

Elżbieta Malarczyk,
Janina Kochmańska-Rdest,
Krystyna Kapusta,
Andrzej Leonowicz

Zakład Biochemii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
Lublin

Hodowla grzybów jadalnych na odpadach z przemysłu spożywczego

1. Wstęp

Od tysiącleci grzyby służą człowiekowi jako pokarm i jako środki lecznicze stosowane w medycynie naturalnej. Zawierają one łatwo przyswajalne białko roślinne, witaminy, bogaty zestaw mikroelementów oraz komponenty unikatowe, które decydują o ich leczniczych właściwościach (1).

Grzybnią niektórych gatunków jest już od dawna produkowana na podłożach wzbogacanych odpadami przemysłu spożywczego, celulozowego, rafineryjnego itp. Zagadnienie to już omawialiśmy (2). Z przeprowadzonej analizy wynika, że spośród około 2000 ogólnie znanych gatunków grzybów jadalnych tylko kilka jest produkowanych w formie owocników na skalę przemysłową dla celów spożywczych. Produkcja ta jest rozwijana głównie w krajach Europy Zachodniej, w Ameryce Północnej, Chinach i Japonii. Są to przede wszystkim owocniki pieczarki (*Agaricus*), boczników (*Pleurotus*) oraz twardziaka Shiitake (*Lentinus edodes*). Obecnie w USA opracowano także sposób produkcji owocników smardza (*Morchella*) (3). Inne grzyby, z uwagi na brak możliwości uzyskania owocników w sztucznej hodowli, nie doczekały się w Europie znacniejszego udziału w żywieniu, choć smakowo im nie ustępują. O dużych możliwościach wykorzystania odpadów przemysłowych do produkcji biomasy różnych grzybów jadalnych świadczą liczne patenty krajowe i zagraniczne. W przyszłości powinno to znacznie ułatwić zarówno zagospodarowanie zanieczyszczających środowisko odpadów jak i uzyskanie większych ilości łatwo przyswajalnego białka dla celów spożywczych i paszowych.

W porównaniu z innym materiałem mikrobiologicznym – bakteryjnym, drożdżowym lub pleśniowym, biomasa grzybowa zawiera znacznie mniej kwasów nukleinowych i charakteryzuje się zdolnością wytwarzania enzymów, ułatwiających wykorzystanie różnych naturalnych podłoży stałych i płynnych. Grzybnie z hodowli *Basidiomycetes* (grzyby kapeluszowe) oraz niektórych *Ascomycetes* (np. smardz) nie różnią się walorami spożywczymi od ich owocników. Prowadzenie tych hodowli wbrew powszechnemu przekonaniu nie przedstawia większych trudności niż hodowla pleśni. Grzybnia *Basidiomycetes* zawiera średnio 30–50% białka bogatego w lizynę i metioninę. Może być namnażana bądź w hodowli stacjonarnej, bądź w hodowli wgłębnej pod warunkiem dobrego napowietrzania. Rośnie ona wtedy w postaci kulistych strzępek, które łatwo dają się oddzielić od płynnego podłoża (4).

Celem niniejszych badań była produkcja grzybni niektórych grzybów jadalnych przy wykorzystaniu jako podłoża głównie serwatki i wywaru gorzelnianego. Wymienione produkty, ze względu na zawarte w nich węglowodany, białka, witaminy i sole mineralne, mogą stanowić właściwą bazę surowcową dla takiej produkcji. Z drugiej strony, nieodpowiednie zagospodarowanie tych odpadowych produktów stanowi w Polsce stałe zagrożenie skażenia nimi środowiska.

2. Materiały i metody

2.1. Szczepy grzybowe

Do badań wybrano z kolekcji szczepów Zakładu Biochemii UMCS (symbol kolekcji FCL) gatunki szczepów grzybów jadalnych, znane z walorów smakowo-zapachowych, takie jak: pieczarka polna (*Agaricus campestris* FCL 65), opieńka miodowa (*Armillariella mellea* FCL 14), koźlarz babka (*Leccinum scabrum* FCL 70), mleczaj rydz (*Lactarius deliciosus* FCL 68), bocznik ostrygowaty (*Pleurotus ostreatus* FCL 13), smardz półwolny (*Morchella gigas* FCL 80), luszczak zmienny (*Kuehneromyces mutabilis* FCL 1), twardziak jadalny (*Lentinus edodes* FCL 101) i podgrzybek brunatny (*Xerocomus badius* FCL 76) (5,6). W celu adaptacji do podłoża serwatkowego i wywarowego, szczepy pasażowano w zależności od gatunku grzyba na pożywkach Lindeberga (7) lub Fahraeusa (8), wzbogaconych dodatkiem stopniowo zwiększających się ilości serwatki lub wywaru. Opis takiego pasażowania znaleźć można w patentach Zakładu Biochemii (9–10).

2.2. Podłoża

Do standardowych pożywek Lindeberga (7) lub Fahraeusa (8) dodawano w różnych proporcjach produkty uboczne przemysłu spożywczego, głównie mleczarskiego i gorzelniczego. Stanowiły one podstawowe źródło węgla, azotu, witamin i mikroelementów dla rosnącej grzybni. Były to: serwatka spożywcza, wstępnie odbiałczona przez autoklawowanie, wywar gorzelniany ziemniaczany, oraz koncentrat cukrowo-białkowy, który jest produktem zagęszczania serwatki. Prócz tego, przebadano także wpływ niewielkich ilości melasy z przerobu buraka cukrowego, namoku kukurydzianego oraz mąki sojowej. Skład wymienionych produktów zestawiono w tab. 1.

Tabela 1

Przeciętny skład badanych produktów ubocznych

Produkt	Składniki (%)						Inne składniki	Referencje
	sucha masa	białko	główny cukier	cukry redukujące	tluszcze	popiół (składniki mineralne)		
serwatka kwasowa	5,5	0,5	laktoza 4,8	–	0,083	0,5 (K, Mg, Ca, Na, P, Fe, U, Zn, Co, Cu)	wit. A, E, B ₁ , B ₂ , B ₆ , B ₁₂ , C, H, K, PP, karoten, cholina	(11)
koncentrat cukrowo-białkowy	40	25,7	laktoza 25,7	–	0,4	2,44 (Ca: 40mg)	–	(11)
wywar gorzelniany ziemniaczany	4,3	–	laktoza 0,31 maltoza 0,42	0,74	–	0,5	–	(12)
melasa buraczana	80	–	sacharoza 50	0,30	0,0	8,6 (K, Na, Ca, Mg, Fe, P, Cl, Si)	cholina PP, B ₂ , kwas pantotenowy	(13)
namok kukurydziany	50	50	sacharoza 50	–	–	20 (Ca, K, P)	witam. grupy B, biostymulatory	(14)

Metody hodowli

Zaadaptowane szczepy grzybów przeszczepiano na podłoże płynne, zawierające odpowiednio rozcieńczoną serwatkę lub wywar gorzelniany. Niektóre warianty hodowlane prowadzono też na mieszaninie serwatki i wywaru albo dodawano do nich inne surowce, takie jak koncentrat cukrowo-białkowy czy melasa. Każdorazowo zakładano dwa typy hodowli: powierzchniową i wgłębną, obie przy temperaturze 23°C. Wszystkie podłoża doprowadzano przed hodowlą do wartości pH 5,5 jako najbardziej uśrednionej dla wymagań większości testowanych grzybów. Dla porównania część hodowli wgłębnych prowadzono przy pH nie modyfikowanym fosforanami bądź rozcieńczaniem serwatki lub wywaru, tj. odpowiednio przy pH 4,6 i 4,4. Pozwalało to na porównanie wpływu pH na wydajność hodowli.

a. Hodowle powierzchniowe

Prowadzono je albo w poziomo ułożonych kolbach Roux albo na płytkach Petriego o średnicy 20 cm. Po sterylnym rozlaniu warstwy pożywki w naczyniu do wysokości 0,8 cm strzępki grzybni z agaru lub innej hodowli przenoszono na powierzchnię nowego podłoża, rozmieszczając je w kilku punktach. Umożliwiała to równomierne rozprzestrzenianie się grzybni podczas hodowli.

b. Hodowle wgłębne

Hodowle te prowadzono na małą skalę w kolbach Roux, ustawionych pionowo, zawierających po 400 ml podłoża. Kolby zaopatrzone były w rurki szklane, osadzone w korku z waty i sięgające dna naczynia, przez które tłoczono sterylne powietrze. Po zoptymalizowaniu warunków wzrostu, podobne hodowle zakładano w butlach szklanych 10-litrowych, również zaopatrzonych w układ napowietrzająco-mieszający. W butlach tych umieszczano 4,5 l podłoża i szczepiono go materiałem nahodowanym w kolbach Roux po 2–4 dniach wzrostu w proporcji objętościowej inoculum do nowego podłoża jak 1:20. W części hodowli rejestrowano zmiany pH, a także oznaczano suchą masę grzybni. Zawarte w niej rozpuszczalne białko oznaczano metodą Folina–Ciocolteau (15), a poziom cukrów i innych substancji o charakterze redukującym – metodą Somogyi–Nelsona (16).

3. Wyniki

3.1. Możliwości wzrostowe i wydajność hodowli badanych gatunków grzybów

W pierwszym etapie badań przeprowadzono selekcję wybranych szczepów pod względem możliwości wzrostowych na serwatce i wywarze gorzelnianym. Produkty te rozcieńczano i mieszano w różnych proporcjach. Szczepy, dobrze rosnące na podłożach z dodatkiem niskiej zawartości obu wymienionych produktów, stopniowo przystosowywano do wyższych stężeń. Ze skosów agarowych grzybnię przenoszono na podłoże płynne wzbogacone serwatką i wywarem gorzelnianym, wg wariantów zestawionych w tab. 2. Dodatek innych produktów przemysłu spożywczego uwzględniono również w tab. 3.

Wyniki zamieszczone w tab. 2 i 3 wskazują zdecydowane preferencje różnych rodzajów podłoży dla wzrostu wybranych grzybów. Tak np. podłoże serwatkowe samo lub wzbogacone koncentratem cukrowo-białkowym jest korzystne dla hodowli koźlarza, smardza i bocznika, a rydz i twardziak rosły dobrze w nieobecności serwatki.

Tabela 2

**Wzrost grzybów jadalnych na podłożach z dodatkiem serwatki i wywaru gorzelnianego
w hodowli stacjonarnej po 10 dniach hodowli**

Gatunek	Rodzaj podłoża**				
	1	2	3	4	5
<i>Agaricus campestris</i>	+++*	++	++++	++	++
<i>Pleurotus ostreatus</i>	++	+++	++++	++	++
<i>Armillaria mellea</i>	+++	++	++	+	++
<i>Leccinum scabrum</i>	++++	+++	++++	++	++
<i>Lactarius deliciosus</i>	++++	+	++	+++	+
<i>Morchella gigas</i>	++	++++	++	+	+++
<i>Kuehneromyces mutabilis</i>	+++	+	++	+	+
<i>Lentinus edodes</i>	+++	0	+	++	+
<i>Xerocomus badius</i>	++	++	+	++	+

*Powierzchnia zarośnięta przez grzybnie: 0-brak wzrostu, + - 25%, ++ - 50%, +++ - 75%, ++++ - 100%;

**Rodzaje podłoża: 1-1- wywar: H₂O (1:1), 2- serwatka: H₂O (1:1), 3- wywar: serwatka (1:1), 4-wywar: serwatka (3:1), 5-wywar: serwatka (1:3).

Tabela 3

**Wzrost trzech gatunków grzybów jadalnych w hodowlach powierzchniowych
na podłożu serwatkowym z dodatkiem mąki sojowej*, namoku z kukurydzy**
oraz koncentratu cukrowo-białkowego*****

Gatunek	Serwatka (100%)	Koncentrat (10%)	Mąka sojowa (2,5%)	Namok (2,5%)	Wzrost (po 5 dniach)	Wydajność (po 10 dniach)
<i>Leccinum scabrum</i>	+	+	+	-	+	3,15%
	+	+	-	+	+++	3,45%
	+	+	+	+	++	2,93%
<i>Morchella gigas</i>	+	+	+	-	++	2,81%
	+	+	-	+	++	3,30%
	+	+	+	+	+++	3,25%
<i>Lactarius deliciosus</i>	+	+	+	-	-	0,92%
	+	+	-	+	+	1,72%
	+	+	+	+	+	1,65%

*Mąka sojowa brazylijska; **produkt krajowy; ***produkt przemysłowy, uzyskany przez zagęszczenie serwatki.

3.2. Hodowle wgłębne

Dla wybranych na podstawie danych zawartych w tab. 2 i 3 gatunków grzybów zakładano hodowle wgłębne na podłożach, zawierających 2% (w przeliczeniu na suchą masę) serwatki lub wywaru i obserwowano przyrost grzybnii. Już po 2 dniach w hodowlach wgłębnych grzybnia namnażała się w postaci kulek o postrzępionych brzegach o średnicy 5-10 mm i dawała się łatwo oddzielić od podłoża. Po zakończeniu hodowli, namnożoną grzybnie odsączano na war-

stwie gazy i suszono w temperaturze 50–60° C w suszarce do jarzyn, grzybów i owoców albo też sporządzono homogenat i w nim oznaczono białko, cukier i suchą masę grzybni. Niektóre parametry wzrostowe wybranych gatunków grzybów w hodowli wglębnej ilustrują wyniki z tab. 4.

Tabela 4

Charakterystyka wzrostu wybranych gatunków grzybów

Podłoże	Gatunek	Wydajność grzybni		Białko (% suchej masy)
		% s.m. do objętości hodowli	% s.m. do suchej masy serwatki	
wywar gorzelniany	<i>Leccinum scabrum</i>	1,33	66,5	45,2
	<i>Xerocomus badius</i>	1,18	59,0	41,9
	<i>Lactarius deliciosus</i>	1,42	68,3	47,3
serwatka	<i>Kuehneromyces mutabilis</i>	1,24	62,0	33,3
	<i>Pleurotus ostreatus</i>	1,08	54,0	35,6
	<i>Armillaria mellea</i>	0,97	48,5	34,1
	<i>Leccinum scabrum</i>	1,12	56,0	35,7
	<i>Xerocomus badius</i>	1,21	60,5	39,4

Hodowla wglębna na podłożach wzbogaconych serwatką lub wywarem gorzelnicznym (czas hodowli 48 godzin).

Z danych zawartych w tab. 5 wynika, że grzyby wykazały dobry wzrost w pH niskim, nie przekraczającym wartości 4,6. Stwierdzono także tendencję do lekkiej alkalizacji podłoża hodowlanego podczas wzrostu grzybni w podłożach i w płynie pohodowlanym o pH początkowym 5,5. We wszystkich hodowlach uzyskano znaczący przyrost masy grzybni w granicach 1–1,5% jej suchej masy w stosunku do objętości podłoża. Grzybnia ta zawierała od 33 do 47% rozpuszczalnego białka, co stanowiło 68% wykorzystania białka serwatki i 62% białka wywaru.

Tabela 5

Zmiany pH i zawartości azotu

Gatunek	pH podłoża		Zawartość azotu (mg/ml)	
	początkowo	po 3 dniach hodowli	początkowo	po 3 dniach hodowli
<i>Leccinum scabrum</i>	5,5	6,6	5,04	4,20
<i>Morchella gigas</i>	5,5	6,4	5,04	4,13
<i>Lactarius deliciosus</i>	5,5	5,6	5,04	4,96
<i>Agaricus campestris</i>	5,5	6,5	5,04	3,78

Testowano podłoże serwatkowe po 3 dniach hodowli wglębnej czterech gatunków grzybów jadalnych.

3.3. Porównanie hodowli powierzchniowych i hodowli wglębnych

Do sporządzenia ilościowej charakterystyki obu typów hodowli wybrano grzybnię smardza (*Morchella*) i koźlarza (*Leccinum*), wykazujących dobre przyrosty grzybni w obu wariantach hodowlanych, tj. po wzroście na pożywce serwatkowej i na wywarze. Uzyskane dane zestawione są w tab. 6. Do ostatniej wersji hodowli wykorzystano podłoże mieszane serwatkowo-wywarowe

pH 5,5 o stosunku serwatki do wywaru jak 1 do 3. Pozwoliło to na dwukrotne podwyższenie wydajności produkowanej grzybni (tab. 6).

Tabela 6

Porównanie parametrów wzrostu koźlarza (*Leccinum scabrum*) i smardza (*Morchella gigas*) w hodowlach stacjonarnych i wglębnych na podłożu serwatkowo-wywarowym* (1:3)

Typ hodowli	Gatunek	Czas (dni)	Białko	Azot	Węglowodany	Aromat grzybni	Smak grzybni**	Wydajność s.m. grzybni do obj. hodowlanej
			ogólne	całk.				
			(% s.m. grzybni)					
stacjonarna	<i>Leccinum scabrum</i>	14	21,7	3,5	2,2	silny	d, ł, ls	2,55
	<i>Morchella gigas</i>	14	23,5	3,7	2,3	silny	d, ł, lg	2,42
wglębna	<i>Leccinum scabrum</i>	7	19,5	3,2	2,0	słaby	bw	2,61
	<i>Morchella gigas</i>	7	22,4	3,8	2,2	słaby	lg	1,98

*Wywar gorzelniany, ziemniaczany; **przyjęte oznaczenia smaku grzybni: bw-bez wyrazu, d-dobry, lg-lekko gorzki, ls-lekko słony, ł-tłagodny.

4. Omówienie wyników

Grzybnia w hodowlach powierzchniowych stanowi dość zwięźle wytworzoną masę, pokrytą z wierzchu wyraźnie zaznaczającą się warstwą grzybni powietrznej o puszystej strukturze. Grzybnia z hodowli wglębnych ma utkanie strzępek znacznie luźniejsze, lecz nie wytwarza grzybni powietrznej. Po wysuszeniu, grzybnia ta ma znacznie słabiej zaznaczony zarówno smak jak i zapach w porównaniu z grzybnią, hodowaną powierzchniowo, która wykazuje cechy organoleptyczne właściwe dla badanego gatunku grzyba, rosnącego w naturze. Aromat tych grzybni, pozostający po ich wysuszeniu, predysponuje produkt do wykorzystania w przemyśle spożywczym jako substytut owocników. Smakowo-zapachowe walory grzybów jadalnych stwierdza się głównie w grzybni stosunkowo młodej. Dla hodowli stacjonarnych odpowiadało to grzybni 10-14-dniowej, dla hodowli wglębnej 3-4-dniowej. Starzenie się grzybni z hodowli wglębnych następowało zazwyczaj już po 5 dniach wzrostu, w stacjonarnej – po około 15. Oba rodzaje grzybni oraz podłoże hodowlane znacznie wówczas ciemnieją. Smak grzybni z lekko słonego staje się cierpko-gorzki i niekorzystnie zmienia się charakterystyczny zapach grzybowy.

Na podstawie wymienionych danych można zatem stwierdzić, że opisane metody hodowlane pozwalają nie tylko na całoroczną produkcję grzybni jadalnych grzybów, o wysokich walorach smakowych, zawierających do 50% łatwo przyswajalnego białka roślinnego, ale także stwarzają możliwości użytecznego zagospodarowania surowców wtórnych z przemysłu spożywczego, które w naszym kraju stanowią istotne zanieczyszczenie środowiska. Hodowle grzybów przy użyciu tych odpadów jako podłoża stwarzają szansę wykorzystania biomasy grzybowej, powstającej po zbiałczeniu serwatki i wywaru gorzelnianego, nie tylko w celach paszowych i spożywczych, lecz także jako zaszczepki dla terenowych hodowców grzybów typu bocznika czy pieczarki.

Prace nad przemysłową produkcją owocników różnych grzybów jadalnych są stale prowadzone w wielu laboratoriach, a w związku z tym należy mieć nadzieję na sukcesywne wprowadzanie nowych biotechnologii w tym zakresie.

Literatura

1. Chang S. T., Hayes W. A., (1978), "The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms"; Eds. S.T.Chang, W.A.Hayes, Acad. Press, New York, San Francisco, London.
2. Leonowicz A., Wojtaś-Wasilewska M., Rogalski J., Luterek J. (1991), Applied Biology Communication, (Lublin), 1/2, 91-101.
3. Company M., (1990), Katalog firmy Noegen Corporation, Lansing, USA.
4. Paszczyński A., Leonowicz A., Trojanowski J., (1975), Przemysł Fermentacyjny i Rolny, 4, 22-24.
5. Grzywnowicz K., Leonowicz A., (1991), Fungal Culture Collection of Department of Biochemistry M.C-S. University in Lublin, Applied Biology Communication, (Lublin), 1/4, 91-102.
6. Dermek A., (1988), Grzyby znane i mniej znane, PWRL, Warszawa.
7. Lindeberg G., Holm G., (1952), Physiol. Plant., 5, 100-114.
8. Fahraeus G., Reinhammer B., (1976), Acta Chem. Scand., 21, 2367.
9. Leonowicz A., Trojanowski J., (1983), Sposób otrzymywania biomasy bogatej w substancje białkowe z serwatki. Patent UMCS, PRL nr 120011.
10. Leonowicz A., Paszczyński A., Trojanowski J., (1984), Sposób wytwarzania biomasy paszowej z wywaru gorzelniczego przez hodowlę grzybów wyższych, Patent UMCS, PRL nr 124417.
11. Popko R., Popko H., Hys L., (1990), Przetwórstwo mleka; nowe techniki i technologie przetwórstwa serwatki, Wyd. PL, Mechanika, Lublin.
12. Jarosz K., Jaroński J., (1965), Technologia gorzelnictwa. WPLIS, Warszawa.
13. Encyklopedia techniki, (1978), pr. zb., WNT, Warszawa, s. 404.
14. Encyklopedia techniki, (1978), pr. zb., WNT, Warszawa, s. 461.
15. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Ferr A. L., Ramdall R. J., (1951), J. Biol. Chem., 193, 265.
16. Samogyi M., (1945), J. Biol. Chem., 160, 61.

Cultivation of edible mushrooms mycelia on waste products from food industry

Summary

The possibility of using milk way or brewery decoct ion for production of fungus mycelium of edible genus is presented in this article. Depending on the culture gender, growing mycelium is like a patch (state culture) or as spherical shreds (immersed culture). *Basidiomycetes* and some *Ascomycetes* mycelia taste and smell as good as native mushrooms, which grow in natural environment and produce fruit bodies.

Growing mycelium is a nontoxic material with above 45% of protein in dry weight. For this reason, the cultivation *in vitro* of edible mushroom mycelia could be a substitute for natural growing mushrooms in the future.

Adres dla korespondencji:

Elżbieta Malarczyk, Zakład Biochemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin.