

JACEK NOWAK, BARBARA GÓRNA, WŁODZIMIERZ NOWAK

WYKORZYSTANIE GRZYBÓW STRZĘPKOWYCH DO BIODEGRADACJI ŚCIEKÓW Z PRZEMYSŁU ZIEMNIACZANEGO Z JEDNOCZESNĄ PRODUKCJĄ BIOMASY PLEŚNIOWEJ NA CELE PASZOWE

Streszczenie

W badaniach użyto trzech szczepów grzybów strzępkowych: *Aspergillus oryzae* 448, *Aspergillus niger* 334, *Rhizopus oligosporus* 2710 do biodegradacji wysoko obciążonych ścieków z przemysłu ziemniaczanego. Ściek pochodził ze stacji odzyskania białka, z wód sokowych ziemniaków (ściek odbiałczony). Oczyszczanie ścieku prowadzono przez 48 i 72 h w fermentorze laboratoryjnym Biostat B o pojemności roboczej 1,5 l. Podczas 72-godzinnej fermentacji *A. oryzae* 448 spowodował 70-procentową redukcję chemicznego zapotrzebowania tlenu (ChZT). Oczyszczenie ścieku przez szczepy *A. niger* i *R. oligosporus* było na zbliżonym poziomie i wynosiło odpowiednio 58 i 52 %. Biodegradacja ścieku ziemniaczanego po zastosowaniu wybranych pleśni spowodowała bardzo dużą redukcję pierwiastków biogenych. W przypadku fosforu ogólnego korzystne okazało się prowadzenie 48-godzinnej hodowli szczepu *R. oligosporus* 2710, podczas której uzyskano 82,6-procentową redukcję zawartości tego pierwiastka w ścieku. Z kolei największe odfermentowanie związków azotowych – o 83 % – nastąpiło podczas 72-godzinnej fermentacji z udziałem *A. oryzae* 448. Niezależnie od rodzaju testowanych pleśni, największą ilość biomasy pleśniowej uzyskano podczas 48-godzinnej fermentacji. Największą produktywnością biomasy wykazał się szczep *A. niger* 334 (13,2 g s.m./l ścieku). Wytworzona biomasa charakteryzowała się dużą zawartością białka (42 - 44 %) i wysoką energetyczną wartością paszową.

Słowa kluczowe: ścieki ziemniaczane, grzyby strzępkowe, ChZT, pierwiastki biogenne, biodegradacja, biomasa pleśniowa

Wprowadzenie

Grzyby strzępkowe spełniają ważną rolę w przemyśle spożywczym. Na ogół rozwijają się na powierzchni produktu, dlatego postrzegane są jako mikroorganizmy, które

Prof. dr hab. J. Nowak, mgr inż. B. Górna, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań, prof. dr hab. W. Nowak, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej, Wydz. Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań

są przyczyną psucia się żywności. Oprócz szkodliwej działalności można wymienić przykłady ich pozytywnego i celowego wykorzystania w produkcji żywności [3]. Należą do nich: enzymy, witaminy, kwasy organiczne i lipidy [2, 3].

Zastosowanie grzybów mikroskopowych do produkcji żywności przyczynia się bardzo często do nadawania wyrobom specyficznych cech sensorycznych i reologicznych. Pleśnie znalazły zastosowanie w produkcji serów (*Penicillium* i *Geotrichum*) i w produkcji żywności fermentowanej w krajach południowo-wschodniej Azji (*Rhizopus*, *Aspergillus*) [14].

Podstawowym wymogiem stawianym wszystkim mikroorganizmom wykorzystywanym na cele spożywcze i przemysłowe jest ich udokumentowane całkowite bezpieczeństwo dla zdrowia człowieka. Powinny być one również nieszkodliwe dla środowiska, szczególnie dla zwierząt i roślin [24].

W przemyśle spożywczym w Polsce zużywa się znaczne ilości wody, w wyniku czego powstaje duża ilość ścieków o bardzo zmiennym składzie. Zakłady branży spożywczej są zazwyczaj źródłem ścieków o dużym ładunku zanieczyszczeń, obejmujących substancje rozpuszczone w wodzie i substancje koloidalne lub zawiesiny, reprezentowane przez związki organiczne (białko, tłuszcze) i nieorganiczne (chlorki, azotany, siarczany, fosforany i inne) [9]. Jakość i zróżnicowanie ścieków wytwarzanych w zakładach przetwórstwa ziemniaków zależy od profilu produkcji w konkretnym zakładzie oraz od stosowanych procesów przetwórczych. Najważniejszymi wskaźnikami zanieczyszczeń w ściekach z zakładów przetwórstwa ziemniaków i produkcji skrobi są: chemiczne zapotrzebowanie tlenu, zawiesiny, azot i fosfor. Ścieki te często charakteryzują się znacznym, ale zmiennym udziałem zanieczyszczeń rozpuszczalnych. Zróżnicowany jest także skład chemiczny ścieków powstałych w kampanii jesiennej i wiosennej [20].

Grzyby *Rhizopus oligosporus* mają zastosowanie w produkcji żywności fermentowanej typu tempeh. Grzyb ten jest zdolny do rozkładu skrobi. W związku z tym istnieje możliwość zastosowania go do biodegradacji ścieków zawierających skrobię. Jednak badania dotyczące możliwości zastosowania grzybów strzępkowych w oczyszczaniu ścieków pochodzących z przetwórstwa ziemniaków, w szczególności tych pochodzących z kwasowo-termicznego wydzielenia białka z wód sokowych, są nieliczne, więc podjęto próbę oceny skuteczności zastosowania grzybów strzępkowych w procesie biodegradacji tego typu ścieków.

Celem pracy było określenie zdolności wybranych pleśni do oczyszczania ścieków wysoko obciążonych, pochodzących z przemysłu ziemniaczanego. Ponadto podjęto próbę określenia ilości wytworzonej podczas biodegradacji biomasy i jej wartości paszowej.

Material i metody badań

Do badań zastosowano szczepy pleśni: *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710, *Aspergillus niger* NRRL 334 i *Aspergillus oryzae* NRRL 448 pochodzące z Northern Regional Research Laboratory (Peoria, USA).

Grzyby namnażano i przechowywano na podłożu glukozowo-ziemniaczano-agarowym (PDA) w temp. 30 °C lub 37 °C przez 48 - 72 h, w zależności od zastosowanego szczepu. Materiałem doświadczalnym był ściek pochodzący z Wielkopolskiego Przedsiębiorstwa Przemysłu Ziemniaczanego w Stawach koło Poznania. Do celów badawczych wykorzystano ściek pobrany ze stacji odzyskiwania białka z wód sokowych ziemniaków (ściek odbiałczony). Powstaje on po procesie wytrącania białka z wód sokowych w wyniku przeprowadzenia koagulacji kwasowo-termicznej. Przeprowadzono hodowlę wybranych szczepów grzybów z użyciem bioreaktora laboratoryjnego Biostat B. (Braun, Niemcy). Procesy biodegradacji w bioreaktorze prowadzono w następujących warunkach: pojemność robocza 1,5 l ścieku, napowietrzanie – 1 l powietrza/min, mieszanie – 120 rpm, przy pH początkowym w zakresie 5,35 - 5,45, temp. 37 °C. Ściek sterylizowano wraz z naczyniem fermentacyjnym w autoklawie, w temp. 121 °C przez 40 min i po ostygnięciu zaszczepiano inokulum w ilości 10 % (v/v). Inokulum stanowił zmyw badanego szczepu pleśni ze skosu PDA. Inokulum stanowiła 24-godzinna hodowla poszczególnych szczepów. Po odfermentowaniu próby wirowano przy 1409 · g przez 10 min.

W supernatancie oznaczano:

- zawartość substancji redukujących w przeliczeniu na glukozę. Oznaczenie wykonywano metodą z kwasem 3,5 DNS [12]. Metoda polega na redukcji kwasu 3,5-dinitrosalicylowego do kwasu 3,5-dwuaminosalicylowego ze zmianą barwy. Pomiaru spektrofotometrycznego dokonywano przy długości fali $\lambda = 530$ nm,
- chemiczne zapotrzebowanie tlenu (ChZT) – metodą dwuchromianową zgodnie z PN-ISO 6060:2006 [16],
- zawartość suchej masy – metodą suszarkową, a wydajność tworzącej się biomasy grzybowej wyrażano w gramach suchej masy na 1 l podłoża hodowlanego (g s.m./l) [23],
- zawartość fosforu ogólnego – przy użyciu testów kuwetowych dr Lange LCK 350 – zasada oznaczenia polega na przeprowadzeniu za pomocą mineralizacji wszystkich połączeń fosforu, obecnych w badanej próbce, w ortofosforany i następnie ich pomiarze w fotometrze spektralnym Cadas 30s. Wyniki wyrażano w mg/l [25],
- zawartość azotu ogólnego – przy użyciu testów kuwetowych dr Lange LCK 338 – azot związany w związkach organicznych i nieorganicznych utleniało za pomocą nadsiarczanu zawartego w kuvecie reakcyjnej do azotanów(V); jony azotowe w środowisku kwasu siarkowego i fosforowego reagują z 2,6-dimetylofenolem

tworząc 4-nitro-2,6-dimetylofenol. Pomiaru dokonywano przy użyciu fotometru spektralnego Cadas 30s i wyrażano w mg/l [25].

W drugim etapie badań podjęto próbę scharakteryzowania uzyskanych biomas pleśniowych. Biomase pleśniową z bioreaktora po zakończeniu procesu biodegradacji przenoszono ilościowo na sito i przemywano wodą destylowaną, a następnie suszono. W uzyskanej biomacie oznaczano:

- suchą substancję – metodą suszarkową [23],
- popiół surowy – uzyskaną zawartość popiołu wyrażano w % s.m. [23],
- białko ogólne – metodą Kjeldahla [17],
- strawność białka *in vitro* – metodą pepsynowo-pankreatynową [23],
- tłuszcz surowy – metodą Soxhleta [23],
- włókno surowe – metodą Henneberga i Stohmana [4].

W kolejnym etapie badań dokonano oceny energetycznej przydatności paszowej uzyskanych biomas dla trzody chlewnej i bydła. Przy ocenie wartości pokarmowej pasz dla świń stosuje się wskaźnik energii metabolicznej wyrażonej w MJ na 1 kilogram suchej substancji. W przypadku bydła jednym z najpowszechniej stosowanych wskaźników energetycznych są jednostki paszowe produkcji mleka (JPM) lub jednostki paszowe produkcji żywca (JPŻ) (system INRA). Jedna jednostka JPM stanowi 1700 kcal energii netto laktacji, natomiast jednostka JPŻ odpowiada 1820 kcal energii netto żywca [26]. W JPM wyrażone są potrzeby krów mlecznych, jałówek hodowlanych i buhajów oraz bydła rzeźnego w opasie ekstensywnym, a w JPM – potrzeby pokarmowe bydła rzeźnego w opasie intensywnym [19].

Wyniki i dyskusja

Przed przystąpieniem do oceny zdolności grzybów strzępkowych do biodegradacji ścieków przemysłu ziemniaczanego dokonano charakterystyki składu chemicznego surowego ścieku odbiałzonego (tab. 1).

Przeprowadzono hodowle bioreaktorowe 48- i 72-godzinne bez regulacji pH. Ze względów ekonomicznych zrezygnowano z regulacji pH w prowadzonych procesach. W przypadku wszystkich przeprowadzonych hodowli zaobserwowano wzrost wartości pH, z początkowego zakresu 5,35 - 5,45 do pH równego 7,8 - 9,4 po 72 h hodowli. Przebieg zmian pH był zbliżony we wszystkich prowadzonych hodowlach, niezależnie od zastosowanych szczepów grzybów strzępkowych (tab. 2).

Jednym z najistotniejszych parametrów charakteryzujących stopień oczyszczenia ścieków jest wskaźnik chemicznego zapotrzebowania tlenu. Zmiany tego wskaźnika były różne w zależności od czasu prowadzenia procesu biodegradacji, jak również od rodzaju użytego szczepu grzybów. Stwierdzono, że 72-godzinny proces pozwolił na uzyskanie wyższego stopnia redukcji ChZT aniżeli 48-godzinna hodowla. Najwyższą,

70-procentową redukcję wskaźnika ChZT uzyskano w 72-godzinnej hodowli szczepu *A. oryzae* 448, natomiast w przypadku szczepów *A. niger* 334 i *R. oligosporus* 2710 poziom redukcji był zbliżony i wyniósł odpowiednio 58 i 52 % (tab. 3).

Tabela 1

Charakterystyka ścieku odbiałzonego.
Chemical profile of deproteinized wastewater.

pH	Zawartość suchej masy Dry matter content [g s.m./l] $\bar{x} \pm s / SD$	Zawartość substancji redukujących Content of reducing substances [g/l] $\bar{x} \pm s / SD$	ChZT / COD [mgO ₂ /l] $\bar{x} \pm s / SD$	Zawartość fosforu Phosphate content [mg/l] $\bar{x} \pm s / SD$	Zawartość azotu Nitrogen content [mg/l] $\bar{x} \pm s / SD$
5,30	31,17 ± 5,41	4,392 ± 0,031	4120 ± 283,84	1018	3886

Objaśnienie: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s / SD$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation.

Tabela 2

Wartości pH ścieku po hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.
pH values of wastewater after cultivation with use of filamentous fungi.

Czas procesu Process duration time [h]	pH		
	<i>A. oryzae</i> 448	<i>A. niger</i> 334	<i>R. oligosporus</i> 2710
0	5,35	5,45	5,36
48	8,32	6,70	7,84
72	9,45	9,35	7,86

Tabela 3

Wyniki redukcji wskaźnika ChZT w ścieku po hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.
Results of COD reduction in wastewater after cultivation with use of filamentous fungi

Czas procesu Process duration time [h]	Redukcja wskaźnika ChZT COD reduction [%]		
	<i>A. oryzae</i> 448	<i>A. niger</i> 334	<i>R. oligosporus</i> 2710
48	41	24	28
72	70	58	52

Jin i wsp. [6] wykazali, że szczep *R. oligosporus* DAR 2710 był zdolny do redukcji ChZT ścieku krochmalniczego o 97 %. Z kolei mieszana kultura *R. oligosporus*

DAR 2710 i *A. oryzae* 3699 pozwoliła na redukcję ChZT o ponad 95 % [8]. Zastosowany w niniejszej pracy ściek był dużo bardziej oporny na procesy biodegradacji ze względu na skład chemiczny. Mishra i wsp [10], stosując kultury mieszane grzybów strzępkowych *A. niger* ITCC 2021 i *A. foetidus* MTTC 508 do oczyszczania ścieków pochodzących z produkcji chipsów ziemniaczanych, zaobserwowali zwiększenie redukcji ChZT w przypadku hodowli mieszanej, w stosunku do hodowli pojedynczych szczepów. Każdy z poszczególnych szczepów zmniejszył ChZT o 60 %, natomiast hodowla mieszana – o 90 %.

Dynamika wykorzystania cukrów redukujących z podłoża hodowlanego była zbliżona dla wszystkich testowanych mikroorganizmów. W hodowli 72-godzinnej najwyższym stopniem wykorzystania substancji redukujących (90 %) charakteryzował się szczep *R. oligosporus* 2710. W przypadku hodowli 48-godzinnych najefektywniejszym szczepem był *A. niger* 334. Jego stopień wykorzystania substancji redukujących oznaczonych wprost wyniósł 88 % (tab. 4).

Tabela 4

Stopień wykorzystania substancji redukujących w ścieku po hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.
Degree of utilization of reducing substances in wastewater after cultivation with use of filamentous fungi.

Czas procesu Process duration time [h]	Wykorzystanie subst. red. / Utilization of reducing substances [%]		
	<i>A. oryzae</i> 448	<i>A. niger</i> 334	<i>R. oligosporus</i> 2710
48	86,41	87,94	85,17
72	88,61	84,85	90,04

Przeprowadzone procesy biodegradacji ścieku z przemysłu ziemniaczanego pozwoliły na uzyskanie znacznej redukcji zawartości pierwiastków biogenych. W przypadku fosforu ogólnego korzystna okazała się hodowla 48-godzinna przy użyciu szczepu *R. oligosporus* 2710, w wyniku której redukcji uległo 83,2 % zawartości tego pierwiastka w ścieku. Niższy stopień redukcji fosforu otrzymano w hodowli 72-godzinnej. Kształtował się on w granicach 57,4 % w przypadku *R. oligosporus* 2710. Z kolei 72-godzinny proces biodegradacji ścieku powodował większą redukcję azotu ogólnego. Największe wykorzystanie tego pierwiastka biogenego zaobserwowano podczas hodowli z użyciem *A. oryzae* 448. Pleśń ta powodowała redukcję azotu ogólnego w ścieku o około 82 % (tab. 5).

Jin i wsp. [7] wykazali, że mieszana kultura *R. oligosporus* DAR 2710 i *A. oryzae* 3699 w hodowli bioreaktorowej zdolna jest usunąć ok. 75 % fosforu ogólnego i azotu ogólnego ze ścieków pochodzących z zakładu produkującego skrobię i gluten z kukurydzy i pszenicy. Kida i wsp. [8] zaobserwowali ubytek zawartości fosforu o 80 % przy

zastosowaniu szczepu *A. awamori* do biodegradacji ścieków z produkcji shochu z ryżu. Natomiast *R. oryzae* AS 3254 zdolny był do redukcji zawartości azotu o 50,3 % podczas hodowli 30-godzinnej w ścieku pochodzącym z przetwórstwa ryb morskich [5]. Ilość wytworzonej biomasy w poszczególnych hodowlach ścieku ziemniaczanego różniła się w zależności od zastosowanych szczepów, jak i od czasu prowadzenia procesu oczyszczania. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów stwierdzono, że 48-godzinny proces hodowli był wystarczający, aby uzyskać największą ilość biomasy pleśniowej, niezależnie od rodzaju zastosowanego szczepu pleśni. Największą produktywnością biomasy wykazał się szczep *A. niger* 334 zarówno podczas 48-, jak i 72-godzinnej hodowli i wytworzył jej odpowiednio 13,2 g s.m./l (48 h) i 8,7 g s.m./l (72 h) (tab. 6).

Tabela 5

Stopień redukcji fosforu ogólnego i azotu ogólnego w ścieku po hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.

Reduction degree of total phosphorus and total nitrogen in wastewater after cultivation with use of filamentous fungi.

Czas procesu Process duration time [h]	Redukcja pierwiastków biogenych / Reduction of biogenic substances [%]					
	<i>A. oryzae</i> 448		<i>A. niger</i> 334		<i>R. oligosporus</i> 2710	
	Fosfor ogólny Total phosphorus	Azot ogólny Total nitrogen	Fosfor ogólny Total phosphorus	Azot ogólny Total nitrogen	Fosfor ogólny Total phosphorus	Azot ogólny Total nitrogen
48	73,68	48,71	79,67	50,32	83,23	52,88
72	60,19	82,55	65,21	66,93	57,35	53,24

Tabela 6

Ilość biomasy grzybowej uzyskanej w bioreaktorze laboratoryjnym podczas hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.

Amount of fungal biomass obtained in laboratory bioreactor during cultivation with use of filamentous fungi.

Czas procesu Process duration time [h]	Biomasa grzybowa / Fungal biomass [g s.m./l] / [g d.m./l]		
	<i>A. oryzae</i> 448	<i>A. Niger</i> 334	<i>R. oligosporus</i> 2710
48	6,32	13,22	7,84
72	5,77	8,69	5,57

Mishra i wsp. [10], stosując kultury mieszane grzybów strzępkowych *A. niger* ITCC 2021 i *A. foetidus* MTTC 508 do oczyszczania ścieków pochodzących z produkcji chipsów ziemniaczanych, zaobserwowali wzrost produkcji biomasy w przypadku

hodowli mieszanych (4,55 g s.m./l) w stosunku do hodowli pojedynczych szczepów (*A. niger* - 2,8 g s.m./l i *A. foetidus* 2,4 g s.m./l).

Kolejnym etapem badań było sprawdzenie przydatności paszowej uzyskanych biomas pleśniowych, które polegało na porównaniu składu chemicznego i wartości energetycznej. W podstawowej ocenie wartości pokarmowej paszy uwzględniono zawartość takich składników, jak: białko ogólne, tłuszcz, związki mineralne w postaci popiołu, włókno surowe oraz suchą substancję i uzyskaną energię [22]. W tab. 7. przedstawiono charakterystykę chemiczną uzyskanych biomas pleśniowych.

Tabela 7

Charakterystyka chemiczna uzyskanych biomas pleśniowych.
Chemical profile of fungal biomass.

Szczep Strain	Zawartość suchej masy Dry matter content	Zawartość popiołu Ash content	Zawartość białka Protein content	Zawartość tłuszczu Fat content	Zawartość włókna surowego Content of raw fibre	Zawartość związków bezzotowych wyciągowych Content of nitrogen-free extract	Strawność białka Protein digestibility
	[%]	[% s.m.]					[%]
<i>A. oryzae</i> 448	93,11 ± 0,42	0,21 ± 0,07	41,98 ± 1,36	11,59 ± 1,65	22,77 ± 0,54	31,43 ± 0,87	40,76 ± 0,31
<i>A. niger</i> 334	94,06 ± 0,84	0,116 ± 0,34	44,39 ± 0,65	12,42 ± 0,45	27,525 ± 0,55	23,36 ± 1,09	31,00 ± 0,71
<i>R. oligosporus</i> 2710	91,85 ± 0,94	0,15 ± 0,09	42,46 ± 0,89	16,22 ± 1,12	14,61 ± 0,99	36,35 ± 0,60	59,90 ± 0,83

Objaśnienie: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s$ / SD – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation.

Wytworzona biomasa charakteryzowała się dużą zawartością białka ogólnego. Najwięcej – ponad 44 % s.m. stanowiło białko w biomacie uzyskanej z *A. niger* 334, natomiast nieznacznie mniej – około 42 % w biomacie powstałej w wyniku fermentacji z użyciem *R. oligosporus* 2710 i *A. oryzae* 334. Białko biomas grzybowych charakteryzowało się strawnością w przedziale od 31 do 59,9 %. Największą przyswajalnością białka cechowała się biomasa *R. oligosporus* 2710, a najmniejszą, znacznie odbiegającą od pozostałych, biomasa z *A. niger* 334.

Jak podaje Szoltysek [24], grzybnia *A. niger* 334 powstała podczas produkcji kwasu cytrynowego zawierała znaczne ilości białka (18,3 - 26,7 % s.m.), ale były one mniejsze od wartości uzyskanych w niniejszych badaniach, w przypadku biomas grzybowych pozyskanych w wyniku biodegradacji ścieku ziemniaczanego. Strawność białka biomasy, uzyskanej w procesie produkcji kwasu cytrynowego, kształtowała się na

poziomie 50,1 % [22]. Z kolei biomasa *A. oryzae* 11 z kolekcji Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie, uzyskana w wyniku hodowli na podłożu stałym, charakteryzowała się zawartością białka na poziomie od 31,4 do 32,8 %, ale jego strawność była znacznie większa niż uzyskana w niniejszych badaniach i sięgała nawet 78,2 % [2].

Zawartość tłuszczu w biomacie pleśniowej *A. niger* wyhodowanej w ścieku odbiałczonym wynosiła 12,5 % s.m. Była ona znacznie większa od wartości otrzymanej przez Santosa i Gómeza [21] w biomacie *A. fumigatus* wyhodowanej na odpadach z manioku (3,1 %) i oznaczonej przez Szołtysek [24] w biomacie *A. niger* pochodzącej z produkcji kwasu cytrynowego (3,6 % s.m.). Najwięcej związków mineralnych (popiołu) zawierała biomasa *A. oryzae* (0,21 % s.m.), a najmniej – biomasa *A. niger* (0,11 % s.m.) (tab. 7). Natomiast w innych badaniach zawartość ta kształtowała się w granicach od 1,7 do 6 % w biomacie *A. niger* [24] oraz ok. 4,3 % w *A. fumigatus* [21]. Przebadana biomasa pleśniowa zawierała włókno surowe w ilości od 14,6 do 27,5 % s.m., a związki bezazotowe wyciągowe stanowiły od 23,3 do 36,4 % s.m. Santos i Gómez [21] wykazali, że w biomacie *A. fumigatus* ilość tych frakcji kształtuje się na poziomie odpowiednio 20 i 27,9 % s.m., a Szołtysek [24] oznaczyła aż 35 % włókna w biomacie *A. niger*. Zawartość analizowanych substancji, jak i gatunek zwierząt, dla którego przeznaczona jest pasza, wpływają na jej strawność. Bardzo ważnym czynnikiem ograniczającym przyswajalność składników karmy jest włókno surowe zarówno przy zastosowaniu dla przeżuwaczy, jak i dla zwierząt monogastycznych. Wzrost jego zawartości w paszy o 1 % zmniejsza strawność substancji organicznej w przypadku bydła o 0,88 %, świń – o 1,68 % i kur – o 2,33 % [1]. Tłuszcz nie ma większego wpływu na strawność, dopiero jego duże ilości przyczynią się do przyspieszenia pasażu treści przez przewód pokarmowy, wpływając tym samym negatywnie na przyswajalność składników odżywczych. Natomiast dodatek białka ogólnego wpływa z reguły korzystnie na strawność u wszystkich zwierząt pod warunkiem dobrego zbilansowania go w stosunku do energii w dawce. Zwiększenie zawartości białka w paszy dla bydła o ok. 18 % s.m. spowodowało wzrost współczynników strawności substancji organicznych o 15 % [1, 19].

Przydatność paszową uzyskanych biomas dla trzody chlewnej mierzono wskaźnikiem energii metabolicznej (EM), wyrażonej w MJ na 1 kilogram suchej masy. Najwięcej energii metabolicznej dostarczyła biomasa *R. oligosporus* 2710 (ok. 14,5 MJ/kg s.m.), a najmniej – biomasa *A. niger* 448 – około 10,66 MJ/kg s.m (tab. 8). Mimo takiego zróżnicowania, uzyskane wartości są dużo wyższe od EM biomasy *Medusomyces giseveii* (ok. 8,9 MJ/kg s.m.), powstającej w procesie fermentacji czarnej herbaty, obliczonej przez Murugesana [11]. Dla trzody chlewnej prawidłowa koncentracja energii metabolicznej w dawkach powinna wynosić od 14 do 15 MJ w 1 kg suchej masy, co odpowiada 12 - 13 MJ/kg mieszanki pełnodawkowej. Zatem biomasa uży-

skana w wyniku biodegradacji ścieków ziemniaczanych przy użyciu grzybów strzępkowych może być wartościowym komponentem znacznie zwiększającym wartość energetyczną paszy dla świń. W odniesieniu do bydła, w biomase pleśniowej wszystkich zastosowanych szczepów, otrzymanej w wyniku biodegradacji ścieków, jednostki energetyczne miały zbliżoną wartość i kształtowały się na poziomie od 1,41 do 1,77 JPM oraz od 1,42 do 1,87 JPŻ. Dla porównania, w przypadku owsa jest to odpowiednio 1,03 JPM i 0,98 JPŻ, a żyta – 1,18 JPM i 1,22 JPŻ [18]. W systemie francuskim INRA wyrażana jest również wartość białkowa pasz, która uwzględnia powiązanie przemian azotowych w związku z przemianami energetycznymi. Określa się ją dwoma wskaźnikami: BTJN – białko trawione w jelicie z przemian azotowych i BTJE – białko trawione w jelicie z przemian energetycznych. W biomase grzybowej BTJN wyniosła od 243,66 do 260,84 g/kg s.m. (tab. 8) i była znacznie wyższa od wartości odnoszących się do owsa – 74 g/kg s.m.) i żyta – 80 g/kg s.m. Natomiast BTJE odznaczało się zawartością od 54,40 do 70,97 g/kg s.m. (tab. 8) i było mniejsze od BTJE odnoszącego się do owsa – 84 g/kg s.m. i żyta – 104 g/kg s.m.) [13, 15]

Tabela 8

Wyniki energetycznej oceny przydatności paszowej biomasy uzyskanej w wyniku biodegradacji ścieków przemysłu ziemniaczanego.

Results of assessing energy value-related feed usefulness of biomass, obtained from biodegradation of wastewater from potato industry

Szczep Strain	Przydatność paszowa biomasy: / Feed usefulness of biomass:								
	dla trzody chlewnej / for pigs					dla bydła / for cattle			
	BS	TS	WS	BWS	EM [MJ/kg s.m.]	JPM [jednostka JPM]	JPŻ [jednostka JPŻ]	BTJN [g/kg s.m.]	BTJE [g/kg s.m.]
<i>A. oryzae</i> 448	160,46	65,22	106,75	271,12	11,98	1,41	1,43	245,92	62,82
<i>A. Niger</i> 334	129,44	70,08	129,45	202,12	10,66	1,41	1,42	260,84	66,12
<i>R. oligosporus</i> 2710	233,63	89,40	67,10	307,19	14,47	1,54	1,59	243,66	62,31

Objaśnienia: / Explanatory notes:

BS – białko strawne / digestible protein; TS – tłuszcz strawny / digestible fat; WS – włókno surowe / digestible fiber; BWS – strawne związki bezazotowe wyciągowe / digestible compounds nitrogen-free extraction; EM – wskaźnik energii metabolicznej / metabolic energy indicator; JPM – jednostka paszowa produkcji mleka (1 jednostka JPM odpowiada 1700 kcal energii netto laktacji) / FUL Feed Unit for Lactation (1 FUL unit equals 1700 kcal of net energy of lactation); JPŻ – jednostka paszowa produkcji żywca (1 jednostka JPŻ odpowiada 1820 kcal energii netto żywca / FUEC Feed Unit Energy for Cattle (1 FUEC equals 1820 kcal of net energy for cattle); BTJN – białko trawione w jelicie z przemian azotowych / protein digested in intestine, from nitrogen transformation; BTJE – białko trawione w jelicie z przemian energetycznych / protein digested in intestine, from energy transformations.

Suplementację paszy biomasa pleśniową, otrzymaną w procesie biodegradacji ścieków odbiałczonych należy uznać za zasadną w skarmianiu bydła i trzody chlewnej. Biomasa ta może w znacznym stopniu zaspokoić potrzeby energetyczne zwierząt oraz dostarczyć wartościowego białka. Może ona stanowić cenny dodatek do paszowej mieszanki produkcyjnej.

Wnioski

1. Efektywność biodegradacji ścieku z przemysłu ziemniaczanego i produkcja biomasy zależą od rodzaju użytego szczepu grzybów strzępkowych i od czasu hodowli.
2. W hodowlach bioreaktorowych prowadzonych przez 48 h uzyskano większy przyrost biomasy grzybowej niż w hodowlach 72-godzinnych. Przedłużenie czasu biodegradacji do 72 h wpłynęło ujemnie na produkcję biomasy, pozwoliło jednak na uzyskanie wyższego stopnia oczyszczenia ścieku.
3. Największą redukcję ChZT (o 70 %) uzyskano po zastosowaniu *A. oryzae* 448.
4. Prowadzone procesy oczyszczania pozwoliły na wysoką redukcję zawartości pierwiastków biogennych, przy czym czas hodowli 48-godzinnej był korzystniejszy do usunięcia fosforu (o 74 - 83 %), a 72-godzinna hodowla powodowała większy stopień redukcji azotu (o 53 - 82 %).
5. Wytworzona biomasa charakteryzowała się dużą zawartością białka (42 - 44 %) i wysoką energetyczną wartością paszową zarówno dla trzody chlewnej (EM od 10,7 do 14,5 MJ/kg s.m.), jak i dla bydła (od 1,41 do 1,54 JPM).

Literatura

- [1] Abgarowicz F., Burzyński B., Chachułowa J., Fabiańska M., Karaś J., Szymona K., Witczak F.: Żywnienie zwierząt. PWRiL, Warszawa 1976.
- [2] Czajkowska D., Zakrzewski A., Myszka L.: Wzbogacenie odpadów przemysłu spożywczego w białko grzybów mikroskopowych, hodowanych na podłożu stałym. W: Wykorzystanie biotechnologii w produkcji pasz dla zwierząt gospodarskich. Red. S. Sobczak. Wyd. SGGW-AR w Warszawie, Warszawa 1983.
- [3] Czarnecki Z., Czarnecka M.: Tradycyjne wykorzystanie mikroorganizmów w produkcji żywności. W: Mikroorganizmy w żywności i żywieniu. Red. J. Gawęcki i Z. Libudzisz. Wyd. Akademii Rolniczej im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań 2006.
- [4] Gawęcki K.: Ćwiczenia z żywienia zwierząt i paszoznawstwa. Wyd. AR w Poznaniu, Poznań 1994.
- [5] Huang L.P., Dong T., Chen J. W.: Biotechnological production of lactic acid integrated with fish-meal wastewater treatment by *Rhizopus oryzae*. Bioproc. Biosyst. Eng., 2007, **30**, 135-140.
- [6] Jin B., van Leeuwen J.H., YU Q., Patel B.: Screening and selection of microfungi for microbial biomass protein production and water reclamation from starch processing wastewater. J. Chem. Technol. Biotechnol., 1999, **74**, 106-110.
- [7] Jin B., Yan X.Q., YU Q., Van Leeuwen J.H.: A comprehensive pilot plant system for fungal biomass protein production and wastewater reclamation. Adv. Environ. Res., 2002, **6**, 179-189.

- [8] Kida K., Morimura S., Abe N., Sonada Y.: Biological treatment of shochu distillery wastewater. *Process Biochem.*, 1995, **39**, (2), 125-132.
- [9] Konieczny P., Szymański M.: Ścieki z przemysłu spożywczego – charakterystyka, zagrożenia, korzyści. *Przeł. Komunalny*, 2007, **2**, 88-100.
- [10] Mishra K., Aurora A., Lata M.: Optimization of a biological process for treating potato chips industry using a mixed culture of *Aspergillus foetidus* and *Aspergillus niger*. *Bioresour. Technol.*, 2003, **94**, 9-12.
- [11] Murugesan G.S., Sathishkumar M., Swamina Than K.: Supplementation of waste tea fungal biomass as a dietary ingredient for broiler chicks. *Bioresour. Technol.*, 2005, **96**, 1743-1748.
- [12] Muller G.L.: Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 1959, **31**, (3), 426-428.
- [13] Normy żywienia bydła, owiec i kóz. Wartość pokarmowa pasz dla przeżuwaczy. Wydanie II. IZ, Kraków 1993.
- [14] Nowak J.: Żywność fermentowana w kuchni różnych narodów. *Mikroorganizmy w żywności i żywieniu* Wyd. AR w Poznaniu, Poznań 2006.
- [15] Nowak W.: Żywnienie krów według norm INRA. *Top Agar Polska*, 1998, **3**, 120-123.
- [16] PN-ISO 6060:2006. Woda i ścieki. Badanie zapotrzebowania tlenu i zawartości węgla organicznego. Oznaczenie chemicznego zapotrzebowania tlenu (ChZT) metodą dwuchromianową.
- [17] PN-EN ISO 5983-2:2006. Pasze – oznaczanie zawartości azotu i obliczanie zawartości białka ogólnego. Cz. 2: Metoda mineralizacji w bloku/destylacji z parą wodną.
- [18] Dymniecka M., Sokoła J.L. (Red.): *Podstawy żywienia zwierząt*. Wyd. SGGW, Warszawa 2001.
- [19] Jamroz D., Podkówa W., Chachułowa J. (Red.): *Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo*. *Paszoznawstwo*. T. III. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 2006.
- [20] Project QLK3 -1999 - 00004: "Enhanced, Intelligent Processing of Food and Related Wastes using Thermophilic Populations", realizowany w ramach V Programu Ramowego UE.
- [21] Santos J., Gomez G.: Fungal protein produced on Cassava for growing rats and pigs. *J. Anim. Sci.*, 1983, **56**, 264-270.
- [22] Skulimowski J.: *Metody oznaczania składu pasz i ich jakości PWRiL*, Warszawa.
- [23] Skupin J., Chełkowski J., Olejnik D.: *Ćwiczenia z metod analizy żywności*. Wyd. AR w Poznaniu, Poznań 1978.
- [24] Szołtysek K.: Ocena przydatności grzybní *Aspergillus niger* w przemyśle paszowym. *Przem. Ferment. Owoc. Warz.*, 1997, **7**, 25 -26.
- [25] Tomczak E., Nowak J., Czarnecki Z.: Przydatność testów kuwetowych do analizy składu i obciążenia ścieków przemysłu spożywczego. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*, 2002, **7** (1), 143-149.
- [26] Wróbel B.: Obliczanie wartości energii netto pasz objętościowych na podstawie systemu INRA. *Chów Bydła*, 2002, **2**, 20-22.

APPLYING FILAMENTOUS FUNGI TO BIODEGRADATION OF WASTEWATER FROM POTATO INDUSTRY WITH SIMULTANEOUS PRODUCTION OF MOULD BIOMASS FOR FORAGE

Summary

Three strains of filamentous fungi (*A. oryzae* 448, *A. niger* 334, and *R. oligosporus* 2710) were used for the biodegradation of highly loaded wastewater from the potato industry. The wastewater was obtained in a protein recovery unit from potato juice water (deproteinized wastewater). The wastewater treatment process was carried out 48 and 72 h in a Biostat B laboratory fermentor the working volume of

which was 1.5 l. During the 72h process, the *A. oryzae* 448 strain caused the COD to decrease by 70 %. The *A. niger* and *R. oligosporus* strains used to treat the wastewater caused the COD level to similarly decrease, i.e. by 58 % and 52 %, respectively. The application of the selected moulds to the biodegradation of potato wastewater resulted in a very high reduction of biogenic substances. In the case of total phosphorus, cultivating the *R. oligosporus* 2710 strain for 48 h proved beneficial; during this period, the amount of this element in wastewater was reduced by 82 %. Then again, the amount of the nitrogen compounds was reduced by 83 % during the 72h biodegradation process with the use of the *A. oryzae* 448 strain. Regardless of the type of mould tested, the highest amount of mould biomass was produced during the 48h fermentation process. The *A. niger* 334 strain proved to have the highest biomass productivity (13.2 g d.m. / l of wastewater). The biomass produced was characterized by a high content of protein (42 - 44 %) and a high feed energy value.

Key words: biodegradation, filamentous fungi, COD, biogenic substances, biodegradation, mould biomass 