

WYKORZYSTANIE ODPADÓW POCHODZĄCYCH Z PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO DO PRODUKCJI BIOMASY DROŻDŻY PASZOWYCH *CANDIDA UTILIS*

Agnieszka Kurcz^{1*}, Stanisław Błażejczak¹, Anna Maria Kot¹, Anna Bzducha-Wróbel¹

¹ Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Żywności, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności

Wpłynęło w lutym 2015 r.
Zaakceptowano w czerwcu 2015 r.

1. Wstęp. 2. Biotechnologiczne wykorzystanie drożdży *Candida utilis*. 3. Surowce wykorzystywane do produkcji biomasy drożdży paszowych. 4. Produkcja biopaliw i gospodarka odpadami z produkcji biodiesla. 4.1. Wykorzystanie glicerolu w procesach biotechnologicznych. 5. Produkcja skrobi ziemniaczanej. 5.1. Charakterystyka odpadowej ziemniaczanej wody sokowej i kierunki jej wykorzystania. 6. Podsumowanie

The use of agri-food industry waste for the production of *Candida utilis* fodder yeast biomass

Abstract: Both glycerol and potato wastewater are difficult-to-utilize waste from industrial processing. Thus, it is necessary to search for new economical methods of waste utilization to obtain products of higher value, decrease the production costs and protect the environment. One of the solutions to this problem might be simultaneous application of glycerol and potato wastewater as components of culture media for the production of *Candida utilis* fodder yeast biomass. This yeast strain is able to use glycerol from culture media as the only source of carbon, while the deproteinated potato wastewater might be the source of nitrogenous compounds and minerals. As a result, there is the possibility to obtain *C. utilis* fodder yeast biomass rich in such valuable nutrients as protein, fat, β -glucans, vitamins and microelements.

1. Introduction. 2. Biotechnological use of the yeast *Candida utilis*. 3. Raw materials used for the production of fodder yeast biomass. 4. Production of biofuels and the management of biodiesel post-production waste. 4.1. The use of glycerol in biotechnological processes. 5. Production of potato starch. 5.1. Characteristics of potato wastewater and its potential usage. 6. Conclusion

Słowa kluczowe: biodiesel, SCP, skrobia ziemniaczana, utylizacja odpadów

Key words: biodiesel, SCP, potato starch, waste utilization

1. Wstęp

W ostatnich latach problem ochrony środowiska naturalnego stał się jednym z najważniejszych priorytetów polityki międzynarodowej, szczególnie wśród krajów rozwiniętych. Problem postępującej degradacji środowiska spowodowany jest przede wszystkim dużymi ilościami odpadów produkowanych przez człowieka. Dotyczy to zarówno odpadów komunalnych, jak i tych wytwarzanych przez przemysł. Stanowią one często produkt bardzo trudny do utylizacji lub zagospodarowania, nie wspominając o możliwości ekonomicznego ich wykorzystania. Odprowadzanie odpadów do ścieków pociąga za sobą ryzyko nałożenia na zakład wysokich kar pieniężnych, a większość sposobów utylizacji i składowania jest kosztowna i nieopłacalna. Istnieją jednak metody przekształcania odpadów przemysłowych do produktów o wartości dodanej. Jednym z rozwiązań może być próba zastosowania ich jako surowców do produkcji biomasy drobnoustrojów.

Idea produkcji biomasy i wykorzystania mikroorganizmów jako źródła żywności dla ludzi i zwierząt powstała już na początku dwudziestego wieku. Termin SCP – single-cell protein (białko jednokomórkowców)

został po raz pierwszy wykorzystany w 1966 roku w Massachusetts Institute of Technology [2]. Liczne badania [17, 46] nad możliwością produkcji białka drobnoustrojów wykazały szereg jego zalet, dzięki którym przewyższa białko pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Do najważniejszych należą: krótki czas generacji mikroorganizmów, wysoka zawartość białka o odpowiedniej jakości w komórkach oraz możliwość kształtowania profilu aminokwasowego białek poprzez regulację składu podłoża, warunków hodowli lub modyfikację genetyczną danego szczepu. Ponadto produkcja SCP może być prowadzona w procesie ciągłym i jest niezależna od czynników klimatycznych. Do jego otrzymywania stosowane są przede wszystkim drożdże (*Candida*, *Saccharomyces*), a także bakterie (*Cellulomonas*, *Alcaligenes*), grzyby strzępkowe (*Aspergillus*, *Penicillium*) i glony (*Chlorella*, *Scenedesmus*) [17].

2. Biotechnologiczne wykorzystanie drożdży *Candida utilis*

Nazwa gatunkowa drożdży *Candida utilis* występuje w literaturze pod wieloma synonimami, między innymi *Pichia jadinii*, *Saccharomyces jadinii*, *Torula utilis*.

* Autor korespondencyjny: Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Żywności, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa; tel. (022) 59 37 663; e-mail: agnieszka_kurcz@sggw.pl

Najczęściej traktowane były jako aseksualna forma gatunku *Pichia jadinii* [22], chociaż najnowsze badania zaprzeczają bliskiemu pokrewieństwu filogenetycznemu tych dwóch gatunków [50]. Obecnie, według National Center for Biotechnology Information (NCBI), gatunek *C. utilis* jest klasyfikowany jako anamorficzna forma *Cyberlindnera jadinii* [35].

Drożdże, jako organizmy pozbawione chlorofilu, nie są zdolne do przeprowadzania procesu fotosyntezy. Do rozwoju i wzrostu wymagają organicznych form węgla, w związku z czym zaliczane są do chemoorganotrofów. Drożdże dzikie, do których należy rodzaj *Candida*, w przeciwieństwie do drożdży szlachetnych (*Saccharomyces*), nie są wymagające pod względem wykorzystywanych źródeł węgla i obecności substancji biologicznie aktywnych [52]. Drożdże *C. utilis* wykazują zdolność do fermentacji glukozy i sacharozy. Ponadto asymilują maltozę, rafinozę, trehalozę, celobiozę, ksylozę, inulinę, etanol, glicerol, cytryniany i azotany [22]. Optymalna temperatura dla ich wzrostu wynosi 25–30°C, a pH mieści się w zakresie 4,0–6,0 [3].

Drożdże *C. utilis* spełniają wszystkie wymagania stawiane drożdżom paszowym: wysoka zawartość białka w suchej substancji, maksymalne wykorzystanie wszystkich obecnych w pożywce substancji odżywczych, mała wrażliwość na substancje toksyczne w podłożu hodowlanym oraz krótki czas generacji [15]. Ponadto ich stosunkowo duże wymiary ułatwiają separację komórek z podłoża po hodowli [32]. Istotny jest również fakt, że zawartość kwasów nukleinowych w komórkach tych drożdży jest mniejsza niż u innych gatunków. Wynosi zwykle około 100 g/kg biomasy, a w przypadku drożdży *Saccharomyces cerevisiae* – 160 g/kg biomasy [3].

Koncepcja wykorzystania drożdży *C. utilis* do produkcji żywności na szeroką skalę została po raz pierwszy zaproponowana przez niemieckich pracowników Instytutu Przemysłu Fermentacyjnego w Berlinie podczas I Wojny Światowej. Wynikało to głównie z możliwości wykorzystania tanich substratów odpadowych jako składników podłoża hodowlanego, a w szczególności pentozanów i ługów posulfitowych z produkcji papieru [22]. Obecnie gatunek *C. utilis* został uznany przez FDA (Food and Drug Administration – Agencja Żywności i Leków) za bezpieczny do spożycia i wpisany na amerykańską listę GRAS (Generally Recognized As Safe – „uważane za bezpieczne”). Dzięki temu biomasa tych drożdży, jak i ich metabolity, mogą być stosowane zarówno w przemyśle spożywczym, jak i w produkcji pasz [28].

Zainteresowanie drożdżami *C. utilis* jako źródłem białka wynika z dużej jego zawartości w suchej substancji tych komórek, zwykle od 45 do 75%. Charakteryzuje się ono wysoką wartością odżywczą oraz dobrą strawnością sięgająca 50%. W skład tego białka wchodzi duża zawartość aminokwasów egzogennych, a w szcze-

gólności lizyny. Zawartość tego aminokwasu w komórkach drożdży *C. utilis* wynosi około 7,1 g/100 g białka. Pomimo dobrze zbilansowanego składu aminokwasowego, białko to cechuje się niedoborem aminokwasów siarkowych, w szczególności metioniny i cysteiny. Zawartość aminokwasów może być jednak regulowana, gdyż jest w dużej mierze zależna od rodzaju podłoża hodowlanego i zawartych w nim składników [3, 52].

W biomacie komórkowej drożdży *C. utilis* stwierdzono obecność witamin z grupy B, na przykład ryboflawiny, kwasu foliowego i nikotynowego. Zawartość kwasu pantotenowego i pirydoksyny jest nawet wyższa niż w przypadku innych drożdży, takich jak *S. cerevisiae* czy *Kluyveromyces marxianus* [3, 54]. Gatunek *C. utilis* zdolny jest również do produkcji ergosterolu, związku z grupy steroidów, będących bezpośrednim prekursorem witaminy D₂. Drożdże te mogą gromadzić ergosterol na poziomie od 1 do 3% w suchej substancji, zależnie od wieku komórek oraz warunków prowadzenia hodowli [30, 44].

Gatunek *C. utilis* może stanowić bardzo dobre źródło składników mineralnych. Drożdże te zawierają więcej wapnia, potasu, fosforu, cynku i manganu w porównaniu do innych gatunków, np. *S. cerevisiae*. Drożdże *C. utilis* są zdolne do wiązania jonów metali z podłoża hodowlanego często w ilości przekraczającej naturalne zapotrzebowanie, a następnie ich wewnątrzkomórkowej bioakumulacji i włączenia w struktury komórkowe. Podczas hodowli w podłożu suplementowanym jonami magnezu uzyskano biomasę drożdżową zawierającą 9,09 mg Mg²⁺/g_{s.s.}, czyli prawie 10-krotnie więcej niż w hodowli kontrolnej. Dzięki tym właściwościom istnieje możliwość wykorzystania drożdży w produkcji tak zwanych biopleksów – połączeń jonów metali z białkami. Mogą one być wykorzystywane w suplementacji diety, gdyż składniki mineralne w takiej formie są łatwiej przyswajalne przez organizmy ludzi i zwierząt niż połączenia nieorganiczne [4].

Drożdże paszowe są również stosowane w żywieniu zwierząt gospodarskich. Mogą być one dodawane do pasz w dwojaki sposób: jako komponenty, mające za zadanie zwiększenie wartości odżywczej paszy lub w postaci żywych kultur. W ostatnich latach obserwuje się wzrost znaczenia drożdży jako dodatku paszowego, co związane jest głównie z kryzysem BSE, który przyczynił się do wprowadzenia od listopada 2004 roku zakazu stosowania mączek pochodzenia zwierzęcego jako składnika paszy [8]. W paszach roślinnych aminokwasem ograniczającym jest lizyna, która z kolei występuje w dużych ilościach (8,3–7,1 g/100g) w białku drożdżowym. Przygotowanie odpowiednich mieszanek z drożdżami paszowymi umożliwia otrzymanie pełnowartościowej paszy bogatej w aminokwasy egzogenne, witaminy i składniki mineralne. Odpowiedni skład aminokwasowy paszy jest niezbędny dla pra-

widłowego wzrostu i rozwoju, szczególnie młodych osobników [16].

Stosowanie żywych kultur drożdży jako dodatków do pasz związane jest z ich działaniem probiotycznym. Produkowane przez nie enzymy w przewodzie pokarmowym ułatwiają trawienie składników żywności. Istotne znaczenie mają również składniki ściany komórkowej drożdży – oligomannany i β -glukany. Przeprowadzone badania potwierdzają ich korzystny wpływ na mikroflorę przewodu pokarmowego zwierząt, gdyż są one dobrze wykorzystywane przez bakterie kwasu mlekowego. Polisacharydy te stymulują działanie układu immunologicznego oraz wykazują niszczące działanie w stosunku do bakterii chorobotwórczych *E. coli* i *Salmonella pullorum*, będących częstą przyczyną chorób u drobiu. Polimery ściany komórkowej drożdży wykazują również zdolność do adsorpcji szkodliwych substancji chemicznych, na przykład mikotoksyn [7, 26].

Drożdże *C. utilis* są także zdolne do biosyntezy wewnątrzkomórkowego tłuszczu (SCO), charakteryzującego się wartościowym, z żywieniowego punktu widzenia, profilem kwasów tłuszczowych (ok. 25% kwasu oleinowego, 32% linolowego i 18% linolenowego). Biosynteza wielonienasyconych kwasów tłuszczowych przez mikroorganizmy ma szansę stać się nowym, alternatywnym źródłem tych związków. Skład kwasów tłuszczowych w komórkach drożdży może być regulowany poprzez dobór odpowiedniego składu pożywki oraz warunków procesu [6, 12]. W ten sposób można ukierunkować szlaki biosyntezy w komórkach drożdży na syntezę pożądaných kwasów tłuszczowych PUFA, które mogą być stosowane jako suplementy diety oraz w żywności funkcjonalnej [13].

3. Surowce wykorzystywane do produkcji biomasy drożdży paszowych

Zrozumienie wymagań pokarmowych drożdży jest istotne, nie tylko w przypadku hodowli w warunkach laboratoryjnych, ale przede wszystkim w przemysłowej produkcji drożdży paszowych. Podczas namnażania biomasy drożdży należy zapewnić w podłożu hodowlanym obecność wszystkich niezbędnych do ich wzrostu składników. Należą do nich przyswajalne źródła węgla i azotu, związki siarki i fosforu, składniki mineralne oraz ewentualne aktywatory wzrostu (witaminy) [52].

Drożdże paszowe, zaliczane do drożdży dzikich, posiadają bogaty układ enzymatyczny umożliwiający wzrost na różnorodnych źródłach węgla. Poza węglowodanami są zdolne do asymilacji wielu innych związków organicznych (alkohole, kwasy organiczne, węglowodory), co umożliwiło wykorzystywanie do ich produkcji różnorodnych surowców odpadowych. Ważne jest również zapewnienie odpowiedniego źródła

azotu. W przemysłowej produkcji najczęściej stosuje się sole amonowe, które są łatwo przyswajalne przez drożdże. Są one również zdolne do wykorzystywania z podłoża azotanów. Dobrym rozwiązaniem jest dostarczenie drożdżom azotu bezpośrednio w postaci aminokwasów (hydrolizaty kazeiny, ekstrakty drożdżowe), są to jednak składniki drogie. Dlatego również w przypadku źródeł azotu poszukuje się surowców odpadowych, które mogłyby zaspokoić zapotrzebowanie drożdży na ten biopierwiastek [44, 52].

Podłoża hodowlane wzbogaca się także w związki siarki i fosforu, najczęściej poprzez stosowanie nieorganicznych form tych pierwiastków (siarczany, ortofosforany). Siarka ma szczególne znaczenie w sytuacji, gdy dąży się do zwiększenia zawartości aminokwasów siarkowych w biomacie drożdży. Z kolei fosfor jest niezbędnym składnikiem kwasów nukleinowych oraz fosfolipidów. Wśród pozostałych składników mineralnych najważniejszą rolę odgrywają potas i magnez (uznawane za makroelementy) oraz pozostałe pierwiastki wymagane w ilościach śladowych (mikroelementy): wapń, mangan, żelazo, cynk, miedź, kobalt i molibden. Niezbędne jest również dostarczenie odpowiedniej ilości tlenu, który jest wykorzystywany w procesach oddechowych komórek drożdży i namnażania biomasy bez produkcji alkoholu etylowego. Z kolei obecność czynników wzrostowych nie jest niezbędna w przypadku hodowli drożdży dzikich [52].

Przemysłowa produkcja drożdży paszowych oparta jest przede wszystkim na surowcach odpadowych, pochodzących z różnych gałęzi przemysłu [44]. W większości stosowane są surowce węglowodanowe, między innymi melasa i wywar melasowy, hydrolizaty drewna, ługi posiarzynowe, odpady skrobiowe i ligninocelulozowe oraz serwatka [18, 32]. Stanowią one tanie i dobre źródło węgla dla drożdży paszowych, a niekiedy również związków azotowych i składników mineralnych, jak w przypadku głównego odpadu z produkcji wina ryżowego (wywaru, tzw. „thin stillage”) [55]. Jako źródło azotu mogą być również wykorzystywane odpady z przetwórstwa ziemniaczanego i skrobiowego, na przykład ziemniaczana woda sokowa [5, 33].

W ostatnich latach prowadzone są badania nad zastosowaniem nowych, niekonwencjonalnych substratów do produkcji drożdży paszowych. Należą do nich między innymi odpady z przemysłu tłuszczowego, mięsnego czy zmielone muszle krewetkowe [18]. Szczególnie duże nadzieje wiąże się z możliwością utylizacji kłopotliwych odpadów tłuszczowych z procesów smaźalniczych przez drożdże *Yarrowia lipolytica* [34]. Istnieje również możliwość wykorzystania odpadów z produkcji glutaminianu sodu jako źródła azotu do produkcji biomasy drożdży i SCO [53].

Do nowych surowców, nad którym prowadzone są w ostatnich latach badania mające na celu jego

ekologiczną i ekonomiczną utylizację, należy glicerol. Stanowi on dobre źródło węgla dla drobnoustrojów i jest prekursorem do produkcji wielu cennych metabolitów [1]. Jak pokazują prowadzone badania [7, 18, 49] glicerol może być z powodzeniem wykorzystywany do produkcji biomasy drożdży, które są w stanie asymilować go jako jedyne źródło węgla.

4. Produkcja biopaliw i gospodarka odpadami z produkcji biodiesla

Biopaliwo jest to olej napędowy stosowany w silnikach wysokoprężnych, który zawiera w swoim składzie biologiczny komponent w postaci estrów metylowych kwasów tłuszczowych (Biodiesel) lub też składa się z niego w całości (BIOESTER 100). W zależności od kraju, stosuje się różny dodatek tych estrów. Unia Europejska narzuca krajom członkowskim 5% dodatek, a do 2020 jego zwiększenie do 10%. [38, 43]. W ostatnich latach obserwuje się dynamiczny rozwój rynku biopaliw nie tylko w Europie, ale również na całym świecie. Globalna produkcja biodiesla w 2005 wyniosła nieco ponad 3 mln ton, a po 5 latach wzrosła sześciokrotnie do poziomu 18 mln ton. W 2013 roku wyprodukowano ponad 27 mln ton biodiesla i szacuje się dalszy wzrost produkcji w kolejnych latach. Również w Polsce można zaobserwować intensywny rozwój rynku biopaliw. W 2005 roku produkcja biodiesla wyniosła 64 tys. ton, a w 2013 wzrosła do 648 tys. ton [40, 43, 56].

Do produkcji biodiesla wykorzystuje się surowce oleiste, najczęściej rzepak, soję i palmę oleistą (zależnie od rejonu upraw) [43]. Otrzymany z tych surowców olej poddawany jest procesowi metanolizy, polegającemu na transestryfikacji estrów wyższych kwasów tłuszczowych – triacylogliceroli. W procesie tym olej mieszany jest z roztworem metanolu oraz katalizatorem alkalicznym. Po przeprowadzonej reakcji następuje rozdział na niepolarną fazę estrową oraz polarną glicerynową [31]. Ta druga, oprócz glicerolu stanowiącego około 40–70%, zawiera również wiele zanieczyszczeń, w szczególności metanol, wolne kwasy tłuszczowe, zneutralizowany katalizator, mydła oraz wodę i inne składniki (np. śladowe ilości metali ciężkich) [9, 41].

Otrzymana w ten sposób surowa gliceryna najczęściej poddawana jest złożonym i kosztownym procesom oczyszczania, dzięki którym może być wykorzystywana w przemyśle kosmetycznym, spożywczym, farmaceutycznym lub chemicznym [39]. Jednak w małych przetwórcach budowanie instalacji oczyszczającej fazę glicerynową jest nieopłacalne. W takich warunkach utylizuje się ją poprzez rozcieńczenie wodą w stosunku 1:100 i zastosowanie jako nawozu [51]. Ponadto faza glicerynowa, ze względu na wysoką wartość opałową, może być wykorzystywana jako komponent mieszanki

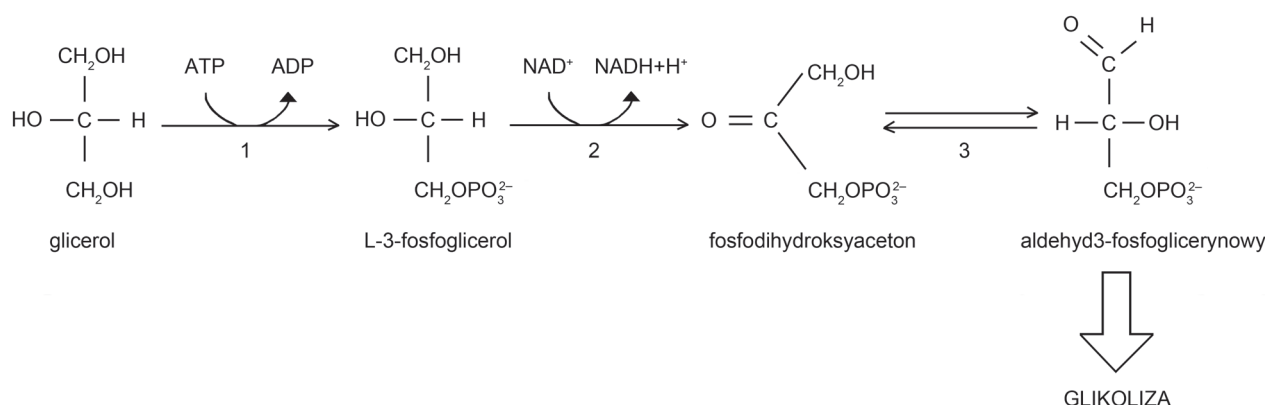
paliwowej dostarczanej do kotłów i pieców. Intensywny rozwój produkcji biodiesla przyczynił się do zwiększenia ilości powstającej gliceryny (z 300 tys. ton w 2005 roku do 2,7 mln ton w 2013), w wyniku czego stała się trudnym do zagospodarowania odpadem przemysłowym [41].

4.1. Wykorzystanie glicerolu w procesach biotechnologicznych

Interesującym rozwiązaniem problemu utylizacji gliceryny odpadowej jest jej wykorzystanie jako składnika podłoża w hodowlach drobnoustrojów. Dzięki bogatym i różnorodnym układom enzymatycznym, mikroorganizmy potrafią asymilować i przekształcać pobierany glicerol do wielu użytecznych przemysłowo związków chemicznych [1]. Najwięcej uwagi poświęca się badaniom nad możliwością biosyntezy 1,3-propanodiolu. Związek ten wykorzystywany jest do produkcji smarów, rozpuszczalników organicznych, poliesterów i poliuretanów. W procesie biotransformacji glicerolu do 1,3-propanodiolu mogą być wykorzystywane takie gatunki jak *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium butyricum*, *Citrobacter freundii* i *Enterobacter agglomerans* [47]. Glicerol może być także stosowany jako składnik podłoża do produkcji kwasu bursztynowego przez *Basfia succiniciproducens*, wykorzystywanego w przemyśle chemicznym i kosmetycznym [11].

Innym cennym produktem otrzymywanym w wyniku biotransformacji glicerolu jest kwas propionowy, mający zastosowanie w utrwalaniu żywności i pasz. Kwas ten produkowany jest przez bakterie z rodzaju *Propionibacterium*. Według badań Kośmider i wsp. [20] zastosowanie glicerolu jako jedyne źródło węgla w podłożu hodowlanym dla *Propionibacterium freudenreichii* spowodowało zwiększenie wydajności biosyntezy kwasu propionowego o 34% w porównaniu z podłożem zawierającym glukozę. Z kolei odpowiednio wyselekcjonowane lub zmutowane szczepy drożdży *Y. lipolytica* były zdolne do pobierania glicerolu i biotransformacji w warunkach tlenowych w kierunku kwasu cytrynowego [45]. Glicerol może być również wykorzystywany przez bakterie octowe, między innymi *Gluconobacter oxydans*, które przekształcają go do dihydroksyacetonu. Produkt ten znalazł zastosowanie w kosmologii, farmakologii oraz w przemyśle spożywczym [48].

Liczne gatunki drożdży są w stanie wykorzystywać glicerol jako jedyne źródło węgla, co znalazło przemysłowe zastosowanie przy produkcji biomasy drożdży paszowych [18, 49]. Ze względu na małe rozmiary cząsteczki glicerolu, może być on pobierany przez mikroorganizmy na drodze dyfuzji ułatwionej, a następnie wykorzystany jako jedyne źródło węgla i energii [9]. Po wnikięciu do cytozolu ulega fosforylacji do L-3-fosfoglicerolu z udziałem jednej cząsteczki ATP



Rys. 1. Metabolizm glicerolu w komórkach drożdży. 1 – kinaza glicerolowa, 2 – dehydrogenaza glicerolofosforanowa, 3 – izomeraza triozofosforanowa (opracowanie na podstawie [1])

przez enzym kinazę glicerolową (EC 2.7.1.30). Powstały związek w kolejnym etapie utleniany jest przez dehydrogenazę glicerolofosforanową (EC 1.1.1.8) współdziałającą z NAD^+ do fosfodihydroksyacetonu. Następnie, z udziałem izomerazy triozofosforanowej (EC 5.3.1.1), ulega izomeryzacji do aldehydu 3-fosfoglicerynowego, który jako związek pośredni szlaku glikolizy zostaje włączony do dalszych jego przemian (rys. 1) [1, 14].

Powstały w procesie glikolizy pirogronian przekształcaný jest do acetylokoenzymu A, a ten może zostać wykorzystany w dalszych procesach energetycznych komórki, w ten sposób umożliwiając drożdżom wykorzystanie glicerolu do wzrostu i produkcji biomasy [1]. Drożdże są również w stanie wykorzystywać powstały acetylokoenzym A w procesie biosyntezy kwasów tłuszczowych i produkcji tłuszczu mikrobiologicznego (SCO). Podczas biosyntezy SCO również istotne znaczenie odgrywa pobierany z podłoża glicerol, który po fosforylacji do L-3-fosfoglicerolu wykorzystywany jest jako szkielet do biosyntezy triacylogliceroli [37].

5. Produkcja skrobi ziemniaczanej

Skrobia jest odnawialnym biopolimerem, występującym naturalnie w przyrodzie w wielu różnych roślinach, a przede wszystkim w zbożach i bulwach ziemniaka. Określone cechy fizyczne i chemiczne umożliwiają jej łatwą modyfikację oraz przydatność w wielu gałęziach przemysłu (spożywczym, drzewno-papierniczym, włókienniczym). Światowy rynek produkcji skrobi zdominowany jest głównie przez skrobię kukurydzianą i pszeniczną, które uznawane są za w pełni zastępowalne w stosunku do ziemniaczanej. Nie można jednak zapominać o pewnych argumentach, przemawiających na korzyść produkcji skrobi z ziemniaków. W porównaniu do innych surowców, charakteryzuje się ona wyższą jakością [10]. Wynika to głównie z dużej wielkości ziaren skrobiowych w bulwach ziemniaka w porównaniu

do innych surowców. Skrobia gruboziarnista charakteryzuje się lepszymi właściwościami fizycznymi (bielsza, o większej lepkości), a ponadto łatwiej ulega dekstrynizacji, scukrzaniu i kleikowaniu [42]. Argumentem przemawiającym za produkcją skrobi ziemniaczanej jest również znaczenie upraw ziemniaka skrobiowego. Dalsze zmniejszanie powierzchni upraw okopowych może prowadzić do niekorzystnych zmian w płodzinie i zagrozić istotnemu celowi Wspólnej Polityki Rolnej, jakim jest zachowanie bioróżnorodności upraw oraz osiągnięcie zróżnicowanych strukturalnie systemów uprawy rolnej [10].

W najbliższych latach polski przemysł krochmalniczy będzie musiał zmierzyć się z kolejnymi trudnościami, związanymi ze zmianami we Wspólnej Polityce Rolnej, a mianowicie zniesieniem dopłat produkcyjnych dla producentów skrobi. Może to doprowadzić do kryzysu w przetwórstwie krochmalniczym i zmniejszenia produkcji skrobi ziemniaczanej, która w ostatnich latach wynosiła ok. 105 tysięcy ton. W zaistniałej sytuacji przedsiębiorstwa powinny szukać nowych rozwiązań umożliwiających zmniejszenie kosztów produkcji skrobi [10]. Jednym ze sposobów może być szukanie nowych metod ekonomicznej utylizacji głównych odpadów pochodzących z procesu produkcyjnego – wycierki oraz wody sokowej.

5.1. Charakterystyka odpadowej ziemniaczanej wody sokowej i kierunki jej wykorzystania

Przemysł krochmalniczy należy do największych producentów ścieków w branży spożywczej. Ich cechą charakterystyczną jest wysoka zawartość substancji organicznych i biogenych, a także kampanijność wytwarzania, co stwarza bardzo duże trudności w ich utylizacji. Podstawowym odpadem wchodzącym w skład ścieków z przemysłu ziemniaczanego jest woda sokowa [24], której powstaje około 600 ton przy przerobieniu

1000 ton ziemniaków [25]. W skład odpadowej wody sokowej wchodzi ok. 1% substancji nieorganicznych oraz 4% organicznych, z czego 2% stanowią związki białkowe [21]. W Polsce, w celu zmniejszenia obciążenia ścieków z przemysłu ziemniaczanego, stosuje się usuwanie związków azotowych poprzez koagulację kwasowo-termiczną [24]. Podczas tego procesu do koagulatu przechodzi ok. 34% suchej substancji wody sokowej, 54 % białka surowego oraz 74% białka właściwego. W związku z tym, że koagulat zawiera głównie białko właściwe, w odbiałczonej wodzie sokowej pozostaje przede wszystkim część białka surowego, w którego skład wchodzi białko rozpuszczalne oraz substancje azotowe niebiałkowe (peptydy, aminokwasy i mineralne związki azotu) [25].

Woda sokowa po odbiałczeniu w dalszym ciągu charakteryzuje się bogatym i zróżnicowanym składem chemicznym [24, 25]. Zawartość suchej substancji stwierdzono na poziomie 3,8%, a związków białkowych ok. 1,4%, z czego 78% stanowi białko rozpuszczalne i substancje azotowe niebiałkowe. Spośród aminokwasów wolnych i związanych w największej ilości występują kwas asparaginowy i glutaminowy. Zawartość cukrów redukujących (głównie glukoza, ramnoza i galaktoza) wynosi około 0,5–1,0%. Woda sokowa charakteryzuje się również zawartością popiołu rzędu 1,1–1,2%. W jego skład wchodzi między innymi potas, magnez, wapń, fosfor, sód i cynk. W wodzie sokowej wykryto również biotynę oraz kwasy organiczne, głównie szczawowy, cytrynowy i jabłkowy.

Powszechnie stosowaną metodą zagospodarowania wody sokowej jest jej rozcieńczenie wodą, a następnie wykorzystanie do spryskiwania łąk lub rolniczego nawadniania. Działanie takie umożliwia wzbogacenie gleby w związki azotowe przyswajalne przez rośliny i obniżenie jej kwasowości. Jest to naturalna, biologiczna metoda oczyszczania ścieków połączona z ich rolniczym wykorzystaniem. Do głównych zalet tej metody należą względy ekonomiczne oraz prostota jej realizacji [27]. Metoda ta może jednak budzić pewne obawy ze względu na duży ładunek zanieczyszczeń ziemniaczanej wody sokowej wyrażony wysokimi wskaźnikami ChZT i BZT₅ (odpowiednio ok. 30 000 mg O₂ · L⁻¹ oraz ok. 22 000 mg O₂ · L⁻¹). W celu odpowiedniego zutylizowania tego odpadu konieczne są duże ilości tlenu, niezbędne do rozkładu obecnych w wodzie sokowej substancji. Z tego powodu wskazane jest szukanie alternatywnych metod utylizacji odpadowej ziemniaczanej wody sokowej [19, 25, 29]. Do metod takich może należeć jej wykorzystanie w procesach biotechnologicznych.

Ziemniaczana woda sokowa, ze względu na bogaty skład chemiczny, może stanowić przydatny substrat do mikrobiologicznej syntezy białka. Jednocześnie można znacząco obniżyć ładunek zanieczyszczeń w ściekach

poprodukcyjnych. Liczne badania [19, 23, 25, 36] potwierdziły możliwość wykorzystania odbiałczonej ziemniaczanej wody sokowej w procesach biotechnologicznych, co umożliwiło zredukowanie wskaźników BZT₅ i ChZT nawet o 60–90%.

6. Podsumowanie

W ostatnich latach coraz częściej podejmuje się badania nad możliwością wykorzystania surowców odpadowych w procesach biotechnologicznych. Powstająca podczas produkcji skrobi odpadowa ziemniaczana woda sokowa charakteryzuje się wysoką zawartością różnych składników odżywczych niezbędnych do wzrostu drożdży. Należą do nich przede wszystkim przyswajalne formy azotu (wolne aminokwasy i peptydy, związki nieorganiczne). Obecne są w niej również składniki mineralne, takie jak potas, magnez i fosfor, które są kluczowe do prawidłowego funkcjonowania enzymów i przebiegu procesów biochemicznych w komórkach drożdży. Ze względu na niskie stężenia cukrów prostych, korzystne jest konstruowanie pożywek poprzez łączenie wody sokowej z innymi substratami stanowiącymi źródło węgla. Jednym z takich surowców może być frakcja glicerynowa, powstająca w procesie otrzymywania biodiesla. Drożdże *C. utilis* wykazują zdolność do wydajnego wzrostu i asymilacji tego związku z podłoża hodowlanego [18]. Połączenie takie umożliwia uzyskanie wyższego plonu biomasy drożdży, niż podczas hodowli na samej wodzie sokowej [5]. W rezultacie istnieje możliwość utylizacji kłopotliwych odpadów przemysłowych, z jednoczesną produkcją biomasy drożdżowej ukierunkowaną na biosyntezę wartościowych składników odżywczych, takich jak białko, tłuszcz, glukany, witaminy oraz metalobiałka.

Piśmiennictwo

1. Amaral P.F.F., Ferreira T.F., Fontes G.C., Coelho M.A.Z.: Glycerol valorization: New biotechnological routes. *Food Bioprod. Process.* **87**, 179–186 (2009)
2. Anupama, Ravindra P.: Value-added food: Single cell protein. *Biotechnol. Adv.* **18**, 459–479 (2000)
3. Błażej S.: Studia nad pozyskiwaniem biopleksów z biomasy drożdży *Candida utilis* wzbogaconych magnezem. Wyd. SGGW, Warszawa, 2006
4. Błażej S., Duszkiwicz-Reinhard W., Gniewosz M., Kamiński T.: Badanie zdolności wiązania magnezu przez drożdże paszowe *Candida utilis* ATCC 9950 w warunkach hodowli wglębnej. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* **2**, 109–123 (2003)
5. Błażej S., Gientka I., Bzducha-Wróbel A., Stastak-Różańska L., Maszewska M.: Ocena zdolności biosyntezy tłuszczu przez drożdże *Rhodotorula gracilis* w podłożach zawierających ziemniaczaną odpadową wodę sokową wzbogaconą glicerolem. *ZPPNR*, **576**, 3–12 (2014)

6. Brown C.M., Rose A.H.: Fatty-Acid Composition of *Candida utilis* as Affected by Growth Temperature and Dissolved-Oxygen Tension. *J. Bacteriol.* **99**, 371–378 (1969)
7. Bzducha-Wróbel A., Kieliszek M., Błażej S.: Chemical composition of the cell wall of probiotic and brewer's yeast in response to cultivation medium with glycerol as a carbon source. *Eur. Food Res. Technol.* **237**, 489–499 (2013)
8. Dobrzański Z., Dolińska B., Chojnacka K., Opaliński S., Ryszka F.: Znaczenie drożdży w żywieniu zwierząt gospodarskich. *Acta Sci. Pol., Madic. Veterin.* **5**, 49–66 (2006)
9. Dobson R., Gray V., Rumbold K.: Microbial utilization of crude glycerol for the production of value – added products. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **39**, 217–226 (2012)
10. Dzwonkowski W.: Perspektywy rynku skrobi i produkcji ziemniaków skrobiowych w kontekście zmian Wspólnej Polityki Rolnej. *Biul. IHAR*, **265**, 99–108 (2012)
11. Edzard S., Torsten R., Jochen T.: Continuous cultivation approach for fermentative succinic acid production from crude glycerol by *Basfia succiniciproducens* DD1. *Biotechnol. Lett.* **31**, 1947–1951 (2009)
12. Enshaeieh M., Abdoli A., Nahvi I., Madani M.: Bioconversion of different carbon sources in to microbial oil and biodiesel using oleaginous yeasts. *J. Biol. Today's World*, **1**, 82–92 (2012)
13. Fidler N., Koletzko B., Sauerwald T.U.: Single cell oils production and application. *Zb. Biotehniške fak. Univ. v Ljubljani. Kmetijstvo. Zootehnika*, **74**, 37–45 (1999)
14. Gancedo C., Gancedo J.M., Sols A.: Glycerol Metabolism in Yeasts. Pathways of Utilization and Production. *Eur. J. Biochem.* **5**, 165–172 (1968)
15. Jarociński J., Jarosz K.: Gorzelnictwo i drożdźownictwo. Wydawnictwa Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa, 1983
16. Jamroz D., Buraczewski S., Kamiński J.: Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo tom 1. Fizjologiczne i biochemiczne podstawy żywienia zwierząt. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2001
17. Jay J.M.: Modern food microbiology. Chapman & Hall, London, 1992
18. Juszczak P., Musiał I., Rymowicz W.: Dobór szczepów drożdży do produkcji biomasy z glicerolu odpadowego. *Acta Sci. Pol., Biotechnol.* **4**, 65–76 (2005)
19. Kosiek E.: Próby wykorzystania soku ziemniaczanego w produkcji drożdży piekarskich. *Zesz. Nauk. PŁ, Technol. Chem. Spoż.* **648**, 31–41 (1993)
20. Kośmider A., Drożdżyńska A., Czaczek K.: Możliwość wykorzystania surowców odpadowych w procesie fermentacji propionowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, **6**, 45–58 (2009)
21. Kowalczewski P., Celka K., Białas W., Lewandowicz G.: Antioxidant activity of potato juice. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* **11**, 175–181 (2012)
22. Kurtzman C.P., Fell J.W.: The Yeasts A Taxonomic Study. Fourth Revised and Enlarged Edition. Vol 1. Elsevier, New York, 1998
23. Liu B., Song J., Li Y., Niu J., Wang Z., Yang Q.: Towards Industrially Feasible Treatment of Potato Starch Processing Waste by Mixed Cultures. *App. Biochem. Biotechnol.* **171**, 1001–1010 (2013)
24. Lubiewski Z., Śmiegielska H., Lewandowicz G., Balcerek W.: Charakterystyka odcieku po koagulacji białka pozyskiwanego w toku kampanii krochmalniczej. *ZPPNR*, **511**, 617–626 (2006)
25. Łabendziński S.: Surowce niekonwencjonalne dla przemysłowej biosyntezy białka. II. Odpady przemysłu krochmalniczego. *Przem. Ferm. i Rolny*, **20**, 1–3 (1976)
26. Mardarowicz L.: Drożdże w żywieniu drobiu. *Pol. Drobiar.* **9**, 14–16 (1997)
27. Marzec H.: Wpływ nawadniania ściekami krochmalniczymi na plonowanie roślin. *ZPPNR*, **414**, 119–125 (1994)
28. Microorganisms & Microbial-Derived Ingredients Used in Food (Partial List). Food and Drug Administration, <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/MicroorganismsMicrobialDerivedIngredients/default.htm> (22.02.2015)
29. Miedzianka J., Pęksa A., Smolarczyk E.: Zastosowanie przemysłowego soku ziemniaczanego do otrzymywania preparatów białka arylowanego. *ZPPNR*, **557**, 261–273 (2010)
30. Miura Y., Kondo K., Toshiko S., Shimada H., Fraser P.D., Misawa N.: Production of the Carotenoids Lycopene, β -Carotene, and Astaxanthin in the Food Yeast *Candida utilis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 1226–1229 (1998)
31. Moser R.B.: Biodiesel production, properties, and feedstocks. *In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant*, **45**, 229–266 (2009)
32. Munawar R.A., Irfan M., Nadeem M., Syed Q.A., Siddique Z.H.: Biosynthesis of single cell biomass of *Candida utilis* by submerged fermentation. *Pak. J. Sci.* **62**, 1–5 (2010)
33. Muniraj I.K., Xiao L., Hu Z., Zhan X., Shi J.: Microbial lipid production from potato processing wastewater using oleaginous filamentous fungi *Aspergillus oryzae*. *Water Res.* **47**, 3477–3483 (2013)
34. Musiał I., Rymowicz W., Kita A.: Produkcja biomasy drożdży *Yarrowia lipolytica* z tłuszczów odpadowych po smażeniu produktów przekąskowych. *Acta Sci. Pol., Biotechnol.* **3**, 75–83 (2004)
35. National Center for Biotechnology Information, www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy (22.02.2015)
36. Nowak J., Lasik M.: Wysokotemperaturowa bioremediacja ścieków z przemysłu ziemniaczanego z wykorzystaniem mieszanej kultury bakteryjnej. *Nauka Przyr. Technol.* **3**, 1–10 (2009)
37. Papanikolaou S., Aggelis G.: Lipids of oleaginous yeast. Part I: Biochemistry of single cell oil production. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **113**, 1052–1073 (2011)
38. Piwowarczyk K.: Zachowanie otoczenia przy produkcji biodiesla do celów transportowych, pochodzących z przeróbki rzepaku (w) Materiały Krakowskiej Konferencji Młodych Uczonych, Fundacja Studentów i Absolwentów Akademii Górniczo-Hutniczej „Academica”, Kraków, 2007, 335–341
39. Podkówa W.: Biopaliwo, gliceryna, pasza z rzepaku. Wyd. Akademii Techniczno-Rolniczej, Bydgoszcz, 2004
40. Produkcja biodiesla na świecie w 2013 roku i prognozy na rok 2014. *Gospodarz.pl*, <http://www.gospodarz.pl/aktualnosci/paliwa-i-biopaliwa/produkcja-biodiesla-na-swiecie-w-2013-roku-i-prognozy-na-2014-rok.html> (22.02.2015)
41. Quispe C.A.G., Coronado C.J.R., Carvalho J.A.Jr.: Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. *Renew. Sust. Energ. Rev.* **27**, 475–493 (2013)
42. Ratuszniak E., Kubas A.: Wykorzystanie metody mikroskopowej do badania wielkości ziaren skrobi u różnych gatunków roślin. *SPB*, **4**, 93–107 (2007)
43. Rosiak E., Łopaciuk W., Krzemiński M.: Produkcja biopaliw i jej wpływ na światowy rynek zbóż oraz roślin oleistych i tłuszczów roślinnych. Instytut Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej – Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa, 2011
44. Russel S.: Biotechnologia. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, 1990
45. Rywińska A.: Wykorzystanie glicerolu odpadowego do biosyntezy kwasu cytrynowego przez *Yarrowia lipolytica* Wratislavia AWG 7. *Acta Sci. Pol., Biotechnol.* **7**, 13–22 (2008)
46. Rywińska A., Juszczak P., Wojtatowicz M., Robak M., Lazar Z., Tomaszewska L., Rymowicz W.: Glycerol as a promising substrate for *Yarrowia lipolytica* biotechnological applications. *Bio-mass Bioenerg.* **48**, 148–166 (2013)
47. Sun-Ae J., Chuloo M., Cheol-Hee K., Sean W.K., Byoung-In S., Youngsoon U.: Microbial Fed-batch Production of 1,3-Propanediol Using Raw Glycerol with Suspended and Immobilized *Klebsiella pneumoniae*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **161**, 491–501 (2010)

48. Stasiak L., Błażej S.: Acetic acid bacteria – perspectives of application in biotechnology – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* **59**, 17–23 (2009)
49. Taccari M., Canonico L., Comitini F., Mannazzu I., Ciani M.: Screening of yeasts for growth on crude glycerol and optimization of biomass production. *Bioresour. Technol.* **110**, 488–495 (2012)
50. Tomita Y., Ikeo K., Tamakawa H., Gojobori T., Ikushima S.: Genome and Transcriptome Analysis of the Food-Yeast *Candida utilis*. *PLoS ONE*, **7**: e37226. Doi:10.1371/journal.pone.0037226, 1–10 (2012)
51. Tys J., Piekarski W., Jackowska I., Kaczor A., Zając G., Starobrat P.: Technologiczne i ekonomiczne uwarunkowania produkcji biopaliw z rzepaku. *Acta Agrophys.* **99** (2003)
52. Walker G.M.: Yeast – Physiology and Biotechnology. Wiley, New York, 1998
53. Xue F., Miao J., Zhang X., Luo H., Tan T.: Studies on lipid production by *Rhodotorula glutinis* fermentation using monosodium glutamate wastewater as culture medium. *Bioresour. Technol.* **99**, 5923–5927 (2008)
54. Yanez E., Ballester D., Fernandez N., Gattas V., Monckeberg F. 1972: Chemical composition of *Candida utilis* and the biological quality of the yeast protein. *J. Sci. Food Agric.* **23**, 581–586 (1972)
55. Yen H., Yang Y., Yu Y.: Using crude glycerol and thin stillage for the production of microbial lipids through the cultivation of *Rhodotorula glutinis*. *J. Biosci. Bioeng.* **114**, 453–456 (2012)
56. Zestawienie wytworzonych i sprzedanych biokomponentów – 2013. Urząd Regulacji Energetyki, <http://www.ure.gov.pl/pl/rynki-energii/paliwa-ciekłe/biokomponenty-i-biopaliw/dane-dotyczace-rynku-b/5379,Zestawienie-wytworzonych-i-sprzedanych-biokomponentow-2013.html> (22.02.2015)