



# Mikrobiologiczne przetwarzanie roślinnych tłuszczów odpadowych

Jan Tomasiak  
Włodzimierz Bednarski  
Elżbieta Kowalewska  
Instytut Biotechnologii Żywności  
Akademia Rolniczo-Techniczna  
Olsztyn

## 1. Wprowadzenie

Przemysł tłuszczowy dostarcza produktów ubocznych, które mogą być źródłem zanieczyszczenia środowiska (1). W zakładach tłuszczowych po myciu urządzeń rafinacyjnych, utwardzaniu tłuszczów i innych operacjach technologicznych, w odstojnikach wodno-olejowych zbierane są tłuszcze odpadowe. W Polsce, w ciągu roku, gromadzi się kilkanaście tysięcy ton takich odpadów, a ich zagospodarowanie jest poważnym, dotąd nie rozwiązany problemem gospodarczym i ekologicznym (2, 3, 4).

Niektóre z tych odpadów można by przetworzyć, stosując określone preparaty enzymatyczne lub mikroorganizmy (4, 5, 6.). Taka biokonwersja dałaby nie tylko możliwość wykorzystania uciążliwego odpadowego tłuszczu, ale również pożądaną modyfikację jego składu. Przy mikrobiologicznym przetwarzaniu odpadów jednym z produktów byłaby biomasa drobnoustrojów, bogata nie tylko w tłuszcze, ale i w białka oraz witaminy (5, 7).

Celem badań, które prezentujemy było sprawdzenie możliwości biologicznego przetwarzania odpadów przemysłu tłuszczowego z udziałem wybranych szczepów grzybów nitkowatych lub drożdży.

## 2. Materiał i metodyka

Tłuszcz odpadowy zawierający ok. 97,8% ss uzyskano z Kujawskich Zakładów Tłuszczowych w Kruszwicy. Skład chemiczny tego odpadu był następujący: 98,56% ss stanowiły substancje tłuszczowe, 0,38% białka, 0,78% popiół, 0,28% — inne składniki.

W doświadczeniach stosowano następujące drobnoustroje:

— *Aspergillus niger* 3, *A. niger* 4, *Penicillium roqueforti* 18, *Galactomyces geotrichum* 15 — z kolekcji szczepów Instytutu Biotechnologii Żywności ART w Olsztynie;

— *Penicillium roqueforti* 19, *P. roqueforti* 9, *P. roqueforti* 6, *P. roqueforti* 2 — z kolekcji szczepów Biotechnologicznej Spółdzielni Pracy „Biolacta” w Olsztynie;

— *Penicillium* sp. Z oraz *Mucor* sp. Cz — wyizolowane z tłuszczowego produktu spożywczego w Instytucie Biotechnologii Żywności ART w Olsztynie;

— *Penicillium* sp. D — wyizolowano z tłuszczu odpadowego z KZPT w Kruszwicy;

— *Apiotrichum curvatum* ATCC 20509 — z kolekcji Wydziału Technologii Żywności, Iowa State University, Ames, U.S.A.

Szczepy grzybów nitkowatych i drożdże prowadzono na skosach brzezka-agar, które, po zaszczepieniu, inkubowano w temperaturze 30 °C przez 72 godziny, a następnie przechowywano w temp. 4 °C przeszczepiając je na świeże podłoże co 14 dni (8).

W hodowlach wglębnych stosowano pożywkę o następującym składzie: (pożywka nr 1) — woda destylowana — 1000,0 cm<sup>3</sup>; glukoza — 10,0g; ekstrakt drożdżowy — 1,0g; NaNO<sub>3</sub> — 2,0g; KCl — 0,5g; MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O — 0,5g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1,0g; FeSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O — 0,01g. Kwasowość pożywki doprowadzano 1N roztworem HCl do pH 4,5 (lub do pH 5,5 — przy hodowli drożdży), rozlewano i sterylizowano. Następnie w warunkach jałowych dodawano do 200 cm<sup>3</sup> pożywki 6 g odpadowego tłuszczu uprzednio pasteryzowanego w 63°C przez 30 minut. Pożywkę zaszczepiano inoculum odpowiednich grzybów nitkowatych (lub drożdży) w ilości 10% v/v, przygotowanych wg (9, 10, 11).

W pierwszym etapie doświadczeń hodowlę wglębną szczepów grzybów nitkowatych prowadzono na wstrząsarce Elpan typ 358 S, (amplituda 8, 200 cykli/min), w temperaturze 30°C; pH pożywki wynosiło 4,5; a czas hodowli 120 godz. W drugim etapie badano wpływ kwasowości podłoża oraz temperatury i czasu hodowli wyselekcjonowanych we wcześniejszych doświadczeniach drobnoustrojów na wydajność i skład chemiczny biomasy oraz na skład tłuszczów obecnych w pożywce i komórkach drobnoustrojów. W tej części doświadczeń

szczepów grzybów nitkowatych namnażano w ciągu 72; 120 lub 168 godz. w różnych warunkach pH (4,0; 4,5; 5,0) i temperatury (20; 25; 30°C).

W hodowli drożdży oceniano wpływ podobnych parametrow, tj. pH (4,5; 5,0; 5,5), temperatury (20; 25; 30°C) i czasu procesu (24; 48; 72 godziny).

W niektórych eksperymentach dla porównania, prowadzono hodowlę wybranych szczepów grzybów i drożdży w pożywce syntetycznej (pożywka 2) z 3% zawartością glukozy, lecz bez dodatku tłuszczu. Zawartość wszystkich innych składników była w niej taka sama, jak w pożywce 1.

Biomasa grzybów nitkowatych oddzielano od pożywki na lejku Schotta ze spięciem szklanym 17G1, natomiast drożdże odwirowywano (wirówka MPW-360, 3000 rpm, 10 minut, temp. 4°C).

W otrzymanej biomase drobnoustrojów oznaczano zawartość suchej substancji (12), popiołu (12), substancji azotowych ogółem metodą Kjeldahla (12), tłuszczu zaadsorbowanego na powierzchni ścian komórkowych i pozostałego w podłożu po hodowli drobnoustrojów (13) oraz lipidów wewnątrzkomórkowych (14). Oznaczano również jakość i procentowy udział kwasów tłuszczowych w: substracie, tłuszczu pozostającym w pożywce po hodowli drobnoustrojów oraz w lipidach wewnątrzkomórkowych. Kwasy tłuszczowe oznaczano po metylacji w środowisku kwaśnym wg Peiskera (15) w warunkach opisanych w BN - 80/8050 - 05 (16) oraz pracy Lemana (17).

### 3. Omówienie wyników

W pierwszym etapie badań przeprowadzono hodowlę jedenastu szczepów grzybów nitkowatych oraz jednego szczepu drożdży na pożywce z glukozą lub tłuszczem odpadowym. Uzyskano przyrost suchej substancji biomasy od ok. 4 do ok. 17 g/l pożywki. Stopień wykorzystania tłuszczu przez mikroorganizmy wahał się od 29,2% do 66,1%. Najefektywniej odpadowy tłuszcz z pożywki wykorzystywały szczepy: *Penicillium sp. Z* — w 66,1% (15,0 g ss biomasy/l), *Penicillium roqueforti 18* — w 65,0% (11,1 g ss/l), *Penicillium roqueforti 9* — w 63,4% (8,3 g ss/l) oraz *Penicillium sp. D* w 60,5% (12,9 g ss/l).

Na podstawie tych wyników do dalszych badań wybrano: *Penicillium roqueforti 18* i *Penicillium sp. Z* oraz szczep drożdży *Apiotrichum curvatum ATCC 20509*, którego wysoką aktywność w biosyntezie lipidów wykazaliśmy w naszych wcześniejszych pracach z tego zakresu (6, 7, 18).

W badaniach wpływu różnych parametrów hodowli wymienionych mikroorganizmów na wydajność biokonwersji składników pożywki w ich biomase, stwierdzono, że kwasowość początkowa pożywki wpływa w niewielkim stopniu na przyrost biomasy, natomiast bardziej widoczny jest wpływ tego czynnika na stopień wykorzystania tłuszczu z pożywki.

Znaczny jest także wpływ kwasowości pożywki na skład biomasy, głównie na zawartość tłuszczu wewnątrzkomórkowego (tab. 1 - 3).

W omawianych doświadczeniach stwierdzono też, że temperatura w znacznym stopniu decyduje o przyrostach biomasy i stopniu wykorzystania tłuszczu z pożywki. Podwyższenie temperatury hodowli powodowało znaczne

TABELA 1  
 WPLYW WARUNKÓW HODOWLI NA PRZYROST BIOMASY *PENICILLIUM ROQUEFORTI* 18  
 ORAZ NA WYKORZYSTANIE TŁUSZCZU Z POŻYWKI. (WYNIKI ŚREDNIE Z TRZECH POWTÓRZEŃ)

Lp.	Warunki hodowli	Przyrost biomasy (g ss/l)	Wydajność biosyntezy lipidów wewnątrzkomórkowych (g/l)	Stopień wykorzystania tłuszczu* (%)	Charakterystyka biomasy				
					zawartość suchej substancji (%)	popiół	zawartość w % suchej substancji		
							N ogółem	białko Nog × 6,25	lipidy wewnątrzkomórkowe
I	4,0	19,2	6,4	53,3	18,2	5,4	3,0	18,9	33,4
	pH 4,5	18,7	10,4	56,3	15,2	4,6	4,6	28,8	52,7
	5,0	19,1	9,3	55,2	16,6	5,0	4,2	25,6	48,6
II	20 °C	11,2	3,1	33,3	11,4	6,4	4,3	27,1	27,9
	25 °C	12,1	3,8	39,4	14,6	6,9	4,5	28,1	31,8
	30 °C	19,7	10,4	56,3	15,2	4,6	4,6	28,8	52,7
III	72 h	14,1	5,5	45,2	9,6	6,1	4,4	27,4	38,8
	czas 120 h	19,7	10,4	56,3	15,2	4,6	4,6	28,8	52,7
	168 h	19,6	8,6	65,6	13,8	6,1	4,0	25,1	44,0
IV	pH = 4,50	19,9	10,6	56,6	14,8	9,6	4,6	28,7	53,0
	temp. = 30 °C czas = 120 h								
V	pH = 4,50	10,4	1,7	—	8,1	10,2	4,5	28,0	16,3
	temp. = 30 °C czas = 120 h								

\* — 30g/l = 100%.

I - IV — hodowla *P. roqueforti* 18 na pożywkę z dodatkiem tłuszczu odpadowego;

I — temp. 30 °C, czas 120 godzin;

II — pH 4,5, czas 120 godzin;

III — pH 4,5, temp. 30 °C;

TABELA 2  
 WPŁYW WARUNKÓW HODOWLI NA PRZYRÓST BIOMASY *PENICILLIUM SP. Z*  
 ORAZ NA WYKORZYSTANIE TŁUSZCZU Z POŻYWKI. (WYNIKI ŚRĘDNE Z TRZECH POWTÓRZEŃ).

Lp.	Warunki hodowli	Przyrost biomasy (g ss/l)	Wydajność biosyntezy lipidów wewnątrz-komórkowych (g/l)	Stopień wykorzystania tłuszczu* (%)	Charakterystyka biomasy				
					zawartość suchej substancji (%)	popioł	zawartość w % suchej substancji		
							N ogółem	związki azotowe	lipidy wewnątrz-komórkowe
I	4,0	9,8	2,8	45,7	13,0	6,3	4,3	26,6	28,9
	pH 4,5	10,9	3,4	54,5	10,3	6,8	4,3	26,9	31,1
	5,0	9,7	3,1	53,3	12,3	7,2	5,8	36,1	31,7
II	20 °C	9,9	2,4	60,7	11,4	9,8	5,6	35,2	24,4
	temp. 25 °C	10,9	3,4	61,8	20,5	7,9	4,7	29,7	31,1
	30 °C	9,1	2,5	54,5	10,3	6,8	4,7	29,4	27,0
III	72 h	9,2	2,2	60,2	15,1	8,0	4,7	29,6	24,3
	czas 120 h	10,9	3,4	61,8	20,5	7,9	4,7	29,6	31,1
	168 h	10,2	4,0	85,4	19,8	5,9	5,5	34,5	39,4
IV	pH = 4,50	10,9	4,2	62,3	18,0	7,8	4,7	29,5	38,2
	temp. = 30 °C								
V	czas = 120 h	9,7	2,8	—	6,9	8,3	4,4	27,5	29,2
	temp. = 30 °C								
	czas = 120 h								

\* — 30g/l = 100%.

I - IV — hodowla *Penicillium sp. Z* na pożywce z dodatkiem tłuszczu odpadowego;

I — temp. 30 °C, czas 120 godzin;

II — pH 4,5, czas 120 godzin;

III — pH 4,5, temp. 25 °C;

V — hodowla *Penicillium sp. Z* na pożywce bez udziału tłuszczu, z 3% dodatkiem glukozy.

TABELA 3  
 WPLYW WARUNKÓW HODOWLI NA PRZYROST BIOMASY *APIOTRICHUM CURVATUM* ATCC 20509  
 ORAZ NA WYKORZYSTANIE TŁUSZCZU Z POŻYWKI. (WYNIKI ŚREDNIE Z TRZECH POWTÓRZEŃ)

Lp.	Warunki hodowli	Przyrost biomasy (g ss/l)	Wydajność biosyntezy lipidów wewnątrzkomórkowych (g/l)	Stopień wykorzystania tłuszczu* (%)	Charakterystyka biomasy				
					zawartość suchej substancji (%)	popiół	zawartość w % suchej substancji		lipidy wewnątrzkomórkowe
							N ogółem	białko Nog × 6,25	
I	4,5	4,6	1,5	15,0	23,7	4,5	2,1	13,2	31,7
	pH 5,0	5,2	1,7	23,9	23,6	3,5	2,5	15,4	33,2
	5,5	5,8	2,6	40,0	24,3	4,3	1,8	11,6	45,7
II	20 °C	5,6	1,0	19,0	18,4	5,0	1,6	9,8	18,5
	25 °C	9,2	3,8	53,0	24,0	3,1	1,8	11,4	41,8
	30 °C	5,8	2,6	40,0	24,3	4,3	1,8	11,5	45,7
III	24 h	3,8	1,0	19,1	19,9	3,2	1,9	11,9	27,4
	czas 48 h	9,3	3,9	53,0	24,0	3,3	1,8	11,4	41,8
	72 h	5,6	3,0	40,0	18,1	3,6	2,1	13,1	53,8
IV	pH = 5,50	9,3	3,9	53,4	22,0	3,1	1,8	11,4	42,0
	temp. = 25 °C czas = 48 h								
V	pH = 5,50	6,82	1,3	—	17,2	4,8	2,0	12,4	19,9
	temp. = 25 °C czas = 48 h								

\* — 30g/l = 100%.

I-IV — hodowla *Apiotrichum curvatum* ATCC 20509 na pożywce z dodatkiem tłuszczu odpadowego;

I — temp. 25 °C, czas 48 godzin;

II — pH 5,5, czas 48 godzin;

III — pH 5,5, temp. 25 °C;

zwiększenie wydajności syntetyzowanego tłuszczu wewnątrzkomórkowego. Tak też dla *Penicillium roqueforti* 18 stwierdzono wzrost wydajności z 3,1 g/l (po hodowli w temperaturze 20°C) do 10,4 g/l, gdy szczep namnażano w 30°C, dla *Penicillium sp. Z* z 2,4 g/l (20°C) do 3,4 g/l (25°C), a dla *Apiotrichum curvatum* ATCC 20509 z 1,0 (20°C) do 3,8 g/l (30°C) (tab. 1 – 3).

W tym doświadczeniu stwierdzono, że przedłużenie czasu hodowli grzybów ze 120 do 168 godzin i drożdży z 48 do 72 godzin nie powoduje istotnego zwiększenia przyrostu biomasy, jednak czas hodowli decyduje o stopniu wykorzystania odpadowego tłuszczu z pożywki (tab. 1 – 3). Zaobserwowano także, że skład biomasy zależy od czasu trwania hodowli drobnoustrojów. Czas hodowli drobnoustrojów decydował przede wszystkim o wydajności biosyntezy lipidów wewnątrzkomórkowych (tab. 1 – 3).

Oceniono również wpływ obecności odpadowego tłuszczu w pożywce na syntezę składników biomasy drobnoustrojów. Stwierdzono, że był on stymulatorem rozwoju badanych szczepów i korzystnie wpływał na wydajność syntetyzowanych lipidów wewnątrzkomórkowych. Świadczą o tym różnice efektów hodowli drobnoustrojów na pożywkach 1 i 2. Szczep *Penicillium roqueforti* 18 syntetyzował, na pożywce z tłuszczem (pożywka 1) ponad 6-krotnie więcej lipidów niż na pożywce 2, *Penicillium sp. Z* — 1,5 raza więcej. Także drożdże *Apiotrichum curvatum* syntetyzowały 3 razy więcej lipidów na pożywce z tłuszczem w porównaniu z wydajnością biosyntezy lipidów prowadzonej na pożywce 2 (tab. 1 – 3). Warunki hodowli drobnoustrojów decydowały również o procentowej zawartości kwasów tłuszczowych w lipidach pozostałych w pożywce po hodowli mikroorganizmów. Należy podkreślić, że odpadowy tłuszcz dodawany do pożywki i przetrzymywany w warunkach hodowli drobnoustrojów (próba kontrolna) nie ulegał istotnym zmianom pod względem składu i zawartości kwasów tłuszczowych w porównaniu z tłuszczem natywnym (tab. 4).

W jego składzie dominującymi kwasami tłuszczowymi były: palmitynowy – C<sub>16:0</sub> — (16,7%), oleinowy – C<sub>18:1</sub> — (50,5%) oraz linolowy – C<sub>18:2</sub> — (24,7%). Stwierdzono również obecność kwasów stearynowego – C<sub>18:0</sub> — (2,9%), arachidowego – C<sub>20:0</sub> — (3,9%) oraz śladowe ilości kwasu mirystynowego – C<sub>14:0</sub> i kwasu eikozanowego – C<sub>20:1</sub>. Taki skład kwasów tłuszczowych świadczy dobitnie o przewadze frakcji oleju rzepakowego w odpadowym tłuszczu stosowanym w prezentowanym doświadczeniu. Oceniając wpływ składu pożywki na jakość tłuszczu syntetyzowanego przez drobnoustroje stwierdzono, że w czasie hodowli na pożywce z dodatkiem glukozy szczep *Penicillium roqueforti* 18 syntetyzował lipidy o zróżnicowanym składzie i zmienionych proporcjach. W porównaniu z odpowiednimi lipidami wewnątrzkomórkowymi uzyskanymi w pożywce z odpadowym tłuszczem zaobserwowano zwiększenie zawartości kwasu palmitynowego (o 6%) i linolowego (o 12%) oraz zmniejszenie zawartości kwasu oleinowego (o 19,4%). Ponadto w lipidach wewnątrzkomórkowych uzyskanych na pożywce z glukozą stwierdzono obecność śladowych ilości kwasów: mirystynowego, palmitooleinowego, margarynowego, margarynooleinowego oraz linolenowego. Skład kwasów tłuszczowych lipidów wewnątrzkomórkowych świadczył o zdolności mikroorganizmów do przyswajania i akumulowania kwasów tłuszczowych

TABELA 4

PROCENTOWY UDZIAŁ KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W TŁUSZCZU ODPADOWYM, W LIPIDACH WEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH ORAZ TŁUSZCZU POZOSTAŁYM W POŻYWCE PO HODOWLI MIKROORGANIZMÓW. (WYNIKI ŚREDNIE Z TRZECH POWTÓRZEŃ)

Lp.	Rodzaj tłuszczu	Kwasy tłuszczowe w %												
		C <sub>14:0</sub>	C <sub>16:0</sub>	C <sub>16:1</sub>	C <sub>17:0</sub>	C <sub>17:1</sub>	C <sub>18:0</sub>	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	C <sub>18:3</sub>	C <sub>20:0</sub>	C <sub>20:1</sub>		
1	tłuszcz natiwny*	ślad	16,7	—	—	—	2,9	50,5	24,7	—	3,9	ślad		
2	tłuszcz po próbie kontrolnej**	ślad	16,3	—	—	—	2,5	51,1	25,1	—	3,9	ślad		
3	tłuszcz w pożywce	—	15,5	—	ślad	—	6,0	58,4	15,8	ślad	1,0	2,2		
4	lipidy wewnątrzkomórkowe na pożywce nr 1	—	14,7	—	—	—	3,6	48,2	29,0	3,1	ślad	ślad		
5	lipidy wewnątrzkomórkowe na pożywce nr 2	ślad	20,6	ślad	ślad	ślad	7,4	28,8	41,0	ślad	—	—		
6	tłuszcz w pożywce	ślad	15,8	—	—	—	4,1	56,9	19,8	1,8	1,3	—		
7	lipidy wewnątrzkomórkowe na pożywce nr 1	ślad	14,4	ślad	ślad	—	3,9	54,2	23,2	1,9	1,1	—		
8	lipidy wewnątrzkomórkowe na pożywce nr 2	1,0	22,0	1,8	1,5	ślad	20,4	31,2	21,6	—	—	—		
9	tłuszcz w pożywce	ślad	12,9	—	—	—	2,9	53,2	24,3	4,2	ślad	1,3		
10	lipidy wewnątrzkomórkowe na pożywce nr 1	1,2	22,4	—	—	—	4,8	41,4	25,6	3,4	—	ślad		
11	lipidy wewnątrzkomórkowe na pożywce nr 2	ślad	30,4	—	ślad	—	11,4	49,1	6,9	ślad	—	—		

\* — tłuszcz odpadowy z KZPT w Kruszwicy;

\*\* — tłuszcz w próbce przetwarzany w warunkach (pH 4,5; czas 120 h; temp. 30 °C) bez mikroorganizmów.

3, 4, 5 — lipidy po hodowli *P. roqueforti* (pH 4,5; 120 h; temp. 30 °C);

6, 7, 8 — lipidy po hodowli *Penicillium sp. Z* (pH 4,5; czas 120 h; temp. 25 °C);

9, 10, 11 — lipidy po hodowli *Apiotrichum curvatum* ATCC 20509 (pH 5,5; 48 h, temp. 25 °C).



zawartych w pożywce, we własny materiał zapasowy.

Szczep *Penicillium sp. Z* po hodowli na pożywce z glukozą (3%) syntetyzował lipidy wewnątrzkomórkowe o składzie przedstawionym w tab. 4. Na uwagę zasługuje pojawienie się w niewielkich ilościach takich kwasów jak: mirystynowy -  $C_{14:0}$  — (1%), palmitooleinowy -  $C_{16:1}$  — (1,8%) i margarynowy -  $C_{17:0}$  — (1,5%) oraz znaczne zwiększenie zawartość kwasu stearynowego -  $C_{18:0}$  — (20,4%) i zmniejszenie zawartości kwasu oleinowego -  $C_{18:1}$  — (31,2%).

Wprowadzenie tłuszczu do pożywki spowodowało zmianę składu kwasów tłuszczowych lipidów wewnątrzkomórkowych *Penicillium sp. Z*. Stwierdzono obecność takich kwasów jak: linolenowy — (1,9%) i arachidowy — (1,1%). Zwiększył się również udział kwasu oleinowego — (o 23% z 31,2% do 54,2%) i linolowego (o 1,5%). W porównaniu do składu lipidów syntetyzowanych przez *Penicillium sp. Z* na pożywce bez dodatku tłuszczów zmniejszył się udział procentowy kwasów: palmitynowego o 7,4% (z 22,0% do 14,6%), palmitooleinowego — ślad (z 1,8%) oraz stearynowego o 16,5% (z 20,4% do 3,9%). Wewnątrzkomórkowe lipidy syntetyzowane przez *Apiotrichum curvatum* na pożywce z tłuszczem odpadowym zawierały, w porównaniu do składu kwasów tłuszczowych lipidów otrzymanych na pożywce z glukozą, zwiększony udział kwasu mirystynowego — 1,2% (ślad), linolowego — czterokrotnie (z 6,9% do 25,6%) i linolenowego — 3,4% (ślad) oraz trzykrotnie mniejszy udział kwasu stearynowego (tab. 4). Rodzaj pożywki decyduje o występowaniu i proporcjach pomiędzy poszczególnymi kwasami tłuszczowymi w lipidach drożdży, świadczą o tym wyniki uzyskane przez Lemana i wsp. (18), którzy namnażając szczep *Apiotrichum curvatum D* na serwatce (w różnych warunkach), wykazali, że w lipidach wewnątrzkomórkowych dominującymi kwasami tłuszczowymi były: palmitynowy (22,3 – 36,0%), oleinowy (32,5 – 53%), stearynowy (4,3 – 17,4%) i linolowy (3,3 – 10,8%). Pozostałe kwasy tłuszczowe występowały w znacznie mniejszych ilościach, a zatem nie decydowały o jakości tłuszczu (18).

Różnice w składzie kwasów tłuszczowych lipidów wewnątrzkomórkowych pozyskiwanych na pożywce 1 lub 2 potwierdziły znaczący wpływ obecności tłuszczów w pożywce. W tym zakresie jako interesujące i wymagające dalszych studiów uznać należy różnice w zawartości takich kwasów jak  $C_{18:0}$ ,  $C_{18:1}$ ,  $C_{18:2}$ , a także mało korzystne z żywieniowego punktu widzenia, występowanie niewielkich ilości kwasów  $C_{17:0}$  lub  $C_{17:1}$  (tab. 4). Wykazane różnice w procentowym składzie lipidów wewnątrzkomórkowych spowodowane zmianą kompozycji pożywki potwierdzają biotechnologiczne możliwości modyfikacji składu i właściwości lipidów mikrobiologicznych. Wydaje się, że lipidy zawierające około 20% kwasu stearynowego mogą być rozpatrywane jako wartościowe dodatki do wyrobów cukierniczych.

Porównując procentowy udział kwasów tłuszczowych obecnych w pożywce przed i po hodowli *P. roqueforti 18* stwierdzono znaczne różnice. W tłuszczu pozostającym w pożywce po hodowli *P. roqueforti 18* stwierdzono śladowe ilości kwasu margarynowego, wykazano również dwukrotny wzrost, w porównaniu z tłuszczem natywnym, zawartości kwasu stearynowego (do 6,0%) i prawie trzykrotny eikozanowego (do 2,2%). W tłuszczu pozostającym w po-

żywece po hodowli *P. roqueforti* 18 zmienił się procentowy udział takich kwasów jak: linolowy — z 24,7% do 15,8% i arachidowy — z 3,9% do 1,0% (tab. 4).

Także tłuszcz po hodowli *Penicillium* sp. Z różnił się składem od tłuszczu wyjściowego. Stwierdzono w nim obecność kwasu linolenowego w ilości 1,8% oraz śladową zawartość kwasu palmitooleinowego. Zmiany dotyczą również procentowego udziału takich kwasów jak: arachidowy (z 3,9% do 1,3%), linolowy (z 24,7% do 19,8%). W tłuszczu pozostającym w pożywce po hodowli drobnoustrojów wykazano wyższą zawartość kwasów stearynowego i oleinowego (tab. 4).

W ocenie tłuszczu pozostałego w pożywce po hodowli drożdży *Apiotrichum curvatum* w porównaniu z substratem (tłuszczem odpadowym) — stwierdzono różnicę w zawartości takich kwasów jak: stearynowy, oleinowy — (więcej o 2,7%), linolenowy — (4,2%), eikozanowy — (1,3%), arachidowy (ślady).

Zmniejszenie procentowego udziału niektórych kwasów tłuszczowych w lipidach pozostających w pożywce po hodowli mikroorganizmów w porównaniu do substratu, wyjaśnić można tym, że zostały one wykorzystane jako źródło energii lub też mogły być bezpośrednio wkomponowane w skład lipidów wewnątrzkomórkowych ocenianych grzybów lub drożdży. Możliwości dyfuzji kwasów tłuszczowych z pożywki do komórek mikroorganizmów oraz ich wbudowywanie w skład lipidów wewnątrzkomórkowych wykazali Koritala i wsp. (13). Występowanie w lipidach pozostających w pożywce (po hodowli drobnoustrojów) kwasów tłuszczowych, których nie stwierdzono w tłuszczu naturalnym — dodawanym do pożywki, zostało spowodowane autolizą lub mechanicznym uszkodzeniem komórek i wydzieleniem do pożywki lipidów lub wolnych kwasów tłuszczowych (tab. 4).

Ocena przydatności tłuszczów jako źródła węgla i energii w hodowli drobnoustrojów była przedmiotem prac innych autorów (13, 19, 20). Rydin i wsp. (20) prowadząc hodowlę szczepu *Apiotrichum tropicalis* S001 na ściekach z rzeźni stwierdzili, że kwasowość czynna pożywki nie ma istotnego wpływu na wydajność biosyntezy składników biomasy. Parametrem decydującym o wydajności biokonwersji składników jest temperatura procesu (20).

Leman i wsp. (7, 18) namnażali *Apiotrichum curvatum* D na pożywce z serwatką. Z jednego litra pożywki otrzymano 9,3 g tłuszczu wewnątrzkomórkowego. Namnażając ten sam szczep na pożywce z tłuszczem odpadowym uzyskano około 4 g/l. Można zatem stwierdzić, że synteza lipidów przez *A. curvatum* D zależy od zastosowanego źródła węgla. W naszej poprzedniej pracy z tego zakresu (21) wykazaliśmy, że o wydajności biosyntezy lipidów wewnątrzkomórkowych oraz o ich składzie i właściwościach decyduje również rodzaj tłuszczu dodanego do pożywki. Wyniki uzyskane w tej pracy sugerują potrzebę dalszej optymalizacji warunków hodowli drobnoustrojów w celu zwiększenia wydajności biosyntezy tłuszczu.

#### 4. Podsumowanie

Porafinacyjny tłuszcz odpadowy okazał się dobrym surowcem wykorzystywanym przez badane mikroorganizmy. Świadczy o tym stopień zużycia tłuszczu z pożywki ( od 29,2 do 66,1%) oraz przyrost składników biomasy (od 3,8 g ss/l do 19,9 g ss/l). Wydajność biosyntezy składników biomasy, jej jakość oraz stopień wykorzystania tłuszczu zależy przede wszystkim od składu pożywki, rodzaju drobnoustrojów, czasu i temperatury ich hodowli.

Lipidy wewnątrzkomórkowe ocenianych szczepów grzybów nitkowatych i drożdży charakteryzują się urozmaiconym składem kwasów tłuszczowych, zbliżonym do składu olejów roślinnych.

Tłuszcze obecne w pożywce przed i po hodowli drobnoustrojów różnią się składem kwasów tłuszczowych. Po hodowli drobnoustrojów na pożywce z udziałem tłuszczów odpadowych można uzyskać lipidy o zmienionym w porównaniu do substratu składzie kwasów tłuszczowych.

Uwzględniając skład biomasy drobnoustrojów namnażanych na pożywce z udziałem tłuszczów odpadowych można sugerować jej przydatność w żywieniu zwierząt. Na uwagę zasługuje zawartość białka w biomasie od 9,8% ss do 36% ss oraz tłuszczu od 16,3% ss do 53,8% ss. Tłuszcze pozostające w pożywce oraz lipidy wewnątrzkomórkowe mogą być przydatne w przemyśle chemicznym, kosmetycznym lub spożywczym.

#### Literatura

1. Niewiadomski H., (1984), Przem. Spoż., XXXVIII, 9, 343 - 347.
2. Bekiesz G., (1984), Przem. Chem., 63, 12, 624 - 627.
3. Hammond E.G., Glatz B.A., Choi Y., Teasdale M.T., (1981), A.O.C.S. Monograph, 9, 171.
4. Kajal M., Szelejewski W., (1977), Przem. Chem., 56, 4, 198 - 201.
5. Bednarski W., (1990), Przem. Spoż., XLIV, 7, 164 - 167.
6. Bednarski W., Leman J., (1985), Przem. Ferment. i Owoc.-Warzywny, XXIX, 2, 8 - 11.
7. Leman J., Bednarski W., Tomasik J., (1988), Tłuszcze Jadalne, XXVI, 3, 14 - 27.
8. Burbianka M., Pliszka A., (1977), PZWL, Warszawa.
9. PN - 77/A - 86031. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne.
10. ZN - 84/CZSMI/A - 05. Szczepionki pleśniowe. *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti*.
11. Moon N.J., Hammond E.G., (1978), J. Am. Oil Chem. Soc., 55, 683 - 688.
12. A.O.A.C., Official Methods of Analysis, 1990, 15<sup>th</sup> ed., A.O.A.C. Inc. Arlington, Virginia.
13. Koritala S., Hasseltine C.W., Pryde E.M., Maunts T.L., (1987), J. Am. Oil Chem. Soc., 64, 4, 509 - 513.
14. Moon N.J., Hammond E.G., Glatz B.A., (1978), J. Dairy Sci., 61, 1537 - 1547.
15. BN - 80/8050 - 05. Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych w roślinnych tłuszczach jadalnych i w nasionach rzepaku metodą chromatografii gazowej.
16. Peisker, K.V., (1964), J. Am. Oil Chem. Soc., 41, 87 - 88.
17. Leman J., (1991), Praca habilitacyjna. Acta Academiae Agriculturae Ac Technicae Olstenensis (408) Technologia Alimentorum 24. Supplementum A 1 - 50.
18. Leman J., Bednarski W., Tomasik J., (1987), Tłuszcze Jadalne, XXV, 3, 3 - 16.
19. Linfield W. M., Barazskas R.A., Civeri L., Serota S., (1984), J. Am. Oil Chem. Soc., 61, 2, 191.

20. Rydin S., Göran H., Nilsson I., (1990), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 33, 473 – 476.  
21. Bednarski W., Kowalewska-Piontas J., Żegarska Z., Adameczak M., (1992), *Biotechnologia* 3(18), 50 – 56.

### Microbial conversion of plant waste lipids

#### Summary

Plant waste lipids after solvent refining process were used as a carbon source for cultivation of *Penicillium roqueforti* 18, *Penicillium sp. Z* and *Apiotrichum curvatum* ATCC 20509.

Biomass yield varied from 3.8 g d.m./l to 19.9 g d.m./l and lipids yield varied 1.0 g/l to 10.6 g/l. Lipids utilization in medium varied from 15.0% to 85.4%.

Process efficiency, and percentage composition of fatty acids of intracellular lipids and grease remaining in the medium depend first of all on medium composition, type of microorganisms used, temperature and time of cultivation.

#### key words:

plant waste lipids, microbial conversion of fats, intracellular lipids, biosynthesis, fatty acids composition, biomass yield.

#### Adres dla korespondencji:

Włodzimierz Bednarski, Instytut Biotechnologii Żywności, Akademia Rolniczo-Techniczna, pl. Cieszyński 1, 10-957 Olsztyn-Kortowo.