

Tomasz Pieciun, Wladyslaw Leśniak*

DOBÓR SZCZEPÓW DROŻDŻY PASZOWYCH DO ZDROŻDZOWANIA ROLNICZYCH WYWARÓW GORZELNICZYCH

1. Wstęp

Rolniczy wywar gorzelniczy (wywar skrobiowy) jest odpadem po oddestylowaniu alkoholu etylowego z odfermentowanego zacieru gorzelniczego. Wielu autorów, zarówno krajowych, jak i zagranicznych, uznaje wywar skrobiowy za wartościową paszę dla zwierząt, podkreślając przy tym wyższe walory odżywcze wywarów zbożowych niż wywaru ziemniaczanego [Czupryński 2002; Ruszczyc 1977; Larson i in. 1993; Mustafa i in. 2000; Shain i in. 1994]. Wykorzystanie rolniczych wywarów gorzelniczych jako paszy wydaje się uzasadnioną formą ich zagospodarowania, jednakże ten sposób utylizacji, z pozoru mało skomplikowany, stwarza wiele problemów.

Największą wartością odżywczą charakteryzuje się świeży wywar, który pozostał bezpośrednio po oddestylowaniu alkoholu etylowego i nie został w jakikolwiek sposób przetworzony. Niestety w praktyce taki stan nie trwa zbyt długo i w miarę upływu czasu maleje wartość odżywcza wywaru. W takim przypadku nasuwa się jedyny racjonalny wniosek dotyczący odpowiedniego przetworzenia wywaru w celu zwiększenia jego wartości odżywczych i energetycznych, jak również możliwości dłuższego przechowywania [Cibis 2004]. Szczególnie korzystnym składem cechują się wywary uzyskane przy przerobieniu ziemniaków, żyta, kukurydzy, pszenicy oraz sorga (tab. 1). Te wywary w porównaniu z wywarem melasowym nie zawierają toksycznych składników niepożądanych w karmieniu zwierząt. Stosując zmodyfikowaną technologię wytwarzania spirytusu lub wprowadzając dodatkową obróbkę wywaru, można wydawnie zwiększyć ich wartość odżywczą. W Polsce jest stosowany sposób podnoszenia wartości pokarmowej wywaru i regulacji jego pH za pomocą wody amoniakalnej. Taka obróbka obniża kwasowość czynną wywaru do pH od 6,0 do 6,5 i jednocześnie powoduje powstanie w wywarze soli amonowych kwasów organicznych, wykorzystywanych w procesie trawienia przez zwierzęta przeżuwające. Przyrost zawartości tego umownego białka wynosi co najmniej 10% [Czupryński 2002].

* Katedra Biotechnologii Żywności, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu, 53-345 Wrocław, ul. Komandorska 118/120.

Tabela 1. Skład chemiczny rolniczych wywarów gorzelniczych

Rodzaj wywaru w zależności od użytego surowca	Skład chemiczny (% w/w)					
	woda	białko	węglowodany	tłuszcz	włókno	związki mineralne
Ziemniaki	94,4	1,2-1,5	2,9-3,2	0,04	0,4-0,7	0,7-0,8
Żyto	92,0	1,7-3,6	4,1-4,8	0,5	0,5-1,1	0,3-0,5
Kukurydza	93,6	1,6-2,0	3,6-4,7	0,7	0,5-0,8	0,3-0,4
Sorgo	93,1	2,0-2,2	3,2-3,3	0,6	0,5-0,7	0,3-0,4
Maniok	95,3	0,4-0,6	3,1-3,7	0,2	0,6-0,9	0,2-0,4
Pszenica	93,0	2,5-2,9	4,1-5,7	0,6	0,7-1,0	0,3-0,6

Źródło: opracowanie na podstawie [Łaczyński 1993].

Jednym ze sposobów paszowego wykorzystania wywaru jest zateżanie i ewentualne suszenie. Odwadnianie wywaru może być przeprowadzane na kilka sposobów, takich jak: bezpośrednie zateżanie i suszenie wywaru, oddzielanie frakcji stałej od ciekłej za pomocą sit, wirówek lub pras, a następnie suszenie frakcji stałej i zateżanie ciekłej do 30-40% suchej masy, czy też suszenie zateżonej frakcji ciekłej albo mieszanie z oddzieloną frakcją stałą i suszenie otrzymanej mieszaniny [Aires i in. 1986].

W gorzelniach rolniczych wartość paszową rolniczego wywaru gorzelniczego można zwiększyć również poprzez zawrócenie do procesu produkcyjnego świeżo uzyskanego, gorącego wywaru. Zastępuje się w ten sposób wodę technologiczną, stosowaną w czasie parowania lub rozdrabniania. Uzyskuje się wówczas prawie dwukrotne podniesienie zawartości suchej masy i zwiększenie zawartości białka o średnio 47%, a także pozostałych składników suchej masy (tłuszczu, włókna surowego, substancji mineralnych). Ponadto w wyniku zastosowania technologii zawracania wywaru poprawia się ekonomika wytwarzania surowego spirytusu rolniczego, gdyż spada zużycie nośników energii: węgla, wody i energii elektrycznej oraz obniżane są koszty robocizny i transportu wywaru [Czupryński 2002]. Kolejnym, dosyć popularnym paszowym sposobem przedłużania trwałości wywarów skrobiowych jest ich kiszenie z różnymi dodatkami, takimi jak np. melasa, słoma, serwatka, maślanka i preparaty bakterii kwasu mlekowego. Tak przyrządzone kisonki zwiększają okres przechowywania wywaru oraz jego dodatków, jednakże tracą na wartości pokarmowej od kilku do kilkudziesięciu procent [Wolska 2000]. Do paszowych sposobów zagospodarowania rolniczych wywarów gorzelniczych należy również ich drożdżowanie, którego celem jest wytworzenie wysokobiałkowej paszy dla zwierząt poprzez wykorzystanie biomasy drożdży. W praktyce tego typu przetwarzanie dotyczyło głównie wywaru melasowego, jednakże wysokie ChZT odcieku pochodzanego, dające w rezultacie stopień redukcji tego składnika wynoszący najwyżej ok. 70%, spowodowało, że zrezygnowano z tego sposobu jego wykorzystania [Cibis

2004]. W literaturze naukowej jest niewiele opracowań dotyczących badań nad drożdżowaniem rolniczych wywarów gorzelnicznych, mimo że ten sposób zagospodarowania wywaru wydaje się najbardziej racjonalny [Cibis 2004; Leśniak 2002].

Celem badań dotyczących utylizacji pszenicznego wywaru gorzelnicznego było wyselekcjonowanie szczepu drożdży paszowych charakteryzującego się największą wartością biomasy w tym wywarze oraz określenie wpływu składu podłoża na przebieg zmiany ilości tworzonej biomasy drożdży.

2. Materiały i metody

Do badań na wywarze gorzelnicznym wybrano następujące szczepy drożdży paszowych: *Hansenula jadinii*, *Candida tropicalis*, *Trichosporon cutaneum*, *Endomyces fibuliger Y 00332* (pochodzące z Kolekcji Czystych Kultur ŁOCK 105 Politechniki Łódzkiej) oraz *Candida utilis cz. i Candida utilis 6* (z Kolekcji Czystych Kultur Katedry Biotechnologii Żywności UE we Wrocławiu).

Stosowany w badaniach pszeniczny wywar gorzelniczny (podłoże A) zawierał np. 83,68% wody i 16,32% suchej masy. Podstawowymi składnikami suchej masy wywaru były m.in. (w g/l): dekstryny – 38,63; maltotrioza – 7,31; maltoza – 4,68; glukoza – 0,70; fruktoza – 3,81; kwas bursztynowy – 3,14; kwas mlekowy – 21,97; glicerol – 9,47 i kwas octowy – 1,11. W zależności od partii wywaru pH wahało się w granicach od 3,8 do 4,1, zmieniały się także nieznacznie wartości składników suchej substancji.

Zawiesiny stałe oddzielano z wywaru przez wirowanie z prędkością 6500 obr./min przez 10 min w wirówce Power supply & timing unit type 317 firmy Mechanika Precyzyjna (Warszawa). Płyn po odwirowaniu, jako podłoże B, stosowano do hodowli drożdży paszowych. Kwasowość czynną podłoża hodowlanych regulowano roztworem 2M NaOH w ilości ustalającej pH podłoża na poziomie 5,0.

Namnażanie inokulum do hodowli drożdży paszowych prowadzono w brzeczce słodowej o zawartości ekstraktu 12% w/w na wytrząsarce w kolbach płaskodennych o pojemności 500 ml przez 48 godzin w temperaturze 30°C.

Hodowle drożdży paszowych mające na celu wyselekcjonowanie szczepu dającego największy wzrost wartości suchej substancji prowadzono w pszenicznym wywarze gorzelnicznym (podłoże A). Płyn pohodowlany (inokulum) zawierający aktywne drożdże przenoszono w ilości po 25 ml do kolb płaskodennych o pojemności 750 ml zawierających po 200 ml podłoża A. Badania prowadzono na wytrząsarce przez 120 godzin w temperaturze 30°C równolegle po 3 kolby płaskodenne z podłożem A oraz odpowiednią kulturą drożdży paszowych. Próby o objętości 2 ml do oznaczenia zawartości suchej masy drożdży pobierano co 12 godzin i oznaczano metodą wagową w wagosuszarce Sartorius MA 30 w temperaturze 105°C do stałej wagi.

Hodowle drożdży paszowych mające na celu określenie wpływu składu podłoża na przebieg zmian stężenia biomasy drożdży w czasie hodowli prowadzono w po-

zbawionym zawiesin pszenicznym wywarze gorzelniczym (podłoże B). Płyn pohodowlany (inokulum) zawierający aktywne drożdże przenoszono w ilości po 25 ml do kolb płaskodennych o pojemności 750 ml zawierających po 200 ml podłoża B. Hodowle prowadzono w 3 powtórzeniach dla każdego wariantu na wytrząsarce przez 48 godzin w temperaturze 30°C po 3 kolby płaskodenne z podłożem B oraz odpowiednią kulturą drożdży paszowych. Próby o objętości 2 ml do oznaczenia zawartości suchej masy drożdży pobierano co 6 godzin i oznaczano metodą wagową [Leśniak 1980].

3. Wyniki badań

Pierwsza seria badań miała na celu dokonanie wyboru szczepu drożdży paszowych charakteryzujących się największą wartością suchej substancji w pszenicznym wywarze gorzelniczym (podłoże A). Wyniki hodowli przedstawiono w tab. 2.

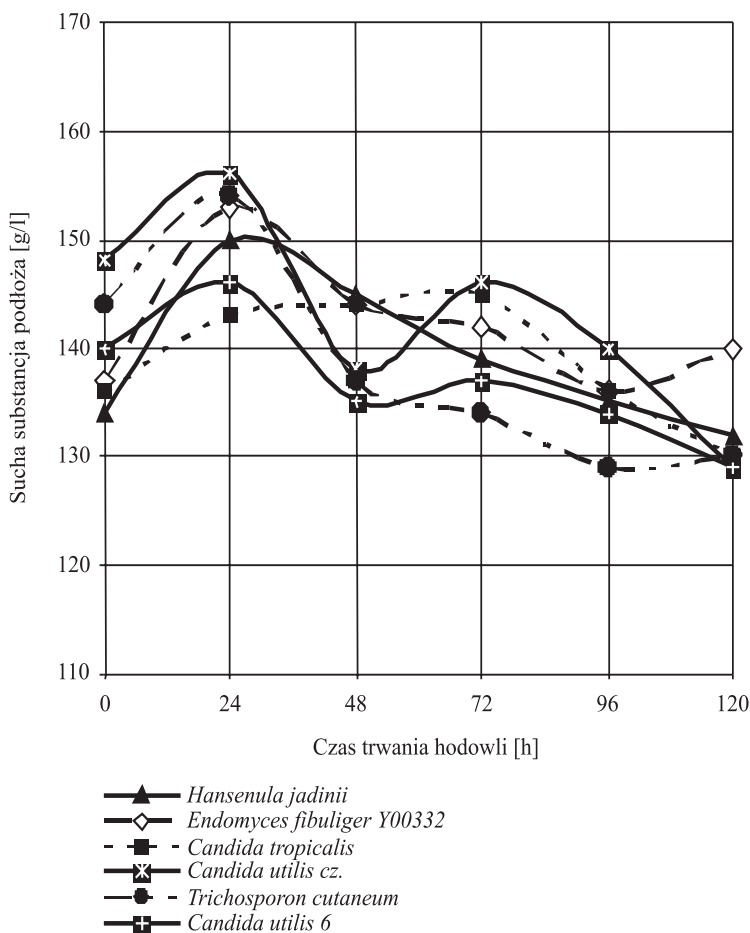
Wyniki tych badań wskazują, że całkowita sucha substancja wywaru zmniejsza się w procesie hodowli drożdży paszowych. Prawdopodobnie spowodowane jest to zużywaniem niektórych składników wywaru przez wprowadzone drożdże nie tylko na syntezę biomasy, ale również na inne cele, jak oddychanie, prowadzenie procesów życiowych. Z tego względu dla określenia wartości biomasy drożdży kolejne eksperymenty były prowadzone na wywarze, z którego oddzielono substancje nierozpuszczalne (podłoże B).

Tabela 2. Zawartość suchej substancji podłoża A w czasie hodowli szczepów drożdży paszowych

Nazwa szczepu	Sucha substancja podłoża (g/l)									
	początek hodowli	po 12 godz.	po 24 godz.	po 36 godz.	po 48 godz.	po 60 godz.	po 72 godz.	po 84 godz.	po 96 godz.	po 108 godz.
<i>Hansenula jadinii</i>	85,67	84,00	80,33	78,67	76,00	72,67	66,50	67,67	66,50	65,83
<i>Candida tropicalis</i>	87,83	80,83	77,00	72,50	73,50	72,50	64,33	66,50	67,67	64,33
<i>Trichosporon cutaneum</i>	86,50	85,00	81,67	80,50	75,67	72,50	67,67	66,00	65,83	64,67
<i>Endomyces fibuliger</i> Y 00332	85,33	84,67	81,00	78,83	75,33	73,33	69,50	67,00	66,33	65,00
<i>Candida utilis</i> cz.	86,83	88,83	85,83	88,00	82,17	77,00	73,33	72,67	70,00	70,00
<i>Candida utilis</i> 6	88,00	84,17	83,50	81,50	80,33	76,50	71,50	71,00	67,67	64,83

Źródło: opracowanie własne.

Druga seria badań miała na celu ocenę efektywności wzrostu badanych drożdży paszowych w pszenicznym wywarze gorzelniczym pozbawionym zawiesin stałych (podłoże B). Wyniki tych hodowli przedstawiono na rys. 1.

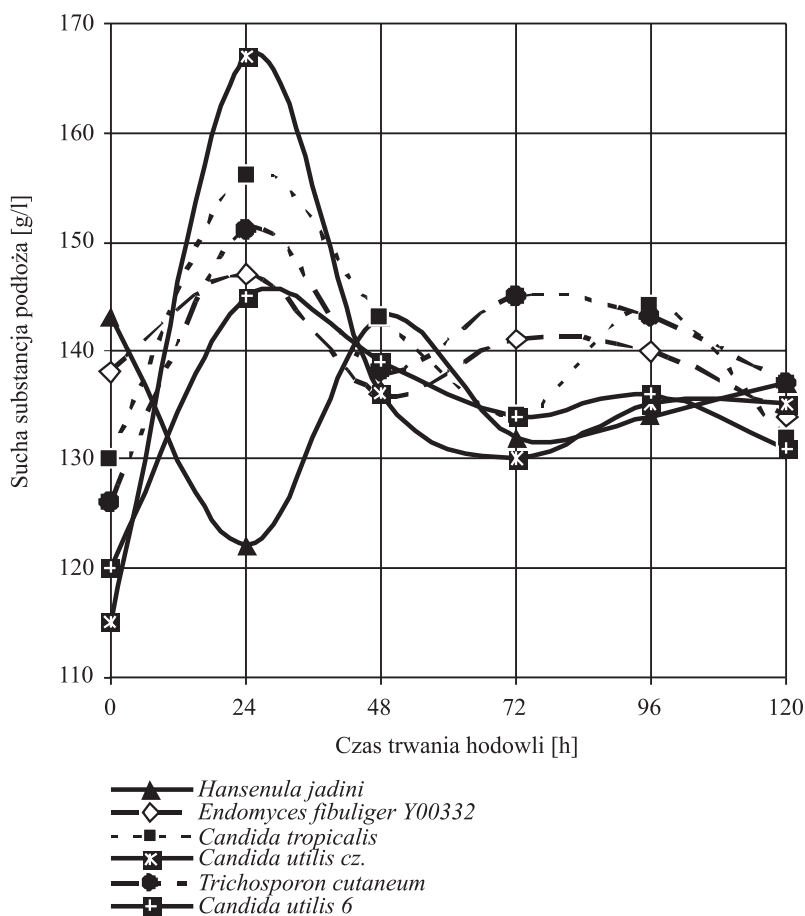


Rys. 1. Stężenie suchej substancji w podłożu B w czasie hodowli szczepów drożdży paszowych
 Źródło: opracowanie własne.

Z przedstawionych danych wynika, że dla większości badanych szczepów drożdży paszowych największy przyrost suchej substancji nastąpił po 24 godzinach hodowli. Jedynie drożdże paszowe *Candida tropicalis* maksymalną zawartość suchej masy uzyskały ok. 72. godziny hodowli. Największą wartością suchej substancji podłoża wykazały się hodowle szczepów: *Hansenula jadinii* i *Endomyces fibuliger* Y00332 w 24. godzinie hodowli, nieco mniejszą *Candida utilis* cz. i *Trichosporon cutaneum* także w 24. godzinie hodowli oraz *Candida utilis* 6. Spadek wartości suchej substancji drożdży w następnych godzinach hodowli był prawdopodobnie spowodowany częściową autolizą komórek drożdżowych wskutek wyczerpania się źródeł węgla, substancji azotowych i fosforowych w podłożu oraz tworzeniem śladowych ilości alkoholu etylowego.

Jest to zjawisko charakterystyczne dla hodowli biomasy drożdży, które w skali przemysłowej w procesie okresowym hoduje się przez kilkanaście godzin.

Ze względu na to, iż nie zaobserwowano wyróżniającego się w sposób istotny szczepu drożdży paszowych zdecydowano się na kolejną serię badań. Trzecia seria badań miała na celu analizę wartości suchej substancji w podłożu B wzbogaconym w substancje azotowe i fosforowe. Wyniki hodowli przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Stężenie suchej substancji w wzbogaconym podłożu B w czasie hodowli szczepów drożdży paszowych

Źródło: opracowanie własne.

Wyniki tych badań wykazały, że najlepszą wartością suchej substancji podłoża po 24 godzinach hodowli odznaczał się szczep *Candida utilis* cz., znacznie mniejszą wartością szczep: *Trichosporon cutaneum*, *Candida tropicalis* i *Candida utilis* 6, a najmniejszą szczep *Endomyces fibuliger* Y0033. W związku z tym, że największą

wartością suchej substancji w trzeciej serii badań oraz równie znaczną w drugiej serii badań charakteryzował się szczep drożdży paszowych *Candida utilis* cz., zdecydowano się wybrać go do dalszych badań. Ta seria badań pokazała, że istotny wpływ na wzrost wartości suchej substancji w podłożu miał dodatek składników azotowych i fosforowych.

Celem następnego etapu badań było określenie wpływu składu podłoża wzbogaconego w różne ilości związków azotowych i fosforowych na przyrost biomasy drożdży w czasie hodowli wyselekcjonowanego szczepu drożdży paszowych *Candida utilis* cz. Wyniki badań przedstawiono w tab. 3.

Tabela 3. Wpływ składu podłoża wzbogaconego w związki azotowe i fosforowe na zawartość biomasy drożdży w czasie hodowli *Candida utilis* cz.

Nr wariantu hodowli	Składniki dodane do podłoża B [g/l]			Zawartość biomasy drożdży paszowych <i>Candida utilis</i> cz. [g/l]					
	(NH ₄) ₂ HPO ₄	KH ₂ PO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄	początek hodowli	po 6 godz.	po 12 godz.	po 18 godz.	po 24 godz.	przyrost biomasy [Δ]
1	0,0	0,0	0,0	2,2	2,7	3,5	4,4	5,0	2,8
2	1,0	0,0	0,0	2,2	2,8	4,2	4,8	5,6	3,4
3	2,0	0,0	0,0	2,4	2,9	4,2	5,1	5,7	3,3
4	3,0	0,0	0,0	2,2	3,0	4,7	5,5	5,3	3,1
5	4,0	0,0	0,0	2,1	2,8	4,5	4,8	5,2	3,1
6	5,0	0,0	0,0	2,4	3,1	4,5	5,0	5,5	3,1
7	0,0	1,0	3,0	2,3	3,2	4,9	5,4	5,7	3,4
8	0,0	2,0	3,0	2,2	3,3	5,0	5,1	5,2	3,0
9	0,0	3,0	3,0	2,3	2,9	4,4	4,8	5,1	2,8

Źródło: opracowanie własne.

Analiza uzyskanych wyników wskazuje, że wprowadzone dodatkowo ilości związków azotowych i fosforowych, tj. 1,0 g/l (NH₄)₂HPO₄; 1,0 g/l KH₂PO₄ i 3,0 g/l (NH₄)₂SO₄ w korzystny sposób wpłynęły na przyrost biomasy drożdży (wariant nr 2 i 7). W pozostałych wariantach doświadczeń zaobserwowano niższy przyrost biomasy drożdży *Candida utilis* cz. Ponadto okazało się również, że wzrost ilości dodawanych związków azotowych i fosforowych spowodował ok. 20-procentowy przyrost biomasy drożdży paszowych w porównaniu z hodowlami prowadzonymi w podłożu niewzbogaconym. Stężenie biomasy drożdży na koniec hodowli wahało się w granicach od 5,0 do 5,7 g/l, a przyrost biomasy drożdży w granicach od 2,8 do 3,4 g/l, czyli zaobserwowano zwiększenie stężenia biomasy o 27-55% w porównaniu z wartością początkową hodowli.

4. Wnioski

1. Badania wykazały, że spośród stosowanych szczepów drożdży paszowych największą wartość biomasy drożdży w pszenicznym wywarze gorzelnicznym osiągał szczep *Candida utilis* cz.
2. Dodatek do podłoża odpowiednich ilości fosforanu diamonu, fosforanu potasu oraz siarczanu amonu wpływa korzystnie na przyrost biomasy drożdży.
3. Najwyższą wartość przyrostu biomasy drożdży uzyskano w podłożu zawierającym dodatek 1,0 g/l fosforanu diamonu oraz w podłożu zawierającym 1,0 g/l fosforanu potasu oraz 3,0 g/l siarczanu amonu.

Literatura

- Aires G., Klopfeinstein T., Stock R.: *Distillers grains*, <http://www.ianr.unl.edu>, 1986.
- Cibis E.: *Tlenowa biodegradacja skrobiowych wywarów gorzelnicznych za pomocą mieszanej kultury bakterii termo- i mezofilnych z rodzaju Bacillus*, Prace Naukowe Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu nr 1028/158, AE, Wrocław 2004.
- Czupryński B., *Współczesne metody zagospodarowania wywarów gorzelnicznych. VII seminarium pt.: „Aktualne problemy gorzelnictwa rolniczego”*, PM „LOGO”, Bydgoszcz 2002.
- Larson E.M., Stock R.A., Klopfeinstein T.J., Sindt M.H., Huffman R.P.: *Feeding value of wet distillers byproducts for finishing ruminants*, J. Anim. Sci. 1993 nr 71.
- Leśniak W.: *Biotechnologia żywności: Procesy fermentacji i biosyntezy*, AE, Wrocław 2002.
- Leśniak W.: *Studia nad ciągłą hodowlą drożdży Candida utilis z zastosowaniem zasady nutristatu jako podstawy regulacji dozowania substratu*, Praca habilitacyjna, Zeszyt nr 168 (190), AE, Wrocław 1980.
- Łączyński B.: *Skrócony kurs gorzelnictwa rolniczego*, <http://www.bimber.ovh.org>, Warszawa 1993.
- Mustafa A.F., McKinnon J.J., Ingledow M.W., Christensen D.A.: *The nutritive value for ruminants of thin stillage and distillers' grains derived from wheat, rye, triticale and barley*, J.Sci. Food Agric. 2000 nr 80.
- Ruszczyk Z.: *Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo*, PWRiL, Warszawa 1977.
- Shain D.H., Ham G.A., Stock R.A., Klopfeinstein T.J., Larson E.M., Huffman R.P.: *Wet corn distillers byproduct compared with dried corn distillers grains with solubles as a source of protein and energy for ruminants*, J. Anim. Sci. 1994 nr 71.
- Wolska M., Czupryński B., Kłosowski G., Kotlarska K.: *Energooszczędna technologia wydłużania trwałości przydatności żywieniowej wywaru w gorzelnicy rolniczej*, „Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny” 2000 nr 44(9).

SELECTION OF FODDER YEAST STRAINS TO CULTIVATE BIOMASS ON AGRICULTURAL STARCH STILLAGE

Summary

The main problem for distillery owners is disposal of unusable waste, which remains after ethanol evaporation from post fermentation broth, so-called agricultural starch stillage. Due to the dominant tendency among enterprises to minimize costs of production by appropriate waste management, there

appeared the need of working out an optimal method of waste utilization. According to existing experimental results and to distillery practices several methods of waste utilization were created, however they generate high costs and the application of them is unprofitable. Currently the only way of agricultural starch stillage is its cultivation.

This paper presents the preliminary study to increase the content of protein in starch stillage during fodder yeast cultivation process. Experiments concerned the selection of fodder yeast culture and optimization of cultivation medium with addition of diammonium phosphate and potassium phosphate to agricultural starch stillage and resulted in obtaining a protein containing by-product, which can be used as fodder for animals.