

**POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA**



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

OPIS PATENTOWY

89 151

Patent dodatkowy
do patentu _____

MKP A01h 15/00

Zgłoszono: 24.04.73 (P. 162 112)

Int. Cl². A01H 15/00

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 01.07.74



Opis patentowy opublikowano: 30.07.1977

Twórca wynalazku: Roman Majchrzak

Uprawniony z patentu: Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego — Akademia Rolnicza,
Warszawa (Polska)

Polowy sposób zbiałczania i uzdatniania słomy oraz innych surowców ubocznych na pasze przy użyciu grzybów wyższych

W związku z ostrym i wzmagającym się deficytem białka spożywczego i paszowego na świecie prowadzi się w różnych krajach próby syntezy białka na drodze mikrobiologicznej, przy użyciu bakterii, glonów oraz grzybów takich jak drożdże, pleśnie (mikrofungi) i grzyby wyższe (macrofungi).

Przemysłowe znaczenie znalazły od kilkunastu lat drożdże zarówno dla celów spożywczych (drożdże spożywcze), jak i dla celów paszowych (drożdże paszowe).

Z grzybów wyższych jedynie smardz hoduje się w skali przemysłowej w celu otrzymania grzybni z przeznaczeniem na cele spożywcze. Grzyby takie jak pleśnie i grzyby wyższe, które wytwarzają grzybnię, mają zdolność rozwijania się nie tylko w podłożu płynnym ale i w stałym czyli mogą być hodowane nie tylko wgłębnie (jak drożdże), ale i powierzchniowo, ponieważ mają zdolność przerastania podłoża stałego. Pleśnie, a zwłaszcza grzyby wyższe, posiadają poza tym szerokie „spektrum enzymatyczne” i dlatego mogą wykorzystywać różne tanie surowce odpadowe zawierające celulozę, hemicelulozę i ligninę, przyczyniając się dodatkowo do oczyszczania środowiska z tych odpadów.

Dla wykorzystania pleśni i grzybów wyższych do syntezy białka z dodanych prostych związków azotowych prowadzone są od wielu lat próby tak wgłębnej jak i powierzchniowej hodowli wybranych gatunków grzybów na różnych podłożach.

Wzbogacenie słomy w białko było po raz pierwszy wykorzystane w Niemczech w czasie I wojny światowej przy użyciu grzyba z rodzaju *Aspergillus*, przy czym uzyskano wzrost białka surowego w słomie z 0,9 do 8,0% (Pringslein H., Lichtenstein S. — *Cellulosechemie*, 1920, 1, 29).

W r. 1959-60 użyto na Węgrzech różnych surowców odpadowych rolniczych oraz różnego rodzaju słomy w celu otrzymania paszy białkowej. Zastosowano proces trójfazowy, w którym czynne były kolejno bakterie, promieniowce i grzyby wyższe z klasy *Basidiomycetes* (szczególnie *Agaricus bisporus*). Faza wstępna trwała 5-7 dni — bakteryjna 16-21 dni, — promieniowcowa 5-7 dni i — grzybowa 14-21 dni, a więc w sumie był to proces długi, dochodzący do 56 dni, przy czym pierwsza faza odbywała się niesterylnie, natomiast druga i trzecia — sterylnie. W rezultacie otrzymano produkt zawierający 10-20% surowego białka, enzymy, witaminy, antybiotyki. Karmiono tym produktem, zwanym *Mycofutter*, różne zwierzęta gospodarskie, osiągając pozytywne

wyniki — (Imre Heltay, Sandor Petöfi — Mushroom Science (1,1965,287-296).

W ostatnich latach również na Węgrzech wzbogacano w białko różne surowce spożywcze (ryż, proso, nasiona strączkowe, ziemniaki) oraz odpadowe surowce niespożywcze (łodygi i kaczany kukurydzy, słomę roślin motylkowych, siano, otręby, słomy zbóż, plewy, trociny, odpady drzewne, odpady przemysłu młynarskiego, trzcinę, wodorosty, glony, sitowie, liście i nasiona chwastów). Do produkcji użyto grzyby wyższe z gatunku *Pleurotus ostreatus*, *Collybia velutipes* i inne. Podłoża do hodowli były sterylizowane, po czym dalsze etapy procesu odbywały się niesterylnie.

W ryżu zwiększono ilość białka o 50%, a w siewce z łodyg kukurydzianych uzyskano 10% białka.

Przeprowadzono próby żywieniowe z myszami, drobiem i trzodą chlewną. Z uszlachetnionych grzybami produktów przygotowano również dania wypróbowane przez grupę ludzi. (Patent węgierski nr 158 952 z 1972 r.).

W Wielkiej Brytanii przeprowadzono niesterylnie sposobem powierzchniowym wzbogacenie w białko kassawy przy użyciu grzybów z rodzaju *Rhizopus* i uzyskano wzrost białka z 0,7% do 5%, a więc uzyskano 7-krotny wzrost. Uszlachetniona w ten sposób kassawa przewidziana jest jako pokarm dla ludności Afryki (Stanton W.R., Wallbridge A. — Process Biochemistry, April 1969).

W badaniach szwedzkich, dotyczących rozkładu drewna, wykazano, że grzyby z klasy *Basidiomycetes* zdolne są do efektywnego rozkładu drewna, a mianowicie w ciągu 2-6 miesięcy rozkład suchej masy trocin dochodził do 70%, celulozy — do 90% i ligniny — do 18% (Fahraeus G., Nilson R., Nilson G. — Svensk.Bot.Tid. 1949,43,343).

Duża efektywność rozkładu drewna przez grzyby świadczy o możliwościach wykorzystania tego zjawiska dla celów praktycznych, chociaż przebieg tego procesu w czasie był powolny.

W Guatemali otrzymuje się paszowe produkty białkowe z różnych surowców odpadowych rolnictwa i przemysłu spożywczego przy użyciu grzybów *Aspergillus oryzae* i *Paecilomyces elegans*. Proces prowadzono niesterylnie (IV Congres Intern. de ciencia y tecnologia de alimentos, Madrid, 1974, Sept, 5c,21).

Z danych tych wynika, że dotychczasowe sposoby syntezy białka przy użyciu grzybów dla celów spożywczych lub paszowych były prowadzone nie tylko wgłębnie, ale i powierzchniowo; sterylnie, częściowo sterylnie lub niesterylnie; na skalę laboratoryjną, mikrotechniczną lub techniczną; tylko stacjonarnie (periodycznie); dotyczyły wzbogacenia w białko surowców spożywczych (ryż, fasola, kassawa, słodkie ziemniaki itp.) lub odpadowych surowców niespożywczych (słoma, osadki kukurydziane, trociny, melasa, serwatka, wywar, ługi posulfitowe, ścieki, odpady, rolnicze i przemysłu rolno-spożywczego), jak i skarmiania podłoża po zbiorze owocników grzybowych. W surowcach przeznaczonych na pasze uzyskiwano sposobem powierzchniowym wzrost białka surowego do 10-20% w suchej masie podłoża w ciągu długiego czasu (do 2 miesięcy).

Do zbiatczania stosowano zarówno pleśnie (*Aspergillus niger*, *Paecilomyces elegans*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* i inne) lub grzyby wyższe (*Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, *Collybia velutipes* i inne). Otrzymane produkty spożywcze były sprawdzone na wartość odżywczą i biologiczną oraz toksyczność w doświadczeniach ze zwierzętami laboratoryjnymi (myszy, szczury) i z ludźmi. Podobnie — otrzymane produkty paszowe były sprawdzone w żywieniu zwierząt gospodarskich (trzoda, bydło, brojlery, kury nioski, a nawet ryby i pszczoły).

Szczególną uwagę zwracano na ochronę podłoża przed zakażeniem grzybami wytwarzającymi mykotoksyny, a szczególnie aflatoksyny. W tym celu podłoża wyjaławiano i zabezpieczano przed wtórnymi zakażeniami, zwłaszcza przed zakażeniem szkodliwymi pleśniami.

W procesach prowadzonych niesterylnie mogły nie rozwinąć się szkodliwe mikroorganizmy ze względu na selektywność podłoża, ze względu na wielkość wysiewu i stałą szybkość procesu, ze względu na niskie pH podłoża, które zabezpiecza je przed gniciem.

Grupa pleśniaków jest szczególnie niebezpieczna, ze względu na powszechność występowania i możliwość wytwarzania mykotoksyn. Na przykład w Japonii na 1348 wyizolowanych z żywności grzybów 257 okazało się toksycznych, czyli co piąty grzyb był toksyczny, (Saito i inni — The Jap.Jonsn.of Exp.Medic.1974,44,63).

Charakterystycznym dla dotychczasowych sposobów produkcji grzybni grzybów wyższych jest to, że stosowano tylko proces stacjonarnej (periodycznej) hodowli grzyba; że stosowano tylko jeden wybrany gatunek grzyba; że zakażenia starano się zniszczyć przez sterylizację, a nie przez wykorzystanie antybiotycznych właściwości grzybów wyższych.

Natomiast w sposobie według wynalazku proces hodowli prowadzi się sposobem półciągłym, stosuje się mieszaninę kilku gatunków grzybów o różnych uzdolnieniach i funkcjach, rozwój zakażeń hamuje się nie temperaturą lecz antybiotykami, które wytwarzają dobrane gatunki grzybów w czasie „fermentacji”.

Sposób półciągły hodowli przyspiesza proces zbiatczania i opanowania podłoża przez pożyteczne grzyby,

przy czym połowa „przefermentowanego” podłoża zabezpiecza połowę dodawanego świeżego, „nieprzefermentowanego” podłoża przy pomocy antybiotyków. Ten sposób daje możliwość prowadzenia procesu niesterylnie i prowadzenia go nie w budynkach, lecz w polu pod folią.

P r z y k ł a d. Proces zbiatczania prowadzi się początkowo w trzech etapach:

- przygotowanie szczepionki wstępnej (sterylnie),
- przygotowanie szczepionki właściwej (niesterylnie),
- główny proces zbiatczania słomy (niesterylnie).

Wstępną szczepionkę przygotowuje się w skrzynkach, wyłożonych folią, do których dodaje się słomę uprzednio nawilgoconą w wodzie wzbogaconej w odpowiednie składniki chemiczne.

Stosunek wody do słomy wynosi 1 : 2.

Składniki, którymi wzbogaca się wodę, a z kolei słomę, dodaje się w następujących ilościach w przeliczeniu na 1 litr wody:

NH_4NO_3	– 3-5 g
lub mocznika	– 2-3 g
K_2HPO_4	– 1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	– 0,5 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	– 1 mg

Do wody, poza składnikami nieorganicznymi, dodaje się również nieduże ilości organicznych dodatków (serwatka, melasa, wywar, mąka itp).

Nawilgoconą słomą wypełnia się ściśle 6 skrzynek i przykrywa ich zawartość folią, po czym poddaje się całość trzykrotnej pasteryzacji w 100% przez 1 godzinę (tyndalizacja) w wybranym do tego celu pomieszczeniu. Trzeciego dnia, po ochłodzeniu skrzynek do temperatury 25°C, szczepi się ich zawartość odpowiednimi gatunkami grzybów (jedna skrzynka dla jednego gatunku), a mianowicie: 1) *Laetiporus sulfureus*, 2) *Polyporus squamosus*, 3) *Pleurotus ostreatus*, 4) *Stropharia rugosoannulata* oraz 5) *Piptoporus betulinus* i 6) *Heterobasidion annosus*. Główną funkcją pierwszych czterech gatunków jest synteza białka, a funkcją dwóch ostatnich gatunków jest wytwarzanie antybiotyków dla ochrony podłoża przed szkodliwymi bakteriami i grzybami (pleśniami), a zwłaszcza przed wytwarzającymi mykotoksyny.

Po przetrzymaniu skrzynek w temperaturze 25°C przez 2 tygodnie następuje przerost podłoża.

Przygotowane szczepionki wysypuje się na czystą folię i miesza dokładnie 6 gatunków grzybów ze sobą. Mieszanina grzybów stanowi szczepionkę dla przygotowania właściwej szczepionki. W tym celu przygotowaną szczepionką wstępną szczepi się partię słomy (w postaci sieczki) rozłożonej w formie grzęd w polu i zwilżonej z tym, że nie dodaje się składników organicznych, ponieważ ten etap procesu prowadzi się niesterylnie. Ilość szczepionki do podłoża powinna wynosić przynajmniej 1-10%. Im więcej użyje się szczepionki tym proces będzie szybszy.

Po 1-2 tygodniach, gdy podłoże zostanie przerośnięte będzie ono stanowiło właściwą szczepionkę dla głównej partii słomy. Szczepionkę tę miesza się ze świeżą, nawilgoconą słomą w stosunku 1 : 1 czyli odtąd prowadzi się proces sposobem półciągłym.

Po 1-2 tygodniach, gdy podłoże przerośnie grzybnią, połowę odbiera się na paszę lub do dalszego przerobu (suszenie, mielenie, ewentualnie granulowanie), a pozostała połowa stanowi szczepionkę do następnego cyklu. Przerośnięte podłoże, w celu uzyskania owocników, przykrywa się warstwą okrywy (piasek z torfem), po czym uprawę prowadzi znanymi sposobami.

Zastrzeżenia patentowe

1. Połowy sposób zbiatczania i uzdatniania słomy lub innych surowców ubocznych przy użyciu grzybów wyższych, z n a m i e n n y t y m, że suchą, świeżą słomę (w postaci sieczki) lub inny surowiec lub mieszaninę surowców układa się w polu w długie grzędy wprost na przepuszczalnym gruncie lub na folii w ilości 20-100 kg na każdy 1 m² powierzchni, po czym zrasza się słomę wodą wzbogaconą związkami azotowymi, fosforowymi, potasowymi i magnezowymi, całość się miesza z inoculum, ubija, przykrywa folią, folię oraz jej bok przykrywa się lekko ziemią, po czym w tak przygotowanym podłożu po 2-3 tygodniach hodowli i przerośnięciu podłoża przez grzybnię, a zarazem zakończeniu procesu zbiatczania i uzdatniania słomy przeprowadza się czynności odwrotne, a więc usuwa się ziemię z wierzchu i boków folii, odkrywa grzędy i uszlachetnioną słomę używa się jako dodatek do pasz w stanie świeżym lub po wysuszeniu i zmieleniu lub przerośnięte grzybnią podłoże stosuje się jako szczepionkę do dalszych cykli uprawy.

2. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że proces zbiatczania prowadzi się sposobem półciągłym, w którym połowę „przefermentowanego” podłoża zużywa się na paszę, a druga połowa stanowi szczepionkę dla następnego cyklu w procesie zbiatczania oraz stanowi ochronę przed zakażeniami.

3. Sposób według zastrz. 1 lub 2, z n a m i e n n y t y m, że do przeprowadzenia procesu syntezy białka stosuje się mieszaninę kilku gatunków grzybów, z których jedno głównie syntetyzuje białko, a drugie – głównie chronią podłoże przy pomocy wytwarzanych przez siebie antybiotyków, przed rozwojem szkodliwych zakażeń.

4. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że wodę używaną do nawilżania podłoża po jej wzbogaceniu w odpowiednie składniki, ukwasza się kwasem nieorganicznym lub serwatką kwasową do pH 5.

5. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że dla uzyskania owocników przykrywa się podłoże okrywą, a następnie uprawę prowadzi się znanymi sposobami.