

2. KROGER M.: Quality of yoghurt. *Journal of Dairy Science* 59 (2) 1976.
3. LEMBKE A.: Laits fermentes habitudes alimentaires, *Annual Bulletin*, Paris (1963).
4. PEJIC O., ĐORĐEVIĆ J.: Mlekarski praktikum, Beograd (1962).
5. Pravilnik o kvalitetu mleka i proizvoda od mleka, *Službeni list SFRJ* br. 15/64.

KULTIVIRANJE MICELIJA GLJIVE MORCHELLA HORTENSIS U SURUTKI UZ DODATAK STIMULATORA RASTA

Prof. dr Zdravko DUVNJAK, Ivka ŠPINDERK, dipl. inž. i prof. Gavro
TAMBURAŠEV, Tehnološki fakultet, Zagreb

Rješavanju pitanja raznih otpadaka posvećuje se sve više pažnje, jer njihovo nagomilavanje remeti ravnotežu u prirodi i otežava normalno odvijanje života ljudi. Kad se uzme u obzir da mnogi otpaci mogu poslužiti kao korisne sirovine onda je jasnije zbog čega se ti problemi šire razmatraju.

Jedan od načina korištenja otpadaka je njihova upotreba kao sirovina za pripremu podloga za kultiviranje mikroorganizama u cilju dobivanja raznih proizvoda (1, 2, 3). Surutka je nusprodukt kod proizvodnje sira i ima je u velikim količinama. Iako je jedan dio surutke korišten u stočarstvu smatrana je otpatkom i njene velike količine su bacane. Međutim, zbog svog sastava ona se sve više tretira kao vrlo vrijedna sirovina. Surutka sadrži izvore ugljika, dušika, fosfora, sumpora, vitamina i mineralnih tvari (4) pa može biti pogodna za pripremu podloga za kultiviranje raznih mikroorganizama bilo u cilju dobivanja mikrobne biomase (5), bilo dobivanja mikrobnih metabolita (6, 7).

S obzirom na aktuelnost proizvodnje što većih količina proteina koriste se njihovi novi izvori. U tom pogledu mikroorganizmima se pridaje posebna pažnja (8, 9) zbog njihove brze reprodukcije i mogućnosti dobivanja velikih količina njihove biomase u relativno malim prostorima.

U grupu mikroorganizama koji se mogu koristiti za proizvodnju tzv. jednostaničnih proteina spadaju i više gljive. One sadrže značajne količine proteina, a također vitamina i mineralnih tvari, te se mnoge od njih specijalno zbog ugodnog okusa i mirisa rado koriste u ishrani ljudi.

Ranije su se više gljive kultivirale na kompostima. Međutim, pored toga načina sada se radi i na proizvodnji micelijarne mase viših gljiva submerznim postupkom kultiviranja (10).

U ovom radu kao osnova podloge za kultiviranje više gljive *Morchella hortensis* korištena je surutka.

Materijal i metode

Radni mikroorganizam korišten u ovom radu je viša gljiva *Morchella hortensis*. Održavana je na čvrstoj podlozi koja se sastoji od: glukoze (20 g), krumpirove infuzije napravljene od 300 g krumpira u litri vode i agara (20 g). Ta ista podloga ali bez dodatka agara korištena je za pripremu inokuluma.

Kao osnovna podloga za kultiviranje ove gljive služila je surutka u koju su pojedinačno dodavani u raznim koncentracijama kukuruzni i kvašičev ekstrakt, asparagin i kazein. Početni pH podloge podešen je na vrijednost 4,5, 5,5 i 6,5.

Sve podloge su sterilizirane 25 min. na 110°C.

Za inokuliranje 100 ml ispitivane podloge korišteno je 5 ml homogeniziranog inokuluma.

Kultiviranje je provedeno submerznim postupkom u Erlenmeyer tikvicama od 500 ml sa po 100 ml podloge. Temperatura kultiviranja je 24°C.

Miješanje je omogućeno tresenjem na rotacionoj tresilici sa 180 o/min i ekscentrom od 5 cm. Kultiviranje je trajalo 5 dana.

Nakon kultiviranja izrasla micelijarna masa je filtracijom odijeljena od isušene podloge, zatim isprata vodom te sušena u sušioniku na temperaturi od 80°C. Dobivena biomasa je izražena u gramima suhe tvari na 100 ml hranjive podloge.

Rezultati ispitivanja i diskusija

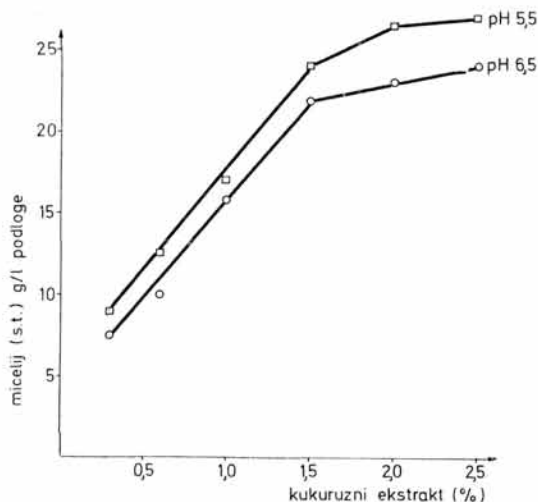
Surutka koju smo koristili u ovom radu kao podlogu za kultiviranje više gljive *M. hortensis* je poticala iz različitih šarži pri proizvodnji svježeg sira. Uzimajući to u obzir logično je da je njen sastav varirao od šarže do šarže, ali i pored toga određivanjem smo utvrdili da najčešće sadrži laktoze od 40 do 45 mg/ml, fosfata od 2,0 do 2,8 mg/ml i ukupnog dušika od 1,0 do 2,20 mg/ml. pH je varirao od 4,0 do 4,3.

Pokušaj kultiviranja gljive *M. hortensis*, u takvoj surutki kojoj je samo podešen pH na 5,5, a koji je optimalan za rast micelija ove gljive u submerznoj kulturi, nije uspio. Međutim, u razrijeđenoj surutki sa vodom micelij ove gljive raste te se u podlozi koja se sastoji od 80% surutke i 20% vode dobije nakon 5-o dnevnog submerznog kultiviranja 9 g suhe tvar micelijarne mase u litri takve podloge (11).

Dodatkom nekih organskih čistih i kompleksnih ingredijenata omogućen je rast ove gljive i u nerazrijeđenoj surutki. Kao dodaci korišteni su kukuruzni i kvašćev ekstrakt, kazein i asparagin.

Te komponente su pojedinačno dodavane u surutku i u njoj su bile zastupljene u raznim koncentracijama.

Na slici 1 prikazani su rezultati koji su dobiveni kultiviranjem micelija ispitivane gljive u nerazrijeđenoj surutki u koju je dodat kukuruzni ekstrakt u koncentracijama od 0,3 do 2,5%, pri početnim pH vrijednostima pripremljenih



Slika 1. Uticaj kukuruznog ekstrakta na rast micelija gljive *M. hortensis* u surutki različitih početnih pH vrijednosti.

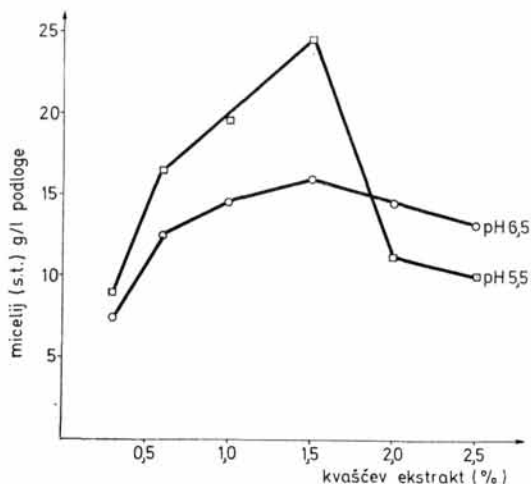
podloga 5,5 i 6,5. Sa te slike je vidljivo da kukuruzni ekstrakt i u malim koncentracijama (0,3%) u ovoj podlozi stimulira rast micelija ove gljive. Povećanjem koncentracije kukuruznog ekstrakta do 1,5% dolazi do linearnog povećanja količine biomase. U surutki sa višim koncentracijama kukuruznog ekstrakta od 1,5% dolazi također do povećanja količine micelijarne mase, ali je njen prirast u području između 1,5 i 2,5% kukuruznog ekstrakta znatno niži nego što je kod njegovih nižih koncentracija.

Prinos micelijarne mase u podlozi sa 2,5% kukuruznog ekstrakta čija je početna pH vrijednost bila 5,5 je 27,3 g u litri podloge što je za 3,3 g više od dobivenog rezultata u istoj podlozi sa početnom pH vrijednošću 6,5.

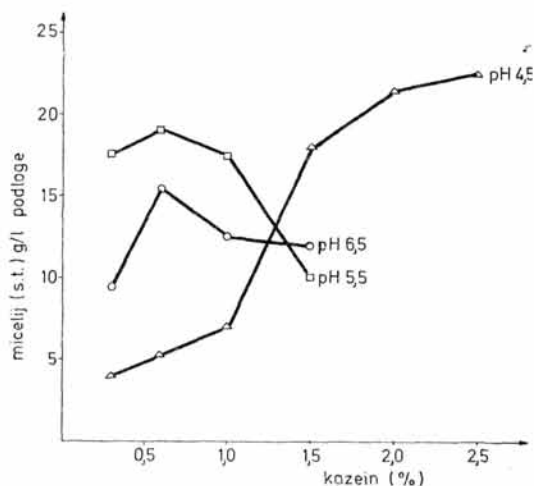
U podlogama sa nerazrijeđenom surutkom i raznim koncentracijama kukuruznog ekstrakta, a pri početnoj pH vrijednosti 4,5 nije primijećen rast micelija gljive *M. hortensis*, a također nema ni rasta u podlozi pripravljenoj od vode i navedenih koncentracija kukuruznog ekstrakta.

Promatrajući sliku 2, na kojoj su prikazani rezultati dobiveni pri submerznom kultiviranju gljive *M. hortensis* u nerazrijeđenoj surutki sa različitim koncentracijama kvašćevog ekstrakta i pri početnim pH vrijednostima 5,5 i 6,5 vidi se da je maksimalni prinos biomase postignut u podlogama koje su sadržavale 1,5% kvašćevog ekstrakta. Pri toj koncentraciji kvašćevog ekstrakta dobiveno je 24,5 g biomase (suhe tvari) u litri podloge kada je njen početni pH iznosio 5,5 što je za 50% više od prinosa postignutog u podlozi istog sastava, ali početne pH vrijednosti 6,5.

Povećanje koncentracije kvašćevog ekstrakta u nerazrijeđenoj surutki iznad 1,5% uzrokuje znatnu inhibiciju rasta micelijarne mase gljive *M. hortensis*. To se naročito ispoljilo pri početnom pH podloge 5,5 jer je povećanjem koncentracije kvašćevog ekstrakta sa 1,5 do 2,0% izazvalo pad prinosa biomase za 54%.



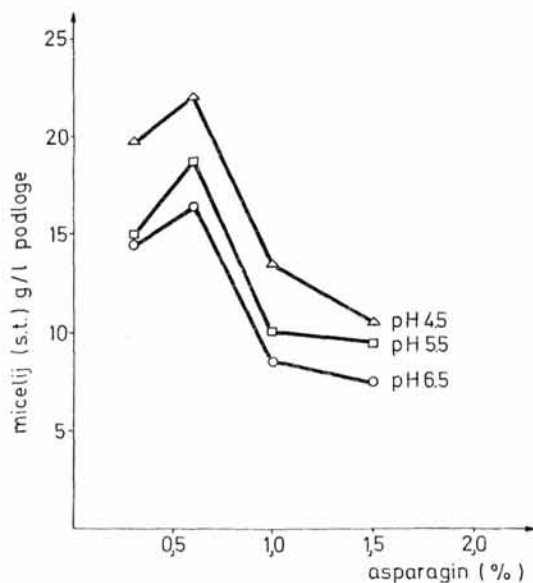
Slika 2. Uticaj kvašćevog ekstrakta na rast micelija gljive *M. hortensis* u surutki pri početnom pH 5,5 i 6,5.



Slika 3. Uticaj kazeina na rast gljive *M. hortensis* u serumu različitih početnih pH vrijednosti.

Ni u ovom slučaju kao što je također već navedeno u slučaju dodatka kukuruznog ekstrakta nema rasta micelijarne mase kada je početni pH podloge bio 4,5.

Dodatkom kazeina u nerazrijeđenu serumu postignut je rast micelija ispitivane gljive i pri početnom pH podloge 4,5, 5,5 i 6,5.



Slika 4. Uticaj asparagina na rast micelija gljive *M. hortensis* u serumu različitih početnih pH vrijednosti.

Pri početnom pH podloge 4,5 povećanjem koncentracije kazeina do 2,5 dolazi i do povećanja količine biomase. Kod početnih vrijednosti pH podloge 5,5 i 6,5 maksimalni prinos biomase se postiže pri koncentraciji kazeina 0,6%, dok njegove više koncentracije izazivaju inhibiciju rasta što je vidljivo sa slike 3. Kada je u podlozi koncentracija kazeina bila 0,6% prinos micelijarne mase pri početnom pH podloge 6,5 je bio za 19%, a pri početnom pH 4,5 za 74% niži od dobivenih maksimalnih vrijednosti kod pH 5,5.

Sa iste slike je vidljivo da je u ovoj seriji pokusa najviše micelijarne mase (22,5 g/100 ml) gljive dobiveno kada je nerazrijeđena surutka sadržavala 2,5% kazeina i kada je njen početni pH bio podešen na vrijednost 4,5.

Na slici 4. su prikazani rezultati dobiveni kultiviranjem micelija gljive *M. hortensis* u nerazrijeđenoj surutki uz dodatak asparagina. Maksimalni prinosi micelijarne mase su dobiveni sa 0,6% asparagina u podlozi. Njegove više koncentracije izazivaju znatnu inhibiciju rasta biomase pri submerznom načinu kultiviranja ove gljive. Pri početnom pH podloge 4,5 dobiveno je 22 g biomase (računato na suhu tvar) po litri podloge, a pri pH 5,5 i 6,5 dobiveni rezultati su za 15 odnosno 25% niži.

Zaključak

Micelij gljive *Morchella hortensis* se može kultivirati submerznim postupkom i u nerazrijeđenoj surutki uz dodatak kukuruznog i kvašćevog ekstrakta, kazeina i asparagina, koji u ovom slučaju djeluju kao dodatni izvori dušika i kao stimulatori rasta navedenog mikroorganizma.

U litri nerazrijeđene surutke uz dodatak kukuruznog ekstrakta dobiveno je 27,3 g micelijarne mase računato na suhu tvar. Nešto niži rezultati su postignuti u surutki uz dodatak kvašćevog ekstrakta (24,5 g), kazeina (22,5 g) i asparagina (22 g).

Upoređujući te rezultate sa onim iz ranijih pokusa pri kultiviranju ove gljive u razrijeđenoj surutki (80% nerazrijeđene surutke i 20% vode), kada je dobiveno 9 g biomase u litri podloge, vidi se da su prinosi u nerazrijeđenoj surutki, ali uz dodatak navedenih stimulatora rasta i do 3 puta viši.

Početni pH podloge znatno utiče na razvitak micelija gljive *M. hortensis*.

Summary

Mycelium of *Morchella hortensis* can be cultured in submerged culture in undiluted whey but with the addition of corn steep liquor, yeast extract, casein and asparagine which serve as additional sources of nitrogen and have a stimulative effect on the growth of the microorganisms.

27.3 g of dried mycelium has been reached per liter of undiluted whey with corn steep liquor. Lower yields have been obtained in whey with yeast extract (24.5 g), casein (22.5 g) and asparagine (22 g).

These yields obtained in undiluted whey with added stimulants compared with 9 g of mycelium of the strain cultured in diluted whey (80% undiluted whey and 20% water) are 2.5 — 3 times greater.

Initial pH of the culture medium has a strong influence on the development of *M. hortensis* mycelium.

Literatura

1. REUSSER, F., SPENCER, J. F. T. and SALANS, H. R. (1958): Protein and fat content of some Mushrooms grown in submerged culture. **Appl. Microb.** 6, 1—4.
2. LE DUY, A., KOSARIC, N., ZAJIC, J. E. (1974): Morel mushroom mycelium growth in waste sulfite liquors as source of protein and flavouring. **J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.** 7, 1,44—50.
3. LITCHFIELD, J. H. (1967): Morel mushroom mycelium as a food-flavoring material. **Biotechnol. and Bioeng., Vol IX**, 289—304.
4. PROKOVSKIJ, A. A.: Himičeskij sastav piščevih produktova, **Piščevaja promyšlenost**, Moskva, 1976.
5. HERNÁNDEZ, E., MEZA, E. and LOZANO, N.: Single cell protein production by continuous culture of yeasts on deproteinized whey. 20th International Dairy Congress France 1978, p. 935.
6. DESCHAMPS, A., LEJEUNE, G. CORDONNIER, and LEBEAULT, J. M.: Preprints, First European Congress on Biotechnology, Interlaken, 1978, p. 225. Lysine production from whey
7. ZALASHKO, L. S., SHAMGIN, V. K., ZALASHKO, M. V., OBRAZTSOVA, N. V. and CHAIKA, L. L.: Synthesis of microbial protein and vitamins in concentrated whey. Brief communications, p. 936, 20th International Dairy Congress France 1978.
8. DABBAH, R. (1970): Protein from microorganisms. **Food Technology**, 6, 35—42.
9. KJHLBERG, R. (1972): The microbe as a source of food. **Annual Review of Microbiology**, 26, 427—466.
10. LITCHFIELD, J. H. VELY, V. G. and OVERBECK, R. C. (1963): Nutrient content of morel mushroom mycelium. Amino acid composition of the protein. **J. Food Sci.**, 28, 741—743.
11. DUVNJAK, Z., ERIC, M. i TAMBURAŠEV, G. (1978): Studij rasta viših gljiva *Agaricus campestris* i *Morchella hortensis* u submerznoj kulturi pri upotrebi surutke kao hranjive podloge. **Mljekarstvo**, 2, 38—42.

Vijesti

II SASTANAK PREHRAMBENIH TEHNOLOGA, BIOTEHNOLOGA I NUTRICIONISTA HRVATSKE

U toku tri dana, od 7. do 9. lipnja 1979, Zagreb je bio domaćin impozantnog Sastanka prehrambenih tehnologa, biotehnologa i nutricionista Hrvatske. U raskošnim prostorijama hotela Inter-continental i na Tehnološkom fakultetu društveni i znanstveni radnici, te stručnjaci širokog raspona specijalnosti iznosili su referate i raspravljali o problemima prehrane i unapređenju tehnologije u prehranbenoj industriji.