

Využití separátu z bioplynových stanic pro pěstování jedlých hub

Ivan Jablonský, Martin Koudela, František Jelínek

(Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6)

Úvod

Způsob přípravy žampionového substrátu prošel dlouhým vývojem. Substrát se připravuje fermentací a jejím účelem je přetvoření složitých organických polymerů (hemcelulóza, celulóza) na jiné komplexní látky (dusíkem bohatý lignino-humusový komplex, biomasa mikroorganismů), které slouží výhradně k výživě žampionového mycelia. Pro získání kvalitního žampionového substrátu je třeba splnit dvě základní podmínky, a to: zajistit suroviny ve vhodném složení a poměru a vytvořit prostředí pro činnost fermentačních mikroorganismů (Jablonský a Šašek 2006).

V současné době se žampionový substrát připravuje fermentací čerstvé slámy a dusíkatých přísad obsahující na počátku 1,7-1,9% dusíku v sušině při poměru C:N 70 - 80 : 1. Proces v první fázi probíhá v substrátu o vlhkosti 72-74% nejdříve za semiaerobních podmínek v teplotě 80°C po dobu 3-6 dnů. Posléze ve druhé fázi proces pokračuje 6-7 dnů za intenzivní aerace v teplotě 48°C, kdy se vytvoří selektivní živné medium, na kterém roste pouze mycelium koprofilních druhů hub jako je žampion *Agaricus* sp. či hnojník (*Coprinus comatus*). Výsledný substrát má obsah dusíku 2,2-2,5 %, obsah vlhkosti 68-70 % a obsah volného čpavku nesmí překročit 5 ppm. Některé práce se zabývaly využitím různých typů separátů pro přípravu substrátů pro pěstování různých druhů hub. Jasiňská a kol. (2016) kombinovali digestát vzniklý anaerobní fermentací potravinového odpadu za přísadku fermentovaného kancelářského papíru se slámou. Nejlepšího výnosu studované houby hnojníku obecného (*Coprinus comatus*) bylo dosaženo na směsi 18% slámy, 36% odpadního papíru, 3% drůbeží podestýlky, 40% digestátu a 3% sádry. Isikhuemhen a Mikiashvilli (2009) studovali růst mycelia a výnos hlívy (*Pleurotus ostreatus*) na různých směsích separátu a lignocelulózových odpadů. Nejvyššího výnosu plodnic dosáhli na substrátu připraveném ze 70-80 % slámy, 10-20 % separátu z bioplynových stanic (BPS) a 10-20 % prosa.

Hotový substrát z upraveného separátu z BPS byl ověřován na vybraných saprotrofních druzích hub. Jednou z nich byl léčivý druh žampion mandlový - *Agaricus subrufescens* u něhož byly nedávno objeveny léčivé účinky. Bylo ověřeno, že houba stimuluje imunitní systém a podporuje přirozené obranné mechanismy těla.

Materiál a metoda

Naší hypotézou bylo, že lze připravit žampionový substrát ze separátu z BPS, protože při něm dochází k podobným rozkladným procesům jako během I. fáze fermentace žampionového substrátu. Jako surovina pro přípravu substrátu byl použit separát ze dvou BPS s odlišným složením. Tento materiál má však vysoký obsah vody (78-80%) a kratší strukturu, zatímco žampionový substrát po I. fázi fermentace (kterou v našem případě nahrazuje anaerobní fermentační proces) má obsah vody ve stejné fázi 72-74 % a delší strukturu. Tyto

rozdílné parametry mezi oběma substráty mohou způsobit, že během fermentačního procesu separátu během II. fáze fermentace se bude pomaleji snižovat obsah vody i volného čpavku v substrátu.

II. fáze fermentace substrátu na bázi separátu z BPS proběhla ve stejných podmínkách jako fermentace žampionového substrátu. Byly porovnány 2 zdroje separátu a 2 různé přísady.

První pokusy byly prováděny v 80 l plastových sudech, které sloužily jako fermentory. Byly aerovány odspodu tlakovým vzduchem a teplota okolního prostředí byla nastavena na požadovanou teplotu 46°C. Aerace byla často přerušovaná. Ukázalo se, že přerušovaná aerace menším množstvím vzduchu (16 litrů vzduchu za minutu na 17 kg substrátu po dobu 45 minut akce a 15 min pauza) pomocí kompresoru je nedostatečná, neboť proces trval neúměrně dlouho, až došlo k nadměrnému vysušení substrátu.

Hledali jsme proto takové řešení, aby bylo dosaženo intenzivnějšího provětrávání substrátu. Tím by se podpořila aktivita mikroorganismů při teplotě 46°C a celý proces, během kterého se odstraní volný čpavek, by se zkrátil minimálně na 7 dnů. Proto jsme modifikovali recepturu a nakonec navrhli a vyrobili pokusné zařízení splňující požadavky na optimální přípravu substrátu.

Tabulka č. 1 Posouzení separátu jako suroviny pro přípravu žampionového substrátu:

| Vlastnost | Žampionový substrát po fázi I | Separát BPS |
|--|-------------------------------|-------------|
| Obsah vody v [%] | 72-74 | 89-90 |
| Struktura -délka slávek [cm] | 7-10 | 1-3 |
| Specifická hmotnost [kg/m ³] | 700-800 | 850 |
| Prostupnost substrátu pro vzduch | dobrá | špatná |
| pH | 8,0-8,5 | 8,8 |

Tabulka č. 2 Složení separátů a doba jejich fermentace

| Dávka č. | Surovina a její ošetření | Počet dnů fermentace |
|----------|---|----------------------|
| 1 | Petrovice: 60% senáž, 30% siláž kukuřičná, 10% hnůj | 10 |
| 2 | Mokrovraty: 30% hnoje skotu podestýlaného separátem, 20% žitné senáže, 20 % travní senáže a 30% kukuřičného šrotu | 9 |
| 3 | Petrovice dtto | 14 |
| 4 | Petrovice dtto + 10% pšeničných otrub | 12 |
| 5 | Petrovice dtto + 20% slaměných pelet | 10 |
| 6 | Petrovice dtto + 30% slaměných pelet | 12 |

Vývoj postupu přípravy substrátu pro koprofilní houby na základě separátu BPS

Obr. č. 1 Foto minitunelu pro fermentaci separátu



Abychom vytvořili podmínky pro optimální přípravu substrátu ze separátu BPS, byl zkonstruován minitunel. Jeho konstrukci tvořily polyuretanové panely o síle 60 mm. Do tunelu byl založen separát (260-300 kg) a středotlaký ventilátor protlačoval vzduch vrstvou vysokou původně 100 cm, která postupně klesla na 80 cm. Vzduchové klapky řízené servopohony Belimo se otvíraly tak, aby v tunelu byla udržována nastavená teplota. Otevřením klapky čerstvého vzduchu se substrát ochlazoval.

Původně jsme počítali s tím, že veškeré teplo se v izolovaném tunelu vytvoří samozhřevem (biologickým teplem). První pokus ale ukázal, že samotný neobohacený separát BPS je natolik energeticky vyčerpaný, že se musí přidat do minitunelu 2 topné dečky

o celkovém výkonu 400 W udržující nastavenou teplotu zajišťující optimální proces. V prvním pokusu jsme se pokusili nastavit podmínky podobné jako u II. fáze fermentace v teplotě 48-50°C přičemž byl sledován úbytek vody a volného čpavku.

Separát jako substrát však nevykazoval dostatečnou mikrobiální aktivitu a volný čpavek ubýval pomalu s ohledem na horší prostupnost převlhčeného materiálu a trvalo 9-12 dnů, než se snížil obsah volného čpavku pod 5 ppm. Do pokusného „tunelu“ byla umístěna topná tělesa zajišťující požadovanou teplotu v provětrávaném materiálu.

V prvních pokusech jsme postupovali při přípravě substrátu jako při II. fázi fermentace žampionového substrátu, kdy v teplotě 46-48°C a za trvalé, případně cyklické aerace dochází k podpoře termotolerantních mikroorganismů produkujících biomasu, prospěšnou pro naočkované houby. Termotolerantní mikroorganismy současně využívají volný čpavek jako zdroj dusíku.

Po vyskladnění byl substrát využit pro růstové a fruktifikační pokusy a jako inokulum termotolerantních hub pro očkování dalších pokusných dávek

Bylo založeno dalších 5 dávek separátu, přičemž byly porovnávány separáty ze dvou BPS (Petrovice a Mokrovraty).

Dávky 1, 3, 4, 5 a 6 ze separátu Petrovice: 60 % senáž, 30% siláž kukuřičná, 10 % hnůj.

Dávku 2 tvořil separát z BPS Mokrovraty složený z: 30% hnoje skotu podestýlaného separátem, 20% žitné senáže, 20 % travní senáže a 30% kukuřičného šrotu.

Výsledky a diskuse

Vzhled i vlastnosti obou substrátů se nelišily. U prvních dávek byla po skončení fermentace zjištěna přítomnost plevelného hnojníku inkoustového (*Coprinus atramentarius*). Podhoubí hnojníku obecného i žampionu mandlového těmito prvními substráty prorůstalo velmi slabě a nevytvářely se plodnice, což naznačovalo, že v substrátu chybí potřebné živiny. K jedné z dávek bylo přidáno 1 kg pšeničných otrub na 10 kg surového separátu. Výsledky tohoto pokusu byly negativní, protože se objevilo velké množství plevelných hnojníků a podhoubí naočkovaných hub neprorůstalo substrátem.

Do dávek č.5 a č. 6 bylo přidáno 20 resp. 30 % namočených pšeničných pelet a jako inokulum byl přidán substrát z předchozí dávky. Takto připravený substrát prorůstal myceliem a výskyt plevelných hub nebyl zaznamenán.

Graf č. 1 znázorňuje průběh teplot během fermentace. Pro dosažení požadované kvality substrátu je třeba udržovat teplotu v rozmezí 45-48 °C, kdy se čpavek nejlépe zabuduje do biomasy mikroorganismů a substrát se tak stává vhodným médiem pro růst koprofilních druhů hub.

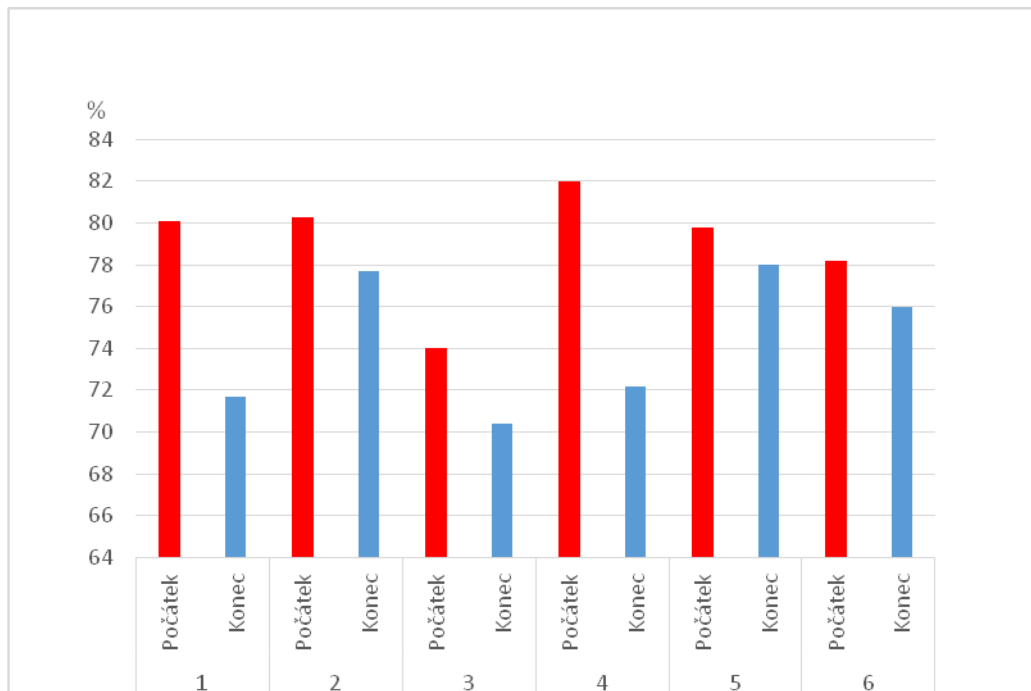
Při přípravě substrátu ze separátu BPS je dalším cílem zbavit jej nadměrného množství vody. Výpar vody ze substrátu je podporován vlastní mikrobiální aktivitou. Z grafu č. 3 je

zřejmé, že se rozdíly v počátečním obsahu vody u každé pokusné várky substrátu od počátku do konce fermentace výrazně lišily.

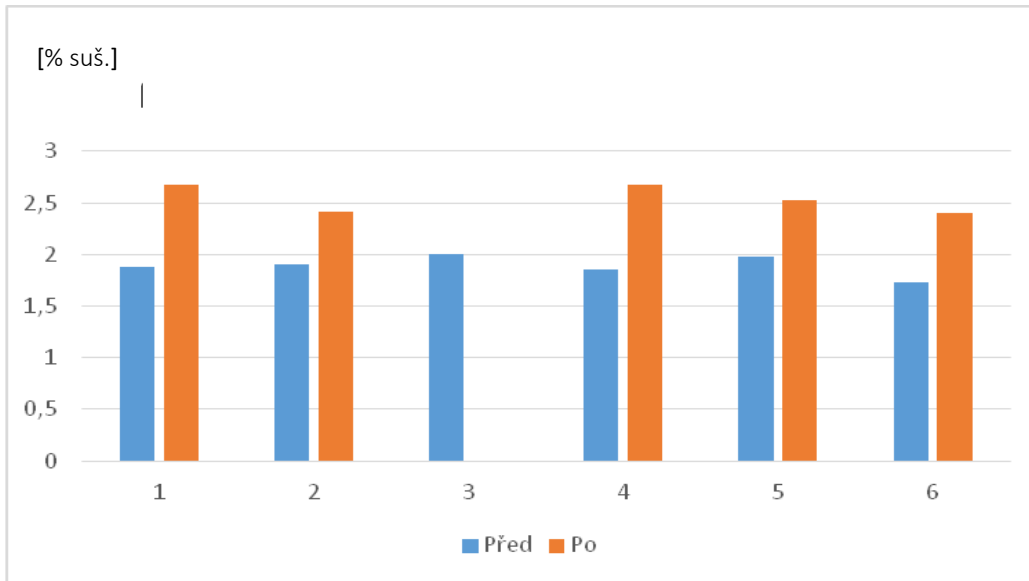
Graf. č. 1 Průběh teplot pro optimální průběh fermentace separátu



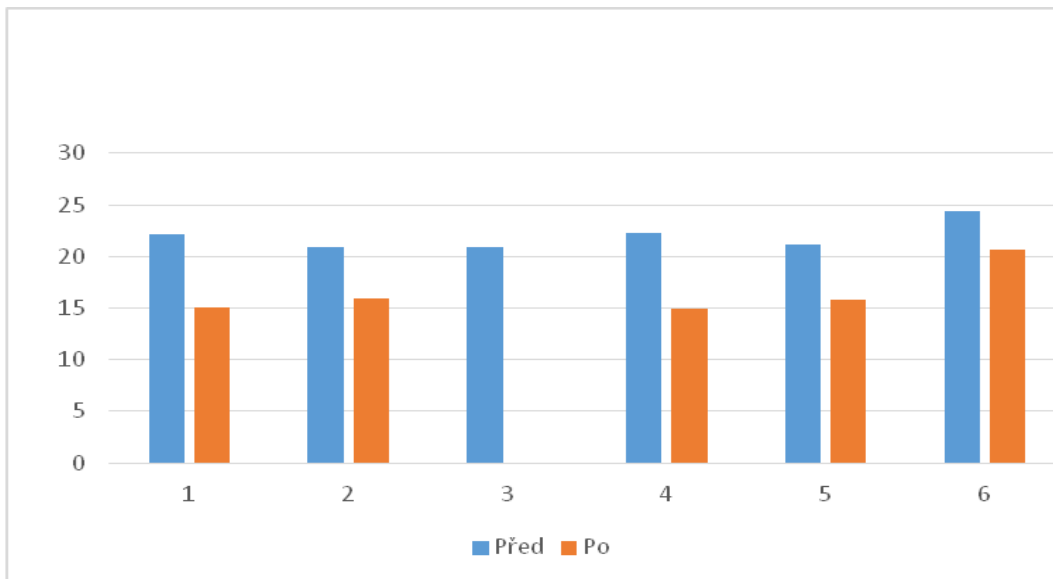
Graf. č. 2 Změny vlhkosti substrátu připraveného ze separátu v průběhu fermentace v %



Graf č.3 Změny v obsahu N v jednotlivých várkách fermentovaného separátu před a po fermentaci



Graf č.4 Změny C:N ve fermentovaném separátu z BPS v jednotlivých várkách před a po fermentaci



Při 6. várce substrátu se podařilo vyřešit jeho vhodné složení a postup fermentace. Podhoubí žampionů mandlového prorůstalo substrát v teplotě 24°C v průběhu 14 dnů. Následně byl substrát pokryt krycí zeminou a za dalších 21 dnů v teplotě 20-21°C se vyvíjely plodnice. Z jednotlivých parcel bylo sklizeno v průběhu 14 dnů 8-25% plodnic v přepočtu na hmotnost substrátu.

Tabulka č 3 Výnosy žampionu mandlového na substrátu ze separátu BPS z várky č. 6

| Výnos žampionu mandlového na substrátu ze separátu BPS s přidavkem 30 % pšeničných pelet (1. sběr 19.12.2016, 2. sběr 2.1.2017) | | | |
|---|------------|--------------|-----------|
| Opakování č. | Celkem (g) | substrát (g) | Výnos (%) |
| 1 | 542,1 | 3800 | 14,3% |
| 2 | 641,1 | 3300 | 19,4% |
| 3 | 344,5 | 4000 | 8,6% |
| 4 | 975,1 | 3900 | 25,0% |
| 5 | 777,9 | 4100 | 19,0% |
| 6 | 717,6 | 4200 | 17,1% |

Pro růst podhoubí a výnos plodnic je důležitý žampionový substrát, který vzniká fermentací všech složek N (aminokyseliny) a C jako celulóza – 50 %, lignin-16 %, pentozany 11,5 % a lipidy). Během fermentace žampionového substrátu je rozložena podstatná část hemicelulózy a tak v substrátu zůstává zvýšený obsah ligninu a ten se podílí na tvorbě dusíkem bohatého lignin-humusového komplexu. Zbývá celulóza v žampionovém substrátu vytváří jeho optimální strukturu (Griensven 1988). Během fermentace žampionového substrátu je třeba dbát na to, aby substrát nebyl fermentován příliš dlouho, zachoval si svoji aktivitu a zbyly v něm živiny podmiňující vysoký výnos žampionů (Lelley 1991). Při delší fermentaci se zhoršuje také jeho struktura a mikrobiální aktivita. Poměr C:N se u žampionového substrátu mění počátečních 30:1 na konečný poměr 15-16:1. V separátu nejsou všechny tyto látky přítomny.

Během anaerobní fermentace jsou zfermentovány škrob a velké množství frakcí extrahovatelných látek včetně kyselého rozpustného ligninu. Částečně se rozkládá celulóza a hemicelulóza (40 % resp. 29 %). Digestát z kukuřičné siláže vzniklý anaerobní fermentací ale obsahuje značné množství buněčných stěn polymerů (Santi a spol. 2015). Zdá se proto, že snadno přístupné látky využití k výrobě bioplynu chybí jako živiny v konečném složení substrátu.

Při porovnávání separátu BPS s žampionovým substrátem po I. fázi fermentace lze zjistit řadu rozdílů. Každý ze substrátů byl fermentován za odlišných podmínek. Žampionový substrát se fermentuje při 80 °C za semiaerobních podmínek, kdy obsah kyslíku neklesne pod 8 %. Během fáze I probíhá v žampionovém substrátu karamelizace a tím se zachovávají látky potřebné v další fázi přípravy, jako příští zdroj výživy žampionového mycelia. Probíhají zde fermentační procesy, během kterých mikroorganismy spotřebují energii pro přeměnu organických látek a část energie uniká ve formě tepla. V důsledku semiaerobních podmínek je v žampionovém substrátu přítomna jiná mikroflóra než během anaerobního procesu BPS, který probíhá při teplotě 35 °C.

K doplnění chybějící mikroflory byl před fermentací do čerstvých dávek separátu přidáván podíl 5 % hotového substrátu z předchozí dávky. Chybějící živiny a zdroj energie byly do separátu dodány ve formě slaměných pelet, což se osvědčilo ve zvýšené teplotní aktivitě a následně v lepším růstu podhoubí a výnosu plodnic žampionu mandlového.

Závěry

Ze separátu BPS se dá připravit substrát pro pěstování žampionu mandlového a to za předpokladu:

- 1) Je zbaven volného čpavku
- 2) Stane se selektivním živným médiem, na kterém nerostou jiné druhy konkurenčních hub
- 3) Před II. Fází fermentace je přidán zdroj celulózy např. určitý podíl slámy
- 4) Je podroben několikadenní fermentaci při 48-50°C

Z hlediska praktického použití se dá k přípravě žampionového substrátu použít separát ze zemědělské BPS o jeho co nejnižší vlhkosti. Takovýto materiál se smíchá s nařezanou pšeničnou slámou (30%), a 5% hotového substrátu z minulé várky jako inokulem příznivé mikroflory. Potom se naplní do propařovací komory, kde cirkuluje vzduch proudící z podrošťového prostoru. Protože tento materiál není dostatečně aktivní, je třeba dosáhnout a udržet teplotu 48-50°C využitím odpadního tepla BPS. Hypotéza, že separát po vhodné specifické fermentaci bude vyhovovat jako substrát pro pěstování žampionu mandlového, byla potvrzena.

Seznam literatury

Griensven L.J.L.D. van (1988) The cultivation of mushrooms, Darlington Mushroom Laboratories Ltd. 515 s.

Jablonský, I., Šašek, V. (2006): Jedlé a léčivé houby, pěstování a využití. Praha: Brázda. 264 s.

Jasinska, A., Wojciechowska, E., Stoknes K., Krsesiński (2016) Impact of compost supplemented with waste paper and anaerobically digested food waste on cultivation of edible mushroom *Coprinus comatus* (O.F.Mull.) Pers. s.190-194, in Science and cultivation of edible and medicinal fungi: Mushroom Science IXX, ed. by A.S.M. Sonnenberg and J.J.P Baars. Proceedings of the 19th Congress of the International Society for Mushroom Science, Amsterdam, the Netherlands, 30 May -2 June 2016, ISBN 978-90-9029771-2

Lelley, J. (1991) Pilzanbau – Biotechnologie der Kulturspeisepilze 404 s., Ulmer GmbH and Co. ISBN 3-8001-5131-6

Mikiashvili, N.A., Isikhuemhen (2009), O.S. Productivity and nutritional content of culinary-medicinal oyster mushroom *pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (Agaricomycetidae) fruit bodies cultivated on substrates containing solid waste from anaerobic digested poultry litter. Vol.11, č.1, s.207-213

Santi, G., Proietti, S., Moscatello, S., Stefanoni, S., Proietti, S., (2015) Anaerobic digestion of corn silage on a commercial scale: Differential utilization of its chemical constituents and characterization of the solid digestate. Biomass and Bioenergy, Volume 83, 17–22 s.

Szudyga, K: (2002). Uprawa pieczarki, Hortpress sp. Warszawa,, 230 s.

Tlustoš, P. a kol. (2016) Certifikovaná metodika pro VÚ TAČR č. TA04020329 Zhodnocení fyzikálně-chemických a biologických vlastností substrátů založených na bázi separátů upravených fermentací, 37 s.

Tato práce byla podpořena grantem TAČR č. TA04020329