilkakrotnie wodą "do zaniku brunatnej barwy popłuczyn". Otrzymaną gęstwą wysuszono w 40°C, rozdrobiono w moździerzu i przechowywano w zamkniętych słojach.

Suchą masę drożdży oznaczano przez wysuszenie w 105°C /Polska Norma 58-A-79005/. Białko surowe metodą Kjeldahla [64]. Skład aminokwasowy oznaczano metodą Steina i Moora, przy zastosowaniu automatycznego analizatora firmy Bender i Hobein. Z przygotowanych prób drożdży odważono na wadze analitycznej, w ilości 0,2 g z dokładnością do 0,0001 g i umieszczono w kolbie okrągłodennej litrowej. Odważki poddano dwudziestoczwierogodzinnej hydrolizie kwasowej w 6 n HCl /przy zachowaniu stosunku białka do kwasu 1:4500/ pod powietrzną chłodnicą zwrotną, na łaźni olejowej, w temperaturze 120°C [63].

Otrzymany hydrolizat przenoszono ilościowo do kolby litrowej okrągłodennej i odparowywano pod próżnią w temperaturze 40°C do całkowitego usunięcia kwasu solnego, stosując trzykrotne przemywanie wodą destylowaną po każdym odparowaniu do suchości. Pozostały osad rozpuszczano w buforze cytrynianowym o pH 2,2 przenoszono ilościowo do kolbki miarowej na 100 ml, dopełniano do kreski buforem o pH 2,2 i sączono przez tygiel G₄. Tak przygotowane roztwory służyły do oznaczania aminokwasów. Aminokwas oznaczano na analizatorze firmy Bender i Hobein. Automatyczny

analizator firmy Bender i Hobein składa się z następujących podzespołów: 1/ czterech pomp - trzy służą do pompowania buforów, jedna zaciemniona do roztworów ninhydryny 2/ mechanizmów zegarowych dokonywujących zmiany buforów eluujących aminokwasy z kolumny, wyłączających kolejno dopływ roztworów ninhydryny i buforu oraz wyłączających aparat po skończonej pracy, 3/ statywu z kolumnami do rozdziału aminokwasów i łaźnią reakcyjną, w której na gorąco zachodzi barwna reakcja aminokwasów z ninhydryną, 4/ integratu kreślącego piki aminokwasów połączonego z urządzeniem do pomiaru ekstynkcji, 5/ ultratermostatu utrzymującego stałą temperaturę w płaszczach wodnych kolumn. Wszystkie kolumny wypełnione są amberlitem JR-120, AS 35-45 μ .

Rozdzielanie aminokwasów kwaśnych i objętnych dokonuje się na kolumnie długiej - /1150 mm, ϕ 9 mm/, stosując kolejno bufor - początkowo o pH 3,1, a po wydzieleniu proliny o pH 5,1. Zmiana buforów następuje automatycznie, dzięki działaniu mechanizmu zegarowego. Bufory są podawane na kolumnę pompami ze ściśle określoną szybkością: 30 albo 60 ml/godzinę. Roztwór ninhydryny jest kierowany do naczynia reakcyjnego, zawsze z szybkością o połowę mniejszą. Wypływający z kolumny eluat zawierający aminokwasy, miesza się z roztworem ninhydryny w naczyniu o kształcie rurki trójdrożnej. Mieszanina ta przepływa dalej zwojem rurki kapilarnej pokrytej teflonem, umieszczonej w łaźni reakcyjnej. Przepływ cieczy przez spiralę rurki kapilarnej trwa 15 minut. Jest to optymalny czas wywołania reakcji między aminokwasami a ninhydryną, niezbędny do uzyskania stałej barwy, której intensywność jest proporcjonalna do zawartości aminokwasów w próbce.

Bufory przed kolumną są cały czas mieszane mieszadłem elektromagnetycznym w naczyniu o objętości 150 ml, dlatego zmiana pH mieszaniny buforów od 3,1 do 5,1 odbywa się stopniowo. Czas pełnego rozdziału aminokwasów kwaśnych i objętnych wynosi 12 godzin.

Rozdziałów aminokwasów zasadowych dokonuje się na kolumnie krótkiej /500mm ϕ 6mm/, stosując bufor o pH 5,28, bez użycia mieszadła. Czas pełnej analizy wynosi 5 godzin.

Po skończonym rozdziale i automatycznym zarejestrowaniu wszystkich przepływających aminokwasów, pompa podająca roztwór ninhydryny wyłącza się automatycznie, natomiast pompa pompująca bufor wyłącza się w godzinę później. Jest to konieczne, aby wszystkie przewody zostały wymyte z roztworu ninhydryny.

Zasada obliczania aminokwasów w analizowanych hydrolizatach polega na porównaniu powierzchni szczytów otrzymanych przy oznaczaniu aminokwasów w badanej próbce z powierzchniami szczytów uzyskanych przy analizie mieszaniny wzorcowej aminokwasów /dostarczonej przez firmę Bender i Hobein/ przy użyciu odczynnika ninhydrynowego przygotowanego w tej samej porcji.

Witaminy z grupy B oznaczano metodami mikrobiologicznymi [57], stosując następujące szczepy: dla witaminy B₁ *Lactobacillus casei* CCM 1825 /ATCC 7469/, dla witaminy B₂ - *Lactobacillus fermenti* CCM /ATCC 9338/, dla witaminy B₃ i B₇ - *Lactobacillus plantarum /arabinosus/*. Wymienione szczepy otrzymano z Kolekcji Drobnoustrojów w Brnie /Czechoslovak Collection of Microorganism/. Kultury macierzyste utrzymywano w hodowlach kłutych na agarowej pożywce standardowej "Difco" /bacto Micro Assay Cultur Agar/.

Dla uwolnienia witaminy B₁ z drożdży stosowano hydrolizę enzymatyczną /trypsynę i takadiastazę/ w obecności kwasu siarkowego, w temperaturze 37°C, przez 48 godzin. Pozostałe witaminy uwalniano za pomocą hydrolizy kwaśnej /kwasem siarkowym lub solnym w warunkach podwyższonego ciśnienia i temperatury/. W przypadku witaminy B₁ /tiaminy/ wzrost bakterii oznaczano turbidymetrycznie przy długości fali 560m μ , na fotokolorymetrze typu Spekol. Za próbę kontrolną przyjęto roztwór w próbce kontrolnej. Przy oznaczaniu ryboflawiny /witamina B₂/, niacyny /witamina B₃ lub PP/ i biotyny /witamina B₇ lub H/, wzrost

bakterii oznaczano na podstawie wytworzonego kwasu mlekowego, którego ilość określano przez miareczkowanie 0,1 n wodorotlenkiem sodu wobec błękitu bromotymolowego. Zawartość witaminy w mg odczytywano z krzywych wzorcowych, wykonanych przy użyciu roztworów standardowych, przygotowanych z czystych witamin i przeliczano na 100 g suchej masy drożdży.

Oznaczenia poszczególnych witamin wykonano w dwóch seriach, w pięciu różnych stężeniach hydrolizatu drożdży, każdy w dwóch powtórzeniach. Dla wyeliminowania wyników obciążonych dużym błędem posłużono się matematyczną analizą zmienności na dwa kryteria /serie i powtórzenia/. Średni poziom witaminy obliczono z wszystkich wyników, po odrzuceniu jednego dla witaminy B₂, przy największym stężeniu hydrolizatu [59]. Ponadto dla każdej średniej obliczono półprzedziały ufności, przy $p < 0,05$ i przy $p < 0,01$, czyli możliwości 5 % i 1 % popełnienia błędu. Obliczenia statystyczne wykonano według Eland [20].

2. Omówienie wyników

W tabelicy 1 przedstawiono suche masy badanych drożdży oraz zawartość białka surowego

Tablica 1

Zawartość białka i s.m. w badanych drożdżach

| drożdże <i>Monilia murmanica</i> Bf | | | | | |
|-------------------------------------|-------------------|---|-------------------------|-------------------|---|
| zawartość białka surowego w % | | | sucha masa w % | | |
| hydrolizat fabryczny | dehydroli- zat | roztwór z destruk- cji lig- niny | hydrolizat fabryczny | dehydroli- zat | roztwór z des- trukcji ligniny |
| 44,2 | 43,8 | 42,6 | 89,3 | 89,6 | 89,5 |

Sucha masa w badanych próbach drożdży wynosi średnio 98,6%, jest więc zbliżona do Polskiej Normy /90,0-91,5 %/. Zawartość białka surowego dla drożdży wyhodowanych na wodnym hydrolizacie bukowym z fabryki mieści się w granicach Polskiej Normy /44-48,0 %/, natomiast zawartość białka surowego w drożdżach wyhodowanych na prehydrolizacie i roztworze z destrukcji ligniny jest trochę niższa.

W tabelicy 2 przedstawiono wyniki otrzymane dla składu aminokwasowego białka drożdży *Monilia murmanica* Bf wyhodowanych na hydrolizacie bukowym, pochodzącym z fabryki celulozy i papieru koło Świecia nad Wisłą, na prehydrolizacie i na roztworze z destrukcji ligniny. W tej samej tabelicy dla porównania przytoczono skład aminokwasowy drożdży wyhodowanych uprzednio na laboratoryjnych hydrolizatach bukowych oraz zakres składu aminokwasowego dla wszystkich rodzajów drożdży paszowych produkowanych w Polsce [9]. Poziom aminokwasów w drożdżach *Monilia murmanica* Bf wyhodowanych na hydrolizacie fabrycznym, prehydrolizacie i roztworze z destrukcji ligniny jest, za wyjątkiem tyrozyny, nieco wyższy niż w drożdżach wyhodowanych uprzednio na hydrolizacie laboratoryjnym /tabl.2/. Również w porównaniu z wszystkimi drożdżami paszowymi wyprodukowanymi w Polsce, te badane nie są gorsze pod względem składu aminokwasowego od innego rodzaju drożdży, a nawet charakteryzują się najwyższym poziomem treoniny, metioniny, leucyny i izoleucyny. Szczególnie duże znaczenie ma wysoka zawartość metioniny, która łącznie z cysteiną /aminokwasy siarkowe/ decyduje, według Buraczewskiego [9] o wartości odżywczej białka drożdży.

Zawartość witamin z grupy B w badanych drożdżach, średnią ogólną z wszystkich oznaczeń /za wyjątkiem oznaczenia obciążonego dużym błędem/ oraz półprzedziały ufności przy $p < 0,5$ i $p < 0,01$ podano w tabelicy 3. W tabelicy tej dla porównania przedstawiono także zakres zawartości tych samych witamin w drożdżach paszowych według Prosińskiego [67].

Tablica 2

Skład aminokwasowy białka drożdży /g/16g N/

| Monilia murmanica Bf | | | | | Zakres dla 6-ciu szczepów /10 prób/ drożdży pastewnych produkowanych w Polsce |
|----------------------|----------------|-------------------|---|-------|---|
| Hydrolizat | | dehydroli- zat | roztwór z des- trukcji ligniny | | |
| | fabry- czny | | | | |
| Treonina | 6,11 | 4,38 | 6,01 | 6,06 | 3,80 - 5,27 |
| Cystyna | 0,89 | 0,85 | 0,86 | 0,84 | 0,63 - 1,16 |
| Walina | 4,46 | 4,34 | 5,80 | 6,76 | 3,86 - 5,62 |
| Metionina | 2,21 | 1,06 | 2,21 | 2,20 | 0,92 - 1,30 |
| Izoleucyna | 6,62 | 4,03 | 6,58 | 5,60 | 3,30 - 4,59 |
| Leucyna | 9,19 | 6,27 | 8,92 | 7,26 | 5,33 - 7,24 |
| Tyrozyna | 2,84 | 3,24 | 2,92 | 3,00 | 2,52 - 3,15 |
| Fenylalanina | 5,74 | 3,67 | 4,50 | 4,12 | 3,20 - 4,20 |
| Tryptofan | - | 0,61 | - | - | 0,80 - 1,18 |
| Lizyna ogólna | 6,66 | 6,28 | 7,05 | 7,22 | 4,57 - 7,37 |
| Histydyna | 2,38 | 1,70 | 2,42 | 2,18 | 1,35 - 2,78 |
| Arginina | 4,53 | 3,61 | 4,72 | 4,92 | 3,15 - 5,73 |
| Asparagina | 11,52 | 7,40 | 12,02 | 11,08 | - - |
| Seryna | 6,24 | 3,66 | 6,32 | 6,52 | - - |
| Glutamina | 11,04 | 9,08 | 10,98 | 10,65 | - - |
| Glicyna | 3,80 | 3,59 | 3,60 | 3,40 | - - |
| Alamina | 6,61 | 4,98 | 6,53 | 6,22 | - - |

Jak widać z tablicy 3 poziom witaminy B₁ /tiaminy/ jest w badanych drożdżach nieco poniżej cytowanego zakresu. Poziom witamin B₂ /ryboflawiny/ i B₃ /niacyny/ mieści się w granicach przedstawionego zakresu. Natomiast poziom witaminy B₇ /biotyny/ w badanych drożdżach jest znacznie wyższy od wszystkich znanych rodzajów drożdży paszowych [16]. Duża zawartość biotyny ma szczególne znaczenie w żywieniu. Biotyna bierze udział w metabolizmie węglowodanów, białek, tłuszczów i kwasów nukleinowych, a według najnowszych badań, w metabolizmie kwasu foliowego i witaminy B₁₂ [24].

Tablica 3

Zawartość witaminy z grupy B w suchej masie drożdży w mg %

| Witamina | \bar{x} | p < 0,05 | p < 0,01 | Wyniki cytowane |
|--|-----------|----------|----------|-----------------|
| Tiamina B ₁ | 0,361 | 0,051 | 0,073 | 0,56 - 1,8 |
| Ryboflawina B ₂ | 3,597 | 0,420 | 0,697 | 2,52 - 4,66 |
| Kwas nikotynowy B ₃ /niacyna/ | 6,539 | 0,926 | 1,318 | 2,12 - 10 |
| Biotyna B ₇ /witamina PP/ | 154,5 | 6,47 | 13,88 | 0,16 - 0,28 |

Długoletnia praca doprowadziła do wyhodowania szczepu drożdży *Monilia murmanica* Bf charakteryzującego się łatwym przystosowaniem do rozmnażania i produkowania biomasy na odpadach takich jak hydrolizat bukowy, prehydrolizat, roztwór z destrukcji ligniny i hydrolizat ze słomy rzepakowej. Na każdym z tych surowców, które nie mają żadnego zastosowania do celów spożywczych i paszowych wyprodukowano w skali laboratoryjnej drożdże charakteryzujące się bardzo dobrym składem aminokwasowym i bogatym asortymentem witamin, podobnie jak drożdże hodowane na mela

Literatura

1. Andrejewa Je.A., Szulgowskaja Je.M., Rabotnowa L.: Mikrobiologia, T.XXXIX /2/ :269, 1970.
2. Babjewa Z.P. Gabjewa N.D.: Mikrobiologia, XXXII, :1, 1963.
3. Bachman B., Kowalczyk A.: Przegląd Papierniczy, 18:305, 1962.
4. Baskiwniuk M.T., Kwasnikow I.: Mikrobiologia 37/5/:876, 1968.
5. Bednarski M., Jakubowski J., Poznański S., Surażyński A.: Przemysł Spoż., XXV /3/ : 102, 1971.
6. Diebenkij L.J., Pierkowa P.W., Artamonowa O.S.: Gidrolizn. i Lesochim. Prom. 7. s.4. 1969.
7. Boberko Z.A., Andrejew K.A., Siemuszyna G.I., Akudr W.D., Monackowa N.I.: Gidrolizn. i Lesochim. Prom., 5:1, 1970.
8. Borukajewa M.R.: Mikrobiologia, XXXVI. 4, 351, 1967.
9. Buraczewski S., Lubaszewska S., Pastuszevska B., Buraczewska L.: Roczn.Nauk.Rol. B-94-1, 111, 1972.
10. Champagnat A.: Techniques du Petrole, 1:17, 1963.
11. Chomin Z.: Przemysł Papierniczy, 1:4, 1963.
12. Chotiner H.: Oleagineux, 23 /3/ : 197, 1968.
13. Czałow N.W., Leszczuk A.J.: Izw. Wyssh. Uczebn. Zawiedienij. Liesn.z. 6. s.139, 1966.
14. Czudakow H.I., Antirowa A.W., Samsonowa A.P. Mekler N.A.: Patent Nr 299541, Biuletyn Izobretenij, 1971.
15. Czudakow M.I.: Promyslennoje ispolzowanije lignina. Lesnaja Promyslenność, Moskwa, 1972.
16. Diewiatin W.A.: Witaminy. Piszczepromizdat, Moskwa, 1948.

17. Dudkin M.S., Chait S.Z., Imszenickij Je.I.: Gidr. i Lesochim. Prom., 4:5, 1969.
18. Duszyn W.A., Biełkowa Je.A., Lihonos Je.F., Akura W.D. : Gidrolizn. i Lesochim. Prom. 6:21, 1970.
19. Eickemeyer R., Hennecke H.: Holz-zbl. 63:86, 1347, 1967.
20. Eland R.: Statystyka Matematyczna w Zastosowaniu do Doświadczeń Rolniczego. PWN, Warszawa, 1964.
21. Fischer J.N.: Erantweinwirtschaft 16. 4. s.154, 1966.
22. Ikonowa A.: Zivotn. Nauki, 8 s.83-98, 1969.
23. Ilnicka-Olejniczak O., Lipnec M.: Przem. Ferm. i Rolny 1. 7. 1971.
24. Janicki J., Trojanowska K.: Przemysł Spożywczy, 12, 505, 1970.
25. Kamieniobrodzki W., Leszczyński W.: Przem. Ferm. i Rolny 3, 1966.
26. Kaniok R.: Acta, Agr.Silv.Seria Zootechniczna Vol. 8.2. s.3. 1968.
27. Karczewska H.: Przemysł Spożywczy, 18/12/:20, /772/, 1964.
28. Karczewska H.: Przem. Ferm. i Rolny 6:223, 1967.
29. Kęsy B.: Oznaczanie furfurołu metodą bromianową w roztworach rozcieńczonych. Instrukcja fabryczna, 1965.
30. Kin. Z.: Otrzymywanie syntantów garbujących z ligniny technicznej. BTN, 1965.
31. Kin Z.: Lignina - chemia i wykorzystanie WNT, Warszawa 213-228, 1971.
32. Kin Z.: Bardyga H., Witkowski C., Przybyłek E., Łukiewska U., Jarolim E.: Badania nad wykorzystaniem hydrolizatu bukowego./Sprawozdanie/, 1974.

33. Kin Z., Gaca J., Borchardt A.: Technologia Chemiczna I, BNT s. 53-69, 1970.
34. Kin Z., Grzegorz S., Wełniński F.: Technologia Chemiczna I, BNT, s. 27-51, 1970.
35. Kin Z., Witkowski C.: BNT. Nr 1, seria 7, s.13, 1966 a.
36. Kin Z., Witkowski C.: Przem. Ferm. i Rolny, 6:212, 1966 d.
37. Kin Z., Witkowski C.: Przem. Ferm. i Rolny, 7:250, 1966 c.
38. Kin Z., Witkowski C., Jaworski J.: BNT, Nr 9, seria A,19, 1974.
39. Kleiber M.: Zarys bioenergetyki zwierząt, PWRiL, Warszawa, 1968.
40. Klimowa Z.K., Bielenkij S.J.: Gidrolizn. i Lesochim. Prom. 5. s.6, 1969.
41. Kłosowski T.: Zarys technologii przemysłu spożywczego, WNT, Warszawa, 1970.
42. Korolkow J.J., Czałow N.W.: Sb.tr.Wsies. n-i. Gidrolizn. i Sulfitno Spirt. Prom. 15. :168, 1966.
43. Korolkow J.J.: Sb.tr.Wsies. n-i. In-t. Gidrolizn. i Sulfitno Spirt. Prom., 16:303, 1967.
44. Korolkow I.Z., Lichonos F.Je.: Gidrolizn. i Lesochim. Prom., 3:9, 1965.
45. Kozłowska E., Malanowska I.: Przem. Ferm. i Rolny, 11:388, 1965.
46. Kozłowska E., Zółtowska I.: Przem. Ferm. i Rolny, 4:18, 1968.
47. Krach H.: Wykorzystanie odpadów drzewnych na drożdże hydrolyzy oraz przerób hydrolizatów na drożdże, PWRiL, Warszawa, 1961.

48. Kusama Urn.Pat.Jap. Nr 23656, zgł.22. 5. 1958,opubl. 22.10, 1964
49. Kusama Jun., Pat.austral. Nr 252154 zgł.9.1.1961, opubl. 10.2.1967
50. Laine B.: Ind.Alim. Agric. 85/10:1173, 1968.
51. Lefrancois L.: Industries Alimentaires et Agricales 82:201, 1965.
52. Lefrancois L., Revez B.: Industr.alim.agr. 81, 1964.
53. Lyall N.: Food Trade Rev. 38 /1/ :A4, 33,1968.
54. Małkow A.M.: Proiswodstwo Drożdzej z Niepisszczego Syria , Moskwa, 1953, Goschimizdat.
55. Michaiłow M.I.: Gidrolizn. i Lesochim. Prom. 3:5, 1963.
56. Monachowa N.I., Siemiuszyna T.N.: Gidrolizn. i Lesochim. Prom. 1:3, 1970.
57. Myszkowska K., Tautt J., Tuszyńska S., Woźniak W.: Mikrobiologiczne metody badania witaminy grupy B. WPLiS., Warszawa, 1963.
58. Nowotny F.: Chemia i technologia przemysłów rolnych, PWRiL, Warszawa, 1961.
59. Nawrotek K.: Charakterystyka drożdży *Monilia murmanica* Bf wyprodukowanych na wodnym hydrolizacie bukowym. Praca dyplomowa, WSI Bydgoszcz, 1973
60. Normy żywienia zwierząt gospodarskich. Praca zbiorowa PWRiL, Warszawa, 1965
61. Olejniczak O, Skiba J.: Prace Inst.i Lab.Bad.Przem.Spoż. 1.45., 1968
62. Osborn F.: The Limits of the Barth, Boston, Little, Brown a. Co., 1963

63. Pion R.; Composition et teneur en acides amines des tourteaux. Charge de recherche /J.N.R.A./ au laboratoire de matabolismes du C.N.R.Z. /Jouy en Josas/ s. 27, 1965.
64. Pleszyński E., Bagdach J.: Metody badań żywności, PWRLiS, Warszawa, 1967.
65. Plewako F.A., Giwartowski E.: Technologia drożdżownictwa, PWRiL, Warszawa, 1952.
66. Praca zbiorowa: Normy Żywienia Zwierząt Gospodarskich, PWRiL, Warszawa, 1965.
67. Prosiński S.: Chemia drewna, PWRiL Warszawa, 1959.
68. Prosiński S., Babicki R., Adamski Z.: Zellstoff ind Papier 10 s. 301, 1963.
69. Rocznik Statystyczny, GUS, 1970.
70. Rodinowa G.S., Rodina W.J.: Gidrolizn. i Lesochim. Prom. 7:1, 1971.
71. Sawinych A.G., Zjazin B.M., Korolkow J.J.: Gidrolizn. i Lesochim. Prom. 6. 4, 1970.
72. Semuszina T.N., Tokarew B.I., Pokwinowa W.W., Monachowa N.J., Pawłowa N.G.: Gidrolizn. i Lesochim.Prom., 3:21, 1970.
73. Stachorskaja Ł.K., Giterman W.F.: Gidrolizn i Lesochim . Prom. 4:3, 1970.
74. Stachorskaja Ł.K., Czudakow M.J., Giterman W.F., Mekler J.A., Antinowa A.W., Samsonowa A.P., Niemirowskij W.D.: Gidrolizm i Lesochim. Prom. 2:2, 1972.
75. Surewicz Wł.: Przegląd Papierniczy, 6:75, 1950.

76. Szarkow J.: Gidroliznoje Proizwedstwe. t. III. Goslesbimizdat, 1950.
77. Szoszina F.A.: Gidrolizn. i Lesochim.Prom. 4, 1964.
78. Tangl H.: Witaminy, Hormony i Antybiotyki w Hodowli Zwierząt, PWRiL Warszawa, 1961.
79. Tatarskij A.I., Stefanow I.G., Czolew J.P., Uszczewa A.A., Tumczewa Ł.N., Stoczkowa Je.B., Buczkow Ł.G., Pandiew P.Sz.: Gidrolizn. i Lesochim. Prom. 6:22. 1970
80. Ułaszczyk Ł.K., Kurczatowa-Bielikowa N.M.: Gidrolizn. i Lesochim.Prom. 1:5, 1971
81. Vorreifrel, Podręcznik Gospodarki Odpadami Drzewnymi, Warszawa, 1948
82. Waskiwniuk W.T., Kwasnikow Je.I.: Mikrobiologia, t.XXXVII /5/ 876, 1968
83. Witkowski C.: Przem.Ferm.i Rolny, 11:387, 1966
84. Witkowski C.: Przem.Ferm.i Rolny, 8/9:23, 1968 a
85. Witkowski C.: Przem.Ferm.i Rolny, 12,8, 1968 b
86. Witkowski C.: Przem.Ferm.i Rolny, 9:18, 1969 a
87. Witkowski C.: Przem.Ferm.i Rolny, 12:8, 1969 b
88. Witkowski C.: Przem.Ferm.i Rolny, 10:14, 1973
89. Witkowski C.: Zeszyty Naukowe BTN. seria A, Nr 8, 1974
90. Wojciechowski T.: Chemiczny przerób drewna, PWRiL Warszawa 1952
91. Worobiewa G.I., Bobyr L.M.: Sbornik Trudow Wsiesojznych Nauczono Isled. Inst. Gidrolizn. i Sulfitno Spirytnoj Prom. 12:129, 1964
92. Zinina M.A.: Gidrolizn. i Lesochim.Prom. 6:5, 1965

OBTAINING OF YEASTS BIOMASS OUT OF SOME INDUSTRY
AND AGRICULTURAL REFUSES

Summary

The results of long-years' investigations concerning yeast production - of some factory and agricultural refuses have been presented in this work. The previously grown *Monilia murmanica* Bf tribe has been adopted for biomass production on water hydrolyzates of beech wood, which being a waste product directed to the Vistula river by Cellulose and Paper Factory near Świecie . During the first investigation stage positive results have been obtained using a hydrolyzate thinned down by means of pipe water to 10 g SR in 1 litre. The long-lasting adaptation work on *Monilia murmanica* Bf yeasts variety and applying the continuous method of fermentation made it possible to increase the SR in the added hydrolyzate, inspite of its increased toxicity to 18 g/l SR. The SR was utilized out of the fermenting mash in 75 % and the organic acids in 100 %. At the same time a high efficiency of yeasts, reaching 50 % in relation to the whole amount of SR present in hydrolyzate was obtained. This makes about 16 g of dry yeast mass of 1 litre of raw hydrolyzate.

Parallel there have been elaborated in a laboratory scale optimal parameters of yeast production and they have been presented in the light of hitherto existing bibliographical data. An investigation work, carried out on some other method of refuses utilization of Cellulose Factory near Świecie, caused the elaboration of a method for furfural obtaining. When producing in a derivative refuse would come into being, the so called dehydrolyzate of lower contents of SR but a higher one of organic acids than the initial beech hydrolyzate. Tests of *Monilia murmanica* Bf yeasts grown on dehydralyzat have been successful as well. The yeasts produced the biomass mainly of organic acids, as they had in their nourishment small amounts of monosugers.

In the next stage of work the owned yeast variety was adopted for life and reproduction at the base, deprived of sugars and containing organic acids as the only source of carbon. The nourishment was produced of wood-wool, refuse of vanillin factory carrying out its decomposition in the oxygen-ammonia habitat. The carried out tests have shown a real possibility of post-vanillin wood-wool utilization for production of fodder protein.

Besides successful tests of yeast production hydrolyzate of rape straw have been carried out. Out of this basis a good efficiency of yeast biomass was obtained. The agricultural refuses

being utilized for fodder yeasts production, the sugars and acids of hydrolyzates are very well used through the *Monilia murmanica* Bf-the problem exists only in determining favourable parameters of hydrolysis process. The yeasts grown on factory and agricultural refuses have been evaluated as far as the protein contents is concerned, its amino-acid composition as well as of some vitamin contents of group B.

The results have shown, that out of refuses not being brought into cultivation yet, it is possible to produce biomass of high protein contents and of valuable amino-acid composition, containing furthermore vitamin and provitamin D as well as great amount of group B vitamins and components which are very useful in feeding animals.

ПОЛУЧЕНИЕ БИОМАССЫ ДРОЖЕЙ ИЗ НЕКОТОРЫХ ПРОМЫШЛЕННЫХ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОТБРОСОВ

Резюме

В работе представлены результаты многолетних исследований над превращением в дрожжи нескольких промышленных и сельскохозяйственных отходов. Предварительно выращенный штамм дрожжей *Monilia murmanica* Bf приспособлен для производства биомассы на водных гидролизатах из букового дерева, которые являются отходом, сбрасываемым в настоящее время в мусорный двор - Булажным комбинатом около Сьвета. На первом этапе исследований получены положительные результаты, применяя разбавленный водопроводной водой гидролизат до 10 г SR на литр. Продолжительное приспособление расы дрожжей *Monilia murmanica* Bf к применению для ферментации непрерывного метода дало возможность увеличить SR в добавляемом гидролизате, несмотря на его высокую токсичность до 18 г/л SR. Из ферментирующего сусла получено использование SR в 75%, а органических кислот в 100% и одновременно высокую производительность дрожжей, доходящую до 50% по отношению к целому количеству SR находящихся в гидролизате, что составляет около 16 г сухой расы дрожжей на 1 литр сырого гидролизата.

Параллельно были разработаны в лабораторном масштабе оптимальные параметры производства дрожжей и представлены в свете существующих до настоящего времени литературных данных. Исследовательская работа проводимая над другим способом использования отбросов целлюлозного завода около Съвета привела к разработке метода получения фурфурола, во время производства которого образовался бы вторичный отброс т.н. дигидролизат с более низким содержанием SR, но с более высоким содержанием органических кислот нежели исходный буковой гидролизат. Пробы выращивания дрожжей *Monilia murmanica* Bf на дигидролизате также увенчались успехом. Дрожжи производили биомассу главным образом из органических кислот, так как в питательной среде содержалось небольшое количество моносахара.

На следующем этапе работы была приспособлена к жизни имеющаяся раса дрожжей и размножена в субстрате, при полном отсутствии сахаров, содержащем органические кислоты, как единственный источник угля. Питательная среда была получена из лигнина, отброса ванилинового завода, проведя её разложение в кислородно-аммиачной среде. Проведенные исследования показали реальную возможность использования лигнина, полученного после производства ванилина, для производства кормового белка.

Кроме того были проведены удавшиеся пробы превращения в дрожжи репсовой соломы. Из этой питательной среды также была получена хорошая производительность биомассы дрожжей. При использовании сельскохозяйственных отбросов для производства кормовых дрожжей, сахара и кислоты из гидролизатов хорошо используются дрожжами *Monilia murmanica* Bf - единственно существующая проблема - это определение выгодных параметров процесса гидролиза.

Дрожжи, выращенные на заводских и сельскохозяйственных отбросах были оценены в отношении содержания белка, его аминокислотного состава, а также содержания нескольких витаминов группы B. Результаты показали, что из отбросов, которые до сих пор не освоены, можно производить биомассу с большим содержанием белка и ценным аминокислотным составом, содержащим, кроме этого, витамин, а также провитамин D, большое количество витаминов группы B, а кроме этого компоненты очень нужные кормлению животных.

Biblioteka Główna ATR
w Bydgoszczy

Doc

733

24/3

1976