

JOANNA KAWA-RYGIELSKA, WITOLD PIETRZAK

## ZAGOSPODAROWANIE ODPADOWEGO PIECZYWA DO PRODUKCJI BIOETANOLU

### Streszczenie

Celem pracy była ocena przydatności technologicznej odpadowego chleba pszenno-żytniego, o znacznym stopniu porażenia pleśnią, jako surowca w procesie fermentacji etanolowej.

Materiałem badawczym był odpadowy chleb pszenno-żytni (zwroty ze sklepów po terminie przydatności do spożycia) wykazujący oznaki powierzchniowego porażenia pleśnią. Podłoża fermentacyjne z odpadowego pieczywa przygotowano poprzez zacieranie energooszczędną metodą beciśnieniowego uwalniania skrobi (BUS). Przygotowane zacierzy o zawartości surowca [% (m/m)]: 28 (I), 32 (II) i 36 (III) zaszczepiono drożdżami *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red i poddano fermentacji metodą okresową. Oznaczono dynamikę procesu fermentacji oraz, metodą HPLC, profile węglowodanowe zacierów, zmiany stężenia substratów i ilości metabolitów (etanol, glicerol, kwas bursztynowy i octowy) powstających w trakcie fermentacji. Oznaczono również stan fizjologiczny komórek drożdży metodą mikroskopową przed i po zakończeniu fermentacji. Na podstawie uzyskanych wyników obliczono parametry wydajności procesu fermentacji etanolowej i oceniono przydatność technologiczną badanego surowca.

Stwierdzono, że proces fermentacji zacierów trwał 68 h niezależnie od ilości surowca. Najlepszą dynamikę procesu wykazywały zacierzy o 32 % zawartości surowca. Początkowe stężenie cukrów (glukozy, maltozy i maltotriozy) było większe w zacierach o większym udziale surowca. W trakcie fermentacji drożdże wykorzystały prawie całą ilość dostępnych węglowodanów. W płynach fermentacyjnych oznaczono typowe produkty uboczne fermentacji (glicerol oraz kwas bursztynowy i octowy). Największe stężenie glicerolu (14,56 g/l) oznaczono w próbie o 36 % zawartości surowca (III). Stężenie etanolu wytworzonego przez drożdże w badanych podłożach wynosiło 60,7 g/l (I), 72,7 g/l (II) i 83,1 g/l (III). Największą wydajność procesu (ok. 70 %) uzyskano w wyniku fermentacji zacierów o zawartości surowca 32 i 36 %. Po zakończeniu fermentacji użyte drożdże charakteryzowały się większą zawartością komórek nieaktywnych w porównaniu z biomasą wyjściową. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że optymalna zawartość chleba pszenno-żytniego w zacierze wynosi 32 %.

**Słowa kluczowe:** chleb pszenno-żytni, zacier, fermentacja, bioetanol

## **Wprowadzenie**

Jednym z najpowszechniej produkowanych biopaliw jest bioetanol otrzymywany z surowców rolnych i odpadów organicznych. Jego wytwarzanie przy użyciu klasycznych technologii wiąże się z użyciem drogich surowców, których koszt może wynosić nawet 60 % ceny gotowego produktu [13]. Dlatego poszukiwane są tanie, odpadowe surowce oraz technologie pozwalające na produkcję etanolu z wysoką wydajnością przy minimalizacji kosztów.

Potencjalnym surowcem do produkcji etanolu mogą być odpadowe produkty piekarnicze. W związku z wymaganiami konsumentów dotyczącymi świeżości kupowanego pieczywa jego produkcja od kilku lat wzrasta (aktualny poziom produkcji w Polsce wynosi ok. 1,6 mln ton rocznie [15]). Jednocześnie zwiększa się ilość pieczywa niesprzedanego po terminie przydatności do spożycia [12]. Corocznie powstaje ok. 170 tys. ton odpadowego pieczywa, z czego tylko niewielka część może zostać ponownie wykorzystana np. do produkcji bułki tartej, jako dodatek do pasz lub jako zamiennik części mąki żytniej do sporządzania tzw. żurków (tylko w przypadku pieczywa żytniego lub pszenno-żytniego) [7, 18]. Duża część odpadowego pieczywa nie może zostać ponownie wykorzystana ze względu na porażenie grzybami strzępkowymi, co wyklucza jego użycie do produkcji żywności lub pasz. Jedną z możliwości wykorzystania takiego pieczywa jest zagospodarowanie go do produkcji etanolu. Do tej pory niewielu badaczy podejmowało temat wykorzystania odpadów piekarniczych jako surowca w gorzelniach [8, 10]. Ze względu na wysoką dostępność oraz niską cenę mogą stać się one cennym surowcem do produkcji bioetanolu.

Celem pracy była ocena przydatności technologicznej odpadowego chleba pszenno-żytniego, wykazującego oznaki porażenia pleśnią, jako surowca w procesie fermentacji etanolowej.

## **Materiał i metody badań**

Materiałem badawczym był krojony chleb pszenno-żytni (po terminie przydatności do spożycia, zwroty ze sklepów) wykazujący oznaki powierzchniowego porażenia pleśnią. Materiał pochodził z jednej partii zakładu piekarniczego na terenie Wrocławia (do badań pobrano ok. 3 kg chleba).

Stopień pokrycia powierzchni badanego materiału pleśnią oceniono wizualnie, wynosił on ok. 60 %. Surowiec krojono ręcznie za pomocą noża na kostki o wielkości ok. 1×1×1 cm. Postępujący rozwój pleśni zahamowano przez suszenie materiału w temp. 105 °C w ciągu 5 h, wykorzystując suszarkę laboratoryjną typu FD-115 (WTC Binder). Wyszuszone kostki chleba mielono w młynku laboratoryjnym WŻ-1 (ZBBP Bydgoszcz). W uzyskanym materiale oznaczano zawartość: suchej masy metodą termogravimetryczną za pomocą wagosuszarki WPS-50S (Radwag, Polska) [1] oraz

skrobi metodą polarymetryczną według normy BS EN ISO 10520:1998 [2]. Uzyskane wyniki posłużyły do obliczenia wydajności procesu.

Podłoża fermentacyjne przygotowywano energooszczędną metodą bezciśnieniowego uwalniania skrobi (BUS) [11]. Proces zacierania prowadzono w automatycznej zaciernicy laboratoryjnej LB ELECTRONIC (Lochner Labor, Niemcy), zgodnie ze schematem przedstawionym na rys. 1. Użyto następujących preparatów enzymatycznych: Termamyl SC (termostabilna  $\alpha$ -amylaza) (Novozymes), Dextrozyme (glukoamylaza) (Genecor) oraz Optimash BG ( $\beta$ -glukanaza, ksylanaza) (Genecor). Dawki preparatów obliczono na podstawie zaleceń producentów [17]. Założono udział surowca w zacierach na poziomie 28, 32 i 36 % (m/m).

Przygotowane zacierzy zaszczipiano drożdżami *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red (Fermentis). Ilość inokulum wynosiła 2 g suchej masy drożdży na litr zacieru. Proces fermentacji prowadzono w temp. 30 °C przez 68 h.

W zacierach oznaczano stężenie węglowodanów (glukozy, maltozy, maltotriozy) metodą HPLC. Dynamikę fermentacji oznaczano na podstawie ilości wydzielanego CO<sub>2</sub> [4]. Zmiany stężenia substratów (węglowodanów) i ilości powstających metabolitów (etanol, glicerol, kwas bursztynowy, kwas octowy) oznaczano metodą HPLC. Oznaczenia chromatograficzne wykonywano przy użyciu chromatografu D-7000 firmy Merck wyposażonego w kolumnę HPX-87 H (Bio-Rad, USA); warunki oznaczenia: temp. detekcji 60 °C, detektor refraktometryczny, eluent – 0,005 M roztwór H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Na podstawie uzyskanych wyników obliczano parametry wydajności fermentacji:

1) wydajność praktyczną ( $Y_p$ ) w stosunku do teoretycznej:

$$Y_p = \frac{Et \times 100}{Y_t} \quad (1)$$

gdzie:  $Y_p$  – wydajność praktyczna procesu fermentacji etanolowej [%],  $Et$  – ilość etanolu w 1000 ml badanej próby [g],  $Y_t$  – wydajność teoretyczna etanolu ze skrobi (obliczona na podstawie równania stechiometrycznego) [g];

2) wydajność etanolu ze 100 g surowca ( $Y_s$ ):

$$Y_s = \frac{Et \times 100}{M} \quad (2)$$

gdzie:  $Y_s$  – wydajność etanolu ze 100 g badanego surowca [g/100 g surowca],  $Et$  – ilość etanolu w 1000 ml badanej próby [g],  $M$  – masa naważki surowca w 1000 ml próby fermentacyjnej [g];

3) wydajność etanolu ze 100 g skrobi ( $Y_{sk}$ ):

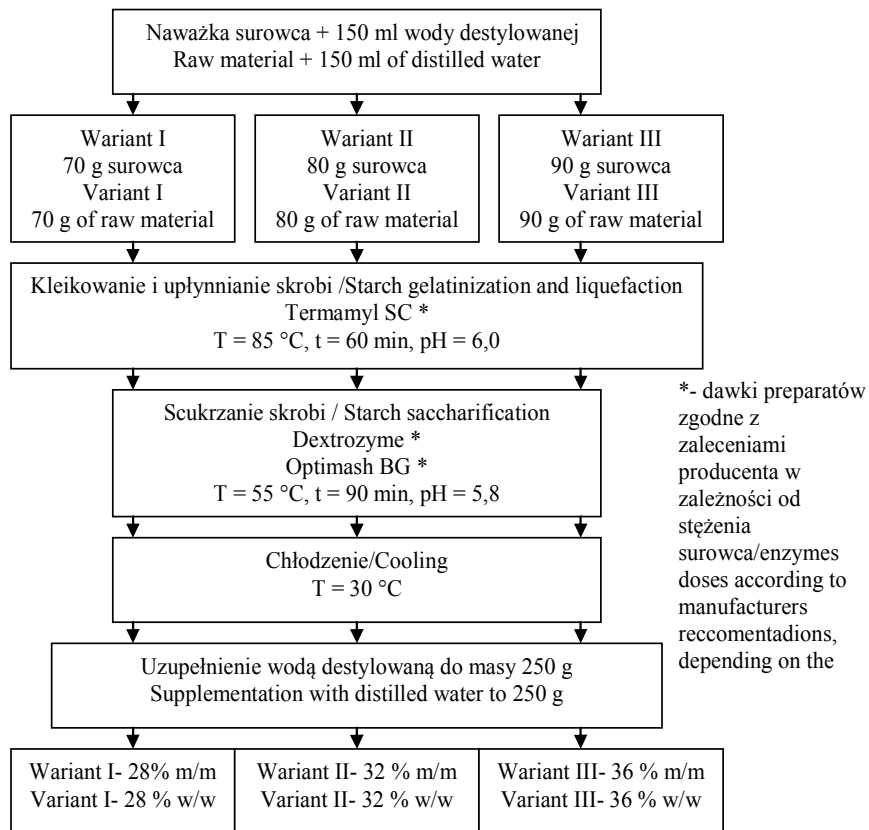
$$Y_{sk} = \frac{Et \times 100}{Sk} \quad (3)$$

gdzie:  $Y_{sk}$  – wydajność etanolu ze 100 g skrobi w badanym surowcu [g/100 g skrobi],  
 $Et$  – ilość etanolu w 1000 ml badanej próby [g],  $Sk$  – masa skrobi znajdującej się  
w 1000 ml próby fermentacyjnej [g];

4) wydajność etanolu ze 100 g suchej masy surowca ( $Y_{sm}$ ):

$$Y_{sm} = \frac{Et \times 100}{sm} \quad (4)$$

gdzie:  $Y_{sm}$  – wydajność etanolu ze 100 g suchej masy surowca [g/100 g suchej masy],  
 $Et$  – ilość etanolu w 1000 ml badanej próby [g],  $sm$  – zawartość suchej masy surowca  
znajdująca się w 1000 ml próby fermentacyjnej [g].



Rys. 1. Schemat przygotowania zacierów z odpadowego chleba pszenno-żytniego.

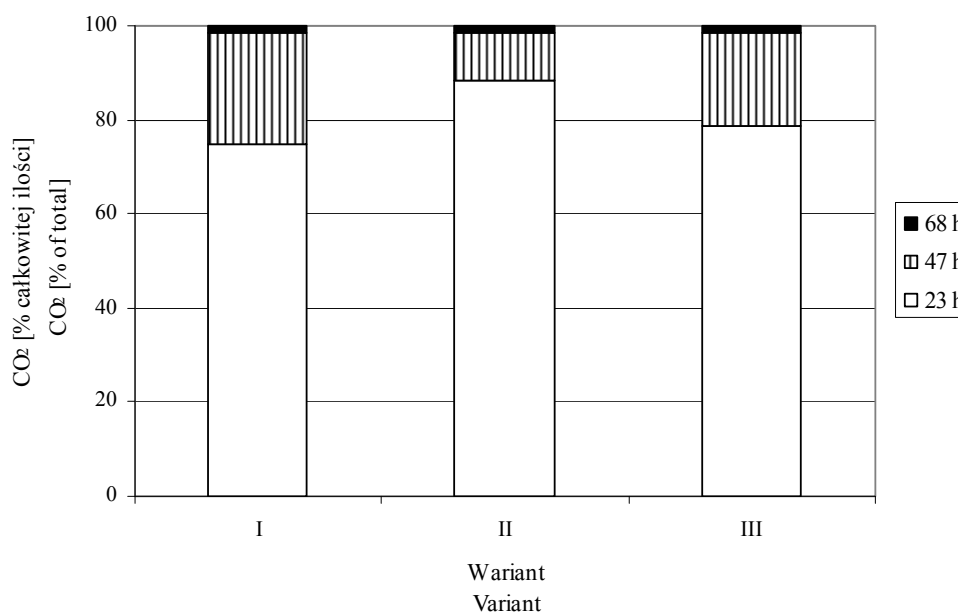
Fig. 1. Diagram showing the procedure of preparing waste wheat-rye bread mashes.

Po fermentacji kontrolowano stan fizjologiczny komórek drożdży metodą mikroskopową po wybarwieniu błękitem metylenowym [14] i porównano go ze stanem wyjściowym.

Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Obliczono wartości średnie oraz odchylenia standardowe z uzyskanych wyników.

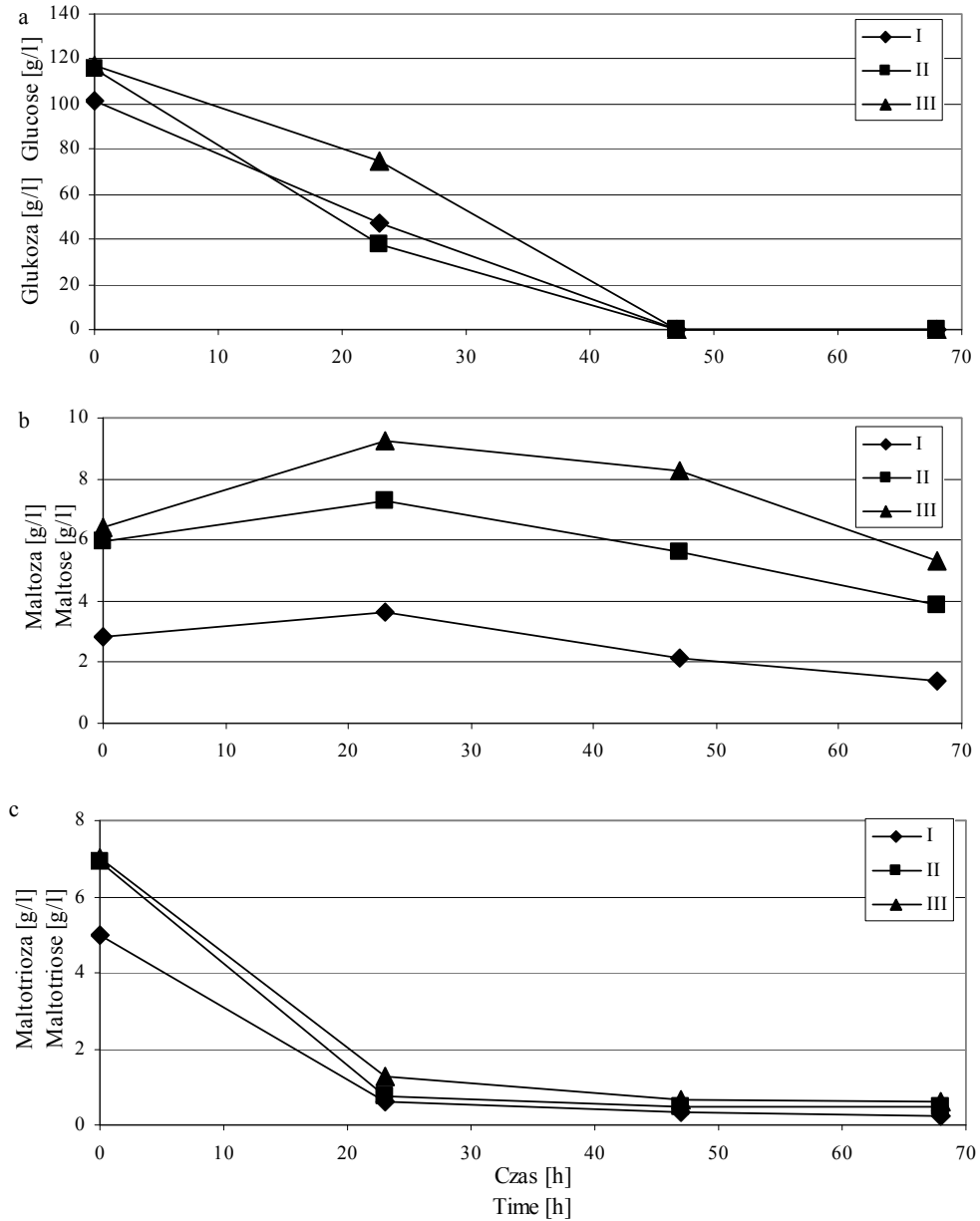
### Wyniki i dyskusja

Dynamikę procesu fermentacji badanych prób, wyrażoną jako procentowy udział wydzielonego  $\text{CO}_2$ , przedstawiono na rys. 2. We wszystkich badanych wariantach fermentacja najintensywniej przebiegała w trakcie pierwszej doby procesu. Największą ilość  $\text{CO}_2$  (88,3 %) po 23 h procesu drożdże wydzieliły w podłożu o 32 % zawartości surowca. Po drugiej dobie fermentacji ilość wydzielonego dwutlenku węgla była podobna w przypadku wszystkich badanych podłoży (ok. 98,5 % całkowitej ilości). Niezależnie od zawartości surowca w zacierach proces fermentacji zakończył się po 68 h.



Rys. 2. Dynamika wydzielania  $\text{CO}_2$  z prób fermentacyjnych przygotowanych z odpadowego chleba pszenno-żytniego o udziale surowca w zacierze: 28 % (I), 32 % (II) i 36 % (III).

Fig. 2. Dynamics of  $\text{CO}_2$  release from fermentation samples made of waste wheat-rye bread, with raw material content in mash being: 28 % (I), 32 % (II), and 36 % (III).

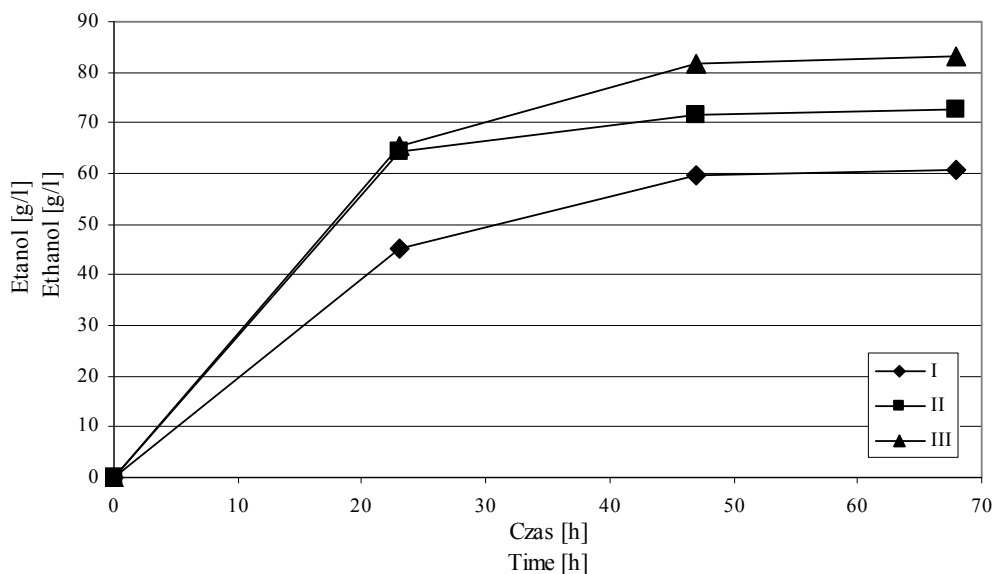


Rys. 3. Dynamika wykorzystania przez drożdże: glukozy (a), maltozy (b) i maltotriozy (c) w próbach fermentacyjnych przygotowanych z odpadowego chleba pszenno-żytniego o udziale surowca w zacierze: 28 % (I), 32 % (II) i 36 % (III).

Fig. 3. Utilization dynamics of glucose (a), maltose (b), and maltotriose (c) in fermentation samples made of waste wheat-rye bread, with raw material content in mash being: 28 % (I), 32 % (II), and 36 % (III).

Początkowe stężenie glukozy było najmniejsze w zacierze o 28 % zawartości surowca (rys. 3a). W pozostałych zacierach początkowe stężenie glukozy było zbliżone, pomimo różnego udziału w nich surowca. Drożdże wykorzystywały glukozę najwolniej w podłożu o największej zawartości surowca (wariant III). Po pierwszej dobie fermentacji stężenie glukozy w tym podłożu było większe o ponad 30 g/l w porównaniu z pozostałymi wariantami. Niezależnie od zawartości surowca w zacierach, drożdże odfermentowały dostępną glukozę po 48 h fermentacji. Stężenie maltozy w zacierze o 28 % zawartości surowca było dwukrotnie mniejsze w porównaniu z pozostałymi wariantami zacierów (rys. 3b). We wszystkich wariantach zacierów stwierdzono wzrost stężenia maltozy w pierwszej dobie fermentacji. Dopiero po drugiej dobie procesu nastąpiło zmniejszenie stężenia maltozy, natomiast tempo jej wykorzystywania było powolne. Po zakończeniu fermentacji we wszystkich badanych podłożach pozostały znaczne ilości nieprzefermentowanej maltozy (od 1,4 do 5,3 g/l).

Zawartość maltotriozy kształtowała się na poziomie od 5 - 7 g/l (rys. 3c). Po 23 h fermentacji nastąpiło zmniejszenie stężenia tego cukru o ok. 85 % w porównaniu z ilościami wyjściowymi. Do końca procesu nie nastąpiła istotna zmiana stężenia maltotriozy we wszystkich badanych próbach.



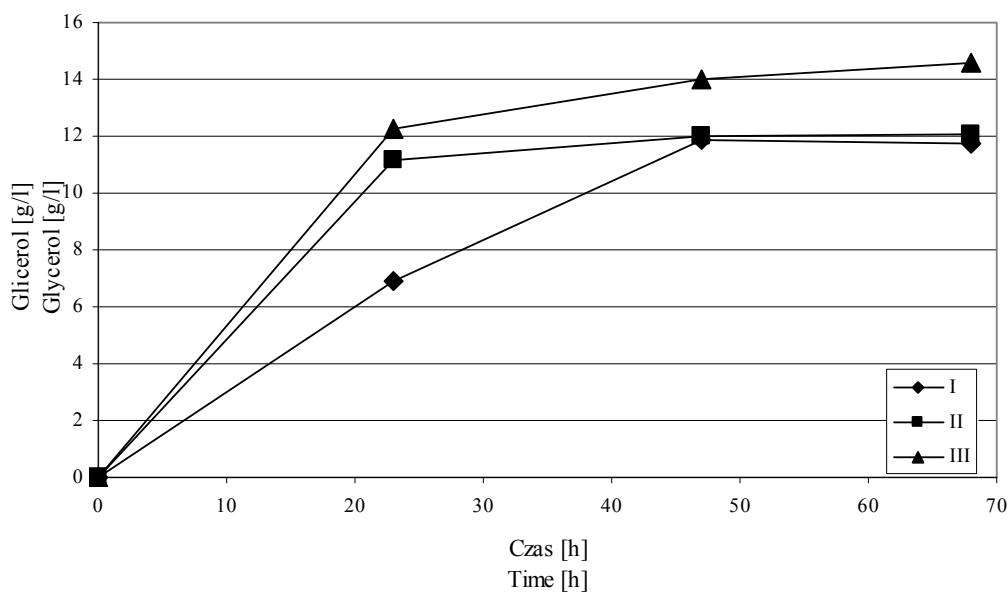
Rys. 4. Dynamika wytwarzania przez drożdże etanolu w podłożach przygotowanych z odpadowego chleba pszenno-żytniego o udziale surowca w zacierze: 28 % (I), 32 % (II) i 36 % (III).

Fig. 4. Ethanol production dynamics by yeast in media made of waste wheat-rye bread, with raw material content in mash being: 28 % (I), 32 % (II), and 36 % (III).

W trakcie pierwszej doby fermentacji ilość wytworzonego etanolu w zacierach o zawartości surowca 32 i 36 % była podobna i wynosiła ok. 65 g/l, podczas gdy w wariacie I (28 % surowca w zacierze) stężenie wytworzonego etanolu było mniejsze o ok. 20 g/l (rys. 4). Szybkość wytwarzania etanolu w badanych podłożach zmalała w drugiej dobie procesu. Po trzeciej dobie fermentacji nie obserwowano istotnych zmian stężenia etanolu w próbach.

W zacierach o zawartości surowca 32 i 36 % podczas pierwszej doby procesu wytworzyło się ok. 80 % całkowitej ilości glicerolu (rys. 5). Do zakończenia fermentacji tych prób stężenie wytworzonego glicerolu wzrosła odpowiednio o 1 i 2 g/l. W przypadku podłoża o zawartości 28 % surowca całkowita ilość glicerolu została wytworzona po 47 h fermentacji.

Podczas fermentacji powstawały także kwasy organiczne: bursztynowy i octowy (rys. 6). Wzrost koncentracji kwasu bursztynowego obserwowano w każdej dobie procesu. Końcowe jego stężenie kształtowało się na poziomie od 1,2 do 2,5 g/l i było największe w wariantach II i III. Całkowita ilość kwasu octowego została wytworzona w pierwszym dniu procesu i nie uległa istotnym zmianom do końca fermentacji.

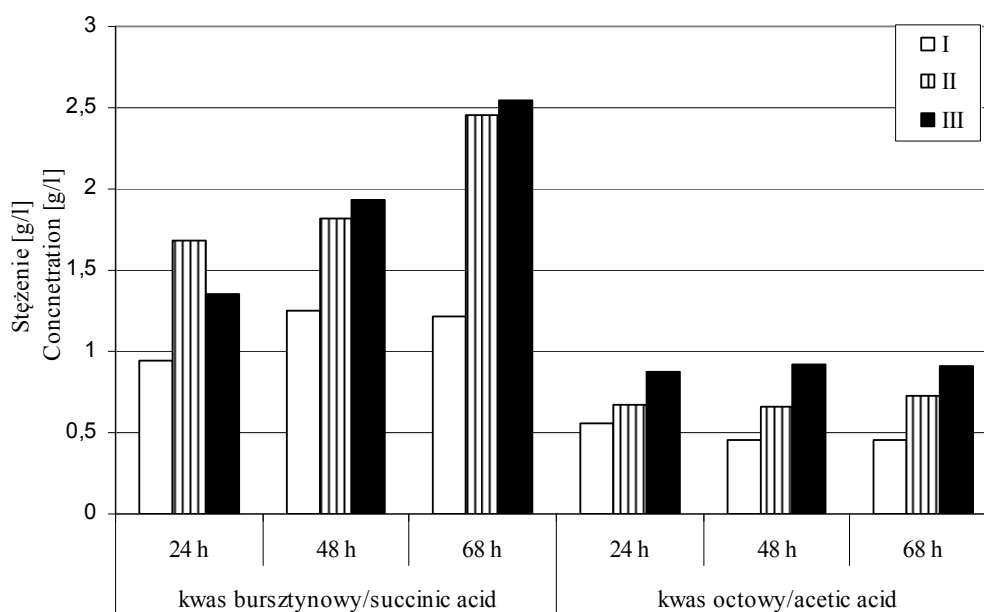


Rys. 5. Dynamika wytwarzania przez drożdże glicerolu w próbach fermentacyjnych przygotowanych z odpadowego chleba pszenno-żytniego o udziale surowca w zacierze: 28 % (I), 32 % (II) i 36 % (III).

Fig. 5. Glycerol production dynamics by yeast in fermentation samples made of waste wheat-rye bread, with raw material content in mash being: 28 % (I), 32 % (II), and 36 % (III).



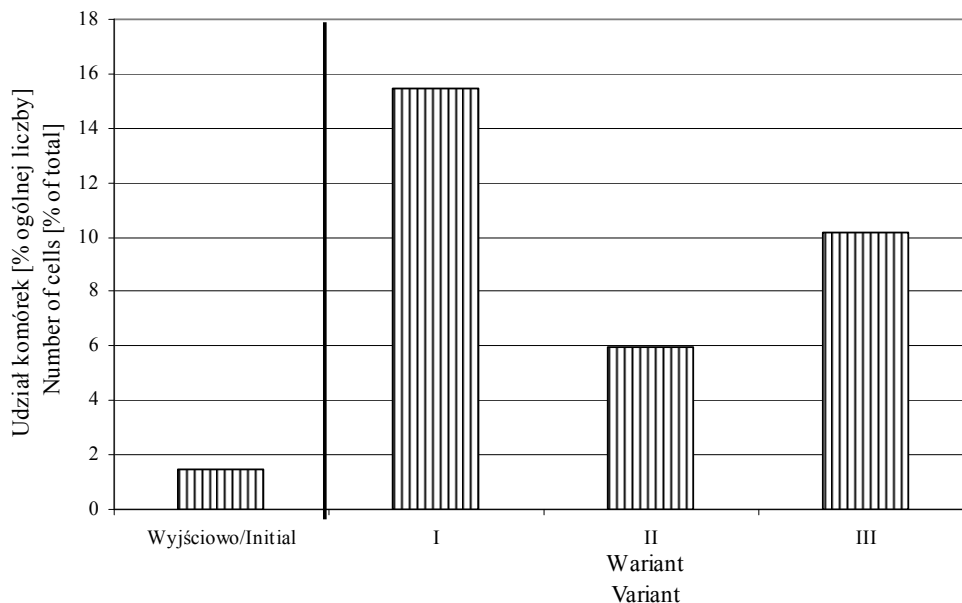
Użyty szczep drożdży *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red charakteryzował się dobrym stanem fizjologicznym przez rozpoczęciem fermentacji (rys. 7). Po zakończeniu procesu stwierdzono wzrost udziału komórek nieaktywnych. Biomasa drożdży w podłożu o 28 % zawartości surowca charakteryzowała się najwyższym udziałem komórek wybarwionych błękitem metylenowym (ponad 15 %). Najbardziej zadowalającym stanem fizjologicznym charakteryzowały się drożdże w podłożu o zawartości surowca 32 %. Udział komórek nieaktywnych w tych podłożach był ponad dwukrotnie niższy w porównaniu z wariantem I.



Rys. 6. Zmiany stężenia kwasu bursztynowego i octowego w trakcie fermentacji prób przygotowanych z odpadowego chleba pszenno-żytniego o udziale surowca w zacierze: 28 % (I), 32 % (II) i 36 % (III).

Fig. 6. Changes in concentration rates of succinic and acetic acid during fermentation of samples made of waste wheat-rye bread, with raw material content in mash being: 28 % (I), 32 % (II), and 36 % (III).

Końcowe parametry wydajności fermentacji badanych podłoży przedstawiono w tab. 1. Największą wydajność procesu uzyskano po fermentacji zacieru o zawartości surowca 36 %, wynosiła ona 71,30 % wydajności teoretycznej. Z niewiele mniejszą wydajnością praktyczną (70,18 %) zakończyła się fermentacja zacieru w wariacie II. Wydajność procesu fermentacji zacieru o zawartości 28 % surowca (I) była znacznie mniejsza w porównaniu z pozostałymi wariantami.



Rys. 7. Udział nieaktywnych komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red w podłożach fermentacyjnych przygotowanych z odpadowego chleba pszenno-żytniego o udziale surowca w zacierze: 28 % (I), 32 % (II) i 36 % (III).

Fig. 7. Content of inactive *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red yeast cells in fermentation media made of waste wheat-rye bread, with raw material content in mash being: 28 % (I), 32 % (II), and 36 % (III).

Tabela 1

Wydajność etanolu po zakończeniu fermentacji zacierów otrzymanych z odpadowego chleba pszenno-żytniego.

Ethanol yield after completed fermentation of mashes made of waste wheat-rye bread.

Wariant Variant	Stężenie zacieru Mash concentration rate [%]	Wydajność Yield			
		[g EtOH/100 g surowca] [g EtOH/100 g raw material]	[g EtOH/100 g skrobi] [g EtOH/100 g starch]	[g EtOH/100 g suchej masy] [g EtOH/100 g dry mass]	Yp [%]
I	28	21,68 ± 2,16	38,03 ± 3,80	23,38 ± 2,34	66,95 ± 6,68
II	32	22,72 ± 1,02	39,86 ± 1,79	24,86 ± 1,12	70,18 ± 3,16
III	36	23,08 ± 1,84	40,50 ± 3,24	25,47 ± 2,04	71,30 ± 5,70

Wartość średnia ± odchylenie standardowe / Mean value ± standard deviation; n = 3

Z uwagi na rosnące zapotrzebowanie na etanol paliwowy konieczne jest poszukiwanie nowych, tanich surowców do jego produkcji. Na podstawie wyników uzyskanych w niniejszej pracy można stwierdzić, że odpadowy chleb pszenno-żytni porażony pleśnią może zostać zagospodarowany do produkcji bioetanolu.

Dobór odpowiedniego stężenia zacierów jest jedną z podstawowych metod optymalizacji produkcji etanolu. Zwiększanie stężenia surowca pozwala na pełniejsze wykorzystanie możliwości przerobowych gorzelni oraz uzyskiwanie większych wydajności procesu [20]. Podczas fermentacji zacierów o wysokiej zawartości ekstraktu (technologia VHG) może nastąpić zmniejszenie dynamiki procesu [5]. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że optymalna zawartość surowca w podłożu (zacierze) otrzymanym z odpadowego chleba wynosiła 32 % (II). Proces fermentacji zacieru II charakteryzował się najlepszą dynamiką, dużą wydajnością oraz relatywnie małą zawartością produktów ubocznych. Ponadto w biomacie drożdży z podłoża II oznaczono najmniejszą ilość komórek nieaktywnych, co było prawdopodobnie skutkiem najszybszego zafermentowania tych prób przez drożdże. Na uwagę zasługuje również to, że zwiększenie zawartości surowca do 36 % nie wpłynęło na wzrost stężenia węglowodanów w podłożu. Prawdopodobną przyczyną tego zjawiska może być powstawanie kompleksów skrobi z innymi składnikami mąki w trakcie wypieku i czerstwienia chleba [3, 16, 19], co mogło utrudniać hydrolizę skrobi podczas zacierania. Rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie dodatkowych preparatów enzymatycznych hydrolizujących białka oraz polisacharydy nieskrobiowe. Jak wynika z badań przeprowadzonych w Zakładzie Technologii Fermentacji Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, dodatek preparatów zawierających proteazy, hemicelulazy i pentozanazy poprawia dynamikę i wydajność fermentacji zacierów otrzymanych z odpadowego chleba [dane niepublikowane].

Jak wykazali Ebrahimi i wsp. [8], wydajność etanolu uzyskana z fermentacji zacierów o stężeniu 20 % przygotowanych z chleba pszennego wynosi 35 g/100 g suchej masy surowca. W niniejszej pracy uzyskano znacznie mniejsze wydajności procesu. Spowodowane było to prawdopodobnie użyciem surowca w znacznym stopniu porażonego pleśnią. Podczas wzrostu grzyby strzępkowe wykorzystują część węglowodanów dostępnych w chlebie we własnym szlaku metabolicznym. Ponadto wytwarzane przez pleśnie mikotoksyny mogą negatywnie wpływać na wzrost i aktywność fermentacyjną drożdży w trakcie fermentacji [6, 9]. W związku z tym zwiększanie stężenia surowca porażonego przez pleśń może spowodować zwiększenie ilości mikotoksyn do poziomu, w którym nastąpi obniżenie aktywności drożdży w trakcie fermentacji.

Zapotrzebowanie na tanie surowce do produkcji etanolu wzrasta, stąd celowe jest wykorzystywanie do tego celu chleba odpadowego. Z uwagi na obniżoną jakość surowca konieczne są dalsze badania mające na celu optymalizację jego wykorzysta-

nia ze szczególnym uwzględnieniem etapu przygotowania do prowadzenia fermentacji.

### Wnioski

1. Odpadowy chleb pszenno-żytni może zostać wykorzystany do produkcji bioetanolu. Wydajność procesu oraz ilość wytwarzanych produktów ubocznych uzależniona była od zawartości surowca w zacierach. Najmniejszą wydajność procesu (66,95 %) uzyskano w przypadku prób o 28 % zawartości surowca w zacierze. Wydajność fermentacji pozostałych podłoży była podobna (ponad 70 %).
2. Czas fermentacji zacierów otrzymanych z chleba porażonego pleśnią wynosił 68 h, niezależnie od zawartości surowca. Największą dynamikę procesu fermentacji stwierdzono w przypadku zacieru o 32 % zawartości surowca.
3. Zwiększenie zawartości surowca powyżej 32 % nie spowodowało zwiększenia ilości dostępnych w zacierach węglowodanów. Wykorzystanie cukrów przez drożdże w trakcie fermentacji przebiegało najintensywniej w próbach o zawartości surowca 28 i 32 %.
4. Z uwagi na dużą wydajność fermentacji, szybkie zafermentowanie oraz relatywnie małą ilość wytworzonych produktów ubocznych, za optymalną zawartość odpadowego chleba pszenno-żytniego w zacierach gorzelnicznych uznano 32 %.

### Literatura

- [1] Analytica – EBC, Verlag Hans Carl Getränke – Fachverlag, Nürnberg 1998.
- [2] BS EN ISO 10520:1998. Native starch. Determination of starch content. Ewers polarimetric method, ISBN: 0 580 30395 0.
- [3] Buksa K., Nowotna A., Praznik W., Gambuś H., Ziobro R., Krawontka J.: The role of pentosans and starch in baking wholemeal rye bread. *Food Res. Int.*, 2010, **43**, 2045-2051.
- [4] Chemielewska J., Kawa-Rygielska J., Zięba T.: Ethanol fermentation of maize mashes. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57**, 85-89.
- [5] Devantier R., Scheithauer B., Villas-Boas S.G., Pedersen S., Ollson S.: Metabolite profiling for analysis of yeast stress during very high gravity ethanol fermentations. *Biotechnol. Bioeng.*, 2005, **6**, 703-714.
- [6] Dziuba E., Foszczyńska B., Stempniewicz R.: Effect of mycotoxins DAS, ZEA and OTA on the growth of brewing yeast. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **4(A)**, 123-129.
- [7] Dziugan P.: Zagospodarowanie pieczywa ze zwrotów metodą fermentacji w zakwasie. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2009, **3**, 12-15.
- [8] Ebrahimi F., Khanahmadi M., Roodpeyma S., Taherzadeh M.J.: Ethanol production from bread residues. *Biomass Bioenerg.*, 2008, **32**, 333-337.
- [9] Kawa-Rygielska J., Chemielewska J., Płaskowska E.: Effect of raw material quality on fermentation activity of distillery yeast. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **4(B)**, 275-279.
- [10] Kawa-Rygielska J., Pietrzak W.: Badania nad przydatnością odpadów przemysłu piekarniczego do produkcji bioetanolu. *Przem. Chem.*, 2011, **90**, 1269-1272.

- [11] Kłosowski G.: Teoretyczne podstawy wzrostu wydajności alkoholu przy zastosowaniu metody beczciśnieniowego uwalniania skrobi (BUS). Mat. IV Semin. nt.: "Aktualne problemy gorzelnictwa rolniczego", Bydgoszcz, 1998, ss. 47-50.
- [12] Kownacki J., Gubała W.: Wykorzystanie niesprzedanego pieczywa – to ciągły problem. Przegl. Piek. Cuk., 2006, **9**, 34-36.
- [13] Kwiatkowski J.R., McAloon A.J., Taylor F., Johnston D.B.: Modeling the process and costs of fuel ethanol production by the corn dry-grind process. Ind. Crop. Prod., 2006, **23**, 288-296.
- [14] Libudzisz Z., Kowal K.: Mikrobiologia techniczna: mikroorganizmy i środowiska ich występowania. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2008.
- [15] Produkcja ważniejszych wyrobów przemysłowych. Dane GUS 2010. www.gus.pl
- [16] Ribotta P.D., Le Bail A.: Thermo-physical assessment of bread during staling. LWT- Food Science and Technology, 2007, **40**, 879-884.
- [17] Solarek L.: Kleikowanie i upłynnianie surowców skrobiowych niesłodowanych z zastosowaniem enzymów mikrobiologicznych Novozymes. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2001, **12**, 10.
- [18] Staszewska E.: Zwroty pieczywa i ich zagospodarowanie. Przegl. Piek. Cuki., 2008, **10**, 34-35.
- [19] Szajewska A., Ceglińska A.: Czerstwienie Pieczywa. Przegl. Piek. Cuk., 2004, **4**, 6-7.
- [20] Thomas K.C., Ingledew W.M.: Production of 21 % (v/v) ethanol by fermentation of very high gravity (VHG) wheat mashes. J. Indust. Microb., 1992, **10**, 61-68.

## UTILIZATION OF WASTE BREAD FOR BIOETHANOL PRODUCTION

### S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the technological usefulness of highly mould-contaminated waste wheat-rye bread as a raw material in the production of bioethanol.

The research material was a waste wheat rye-bread (returned by shops after the expiration of its shelf life) showing superficial mould contamination spots. Waste bread fermentation media were produced using a mashing procedure based on an energy-saving pressure-less starch release method. The obtained mashes containing 28 (I), 32 (II), and 36 (III) [% (w/w)] of the raw material were inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red yeast and fermented using a periodic method. Determined were the dynamics of fermentation, carbohydrate profiles of the mashes (by a HPLC method), and changes in the concentration rate of substrates and in the quantity of metabolites (ethanol, glycerol, succinic acid, and ethanoic acid) produced during the fermentation process. The physiological condition of yeast cells was evaluated prior to and after the fermentation using a microscopic technique. On the basis of the results obtained, the yield parameters of the ethanol fermentation process were computed and the technological usefulness of the raw material studied was assessed.

It was found that the fermentation process of mashes lasted 68 h regardless of the quantity of raw material therein. The mashes containing 32 % of raw material showed the best process dynamics. The initial concentration rate of sugars (glucose, maltose, and maltotriose) was higher in the mashes with a higher content of raw material. During the fermentation, the yeast utilized almost all of the carbohydrates available. In the fermentation liquids, typical fermentation by-products were found (glycerol, succinic acid, and acetic acid). The highest concentration rate of glycerol (14.56 g/l) was determined in the sample containing 36 % of raw material (III). The concentration rate of ethanol produced by the yeast in the media studied was 60.7 g/l (I), 72.7 g/l (II), and 83.1 g/l (III). The highest process yield (ca. 70 %) was obtained while fermenting mashes containing 32 and 36 % of raw material. After the fermentation completed, the

yeasts used were characterized by a higher content of inactive cells compared to the initial biomass. Based on the results obtained, it was concluded that the optimal content of wheat-rye bread in the mash was 32 %.

**Key words:** wheat-rye bread, mash, fermentation, bioethanol 