

Lihovarství a droždářství

Možnosti využití kvasinek vypěstovaných na syntetickém etanolu v lidské výživě

663.14.031.2:661.722

I. Požadavky na kvalitu kvasinek pro lidskou výživu

Ing. FRANTIŠEK ŠTROS, CSc., Ing. MILOSLAV RUT,
Výzkumný ústav krmivářského průmyslu a služeb, odbor mikrobiálních výrob, Praha

V současném neustálém prohlubujícím nedostatku bílkovinných potravin ve světě je vkládána největší naděje do bílkovin jednobuněčných mikroorganismů (dále SCP — single cell protein). Způsob využití těchto bílkovin ve výkrmu jatečních zvířat je dnes mimo jakoukoliv pochybnost. Zbývá jediná námítka — proč raději nevyužít tyto bílkoviny přímo v lidské výživě? Přesto, že na tomto poli bylo již uděláno mnoho práce, není pravděpodobné, že v blízké budoucnosti budou SCP v masovém měřítku bez další usilovné výzkumné práce přímo využívány [1].

Využití SCP v potravinářství zaostává za krmivářským zužitkováním z několika důvodů: 1. Při výrobě je nutné používat potravinářsky schválených surovin a pomocných látek a potravinářské sanitární podmínky. 2. Dodatečně nutné čisticí operace. 3. Komplikované a zdlouhavé, popř. i klinické testování nových potravin. 4. Konzervativismus a jiné psychologické zábrany při zavádění netradičních potravin.

Dnes můžeme ve světě zaznamenat pouze jedině povolení k výrobě a využití kvasinek v lidské výživě. U. S. Food and Drug Administration povoluje jako přidavek do potravin kvasinky *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces fragilis* a *Saccharomyces carlsbergensis*. Jako jediný netradiční substrát se povoluje syntetický etanol. Pro kvasnice používané v potravinářském průmyslu existuje v ČSSR jedený předpis jakosti — ČSN 58 6810. Norma je určena především pro pekařské lisované, násadní a vitální droždí, zahrnuje však jako tržní druh i sušené droždí potravinářské nebo krmné. K výrobě lze použít výhradně melasu a kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae Hansen*, rasa droždářská. Požadavky na chemické složení (obsah dusíkatých látek, popela, kyselost a obsah As) jsou snadno splnitelné, mikrobiologická čistota se např. u druhu *d* nekontroluje vůbec. Je zřejmé, že v budoucnu nebude možno striktně omezovat výchozí surovinu a používaný druh mikroorganismu a že bude naopak nutno podstatně zvýšit požadavky na obsah bílkovin (popř. i esenciálních aminokyselin a vitamínů) a zpřísnit kontrolu chemického složení a mikrobiologické kvality výrobku.

Podobná situace je zřejmě i ve většině jiných států. Pouze u kvasničních přípravků používaných v lékařství jsou v příslušných lékopisech uvedeny podrobnější předpisy. Jinak je nutno konstatovat, že prudký rozvoj poznatků o výrobě mikrobiálních bílkovin, který nastal v posledních letech, předběžná platné předpisy pro jatko. V této situaci, kdy stav výzkumu dovoluje v některých případech prakticky okamžitě zahájit výrobu mikrobiálních bílkovin z netradičních surovin a kdy řada

států je postavena před úkol vypracovat urychlěně předpisy pro hodnocení jakosti nových výrobků, jsou velmi cenné návrhy jednotného systému pro testování kvality mikrobiálních proteinů, vypracované v rámci Poradní skupiny OSN pro bílkoviny (Protein Advisory Group — PAG) a zveřejňované v bulletinu této organizace.

Směrnice pro výrobu mikrobiálních proteinů pro přírodní lidskou výživu a pro hodnocení jejich kvality jsou shrnutý v PAG Guideline 12 z roku 1972 [2]. Podle těchto směrnic může být SCP považován za potravinu, protože kromě bílkovin má významný kalorický a vitamínový obsah. Pokud má být SCP použit k fortifikaci potravin bílkovinami, je zvláště důležitá jejich nutriční hodnota. Při výrobě SCP musí být sanitární čistota průvodu udržována na úrovni obvyklé v potravinářském průmyslu. Také zařízení musí být konstruováno se zretelem na sanitární principy a z hygienického hlediska je nutno pečlivě kontrolovat surovinu, všechny úseky výrobního postupu, balení výrobku, dopravu a podobně.

Při výrobě mikroorganismů se dává přednost takovým, které naleží ke druhům známým tím, že neprodukuje patogenní nebo toxicke varianty. Každý mikroorganismus vybraný pro výrobu SCP pro lidskou výživu musí být zkoušen na patogenitu a toxicitu za týchž podmínek, za kterých bude průmyslově vyráběn.

Mezi potenciální zdroje uhlíku se počítají suroviny obsahující sacharidy (melasy, škrob, celulóza, syrovátky, sulfitové výluhy apod.), různé druhy uhlovodíků (metan, n-alkány), alkoholy (metanol a etanol) a kysličník uhličitý. Se základní surovinou ani pomocnými látkami nesmí být do výrobku vnesen žádný materiál, který by nebylo možno z výrobku odstranit, pokud se to ukáže z hlediska nezávadnosti nutné. Podmínky kultivačního procesu a jejich vliv na složení produktu musí být znám tak, aby byla zajištěna žádaná kvalita a stejnorodost výrobku. Při kontrole kvality výrobku musí být věnována trvalá pozornost nejen složení bílkovinného koncentrátu, ale i udržení vlastností původního kmene. Proto musí být vypracovány vhodné mikrobiologické a biochemické testy, umožňující prokázat stabilitu provozního kmene a podat důkaz nepřítomnosti kontaminujících mikroorganismů.

Postup hodnocení nezávadnosti je popsán v PAG Guideline č. 6 „Předklinické testování nových zdrojů bílkovin“ [3]. Po těchto testech je nezbytné i důkladné klinické hodnocení, protože takové následné jevy jako je alergie, tvorba kyseliny močové, subjektivní reakce apod. je možno určit pouze zkouškami na lidech. Postup provádění klinických testů je uveden v PAG Guideline 7

„Testování doplňkových potravinových směsí na lidech“ [4].

Nutriční hodnota SCP se určuje stanovením stravitelnosti, biologické hodnoty a buď využitelnosti čisté bílkoviny, nebo poměrem bílkovinné účinnosti na zvířatech a dusíkovou bilanci na lidech. SCP obvykle obsahuje kromě bílkovin i jiné živiny, ke kterým je třeba rovněž přihlédnout. Obsah hrubých bílkovin (celkový dusík \times 6,25) je hodnota velmi pochybná a od jejího používání se upouští. V poslední době se nahrazuje pojmem „korigovaný protein“, který se vypočítává z rozdílu celkového dusíku a dusíku nukleových kyselin násobeného faktorem 6,25. Dusík nukleových kyselin se vypočítá z dusíku purinového násobením faktorem 1,4. Obsah nukleových kyselin se počítá z dusíku nukleových kyselin vynásobením faktorem 9 [5]. Dosud platí doporučení PAG, že obsah nukleových kyselin by měl být stanoven některou z metod doporučenou Munroem a Fleckem [6].

Při hodnocení lipidů musí být v extraktu získaném organickými rozpouštědly stanoveny triglyceridy, steroidy a fosfolipidy. Jestliže je éterový extrakt vyšší než 1 %, musí se plynoucí chromatografií určit profil mastných kyselin. Zvláštní pozornost je nutno věnovat mastným kyselinám neobvyklého složení. V popelu musí být stanoven obsah vápníku, fosforu, železa, jádu, alkalickej kovů, žírových zemin a těžkých kovů. Dále je nutno kontrolovat obsah rozpouštědel, který nesmí převyšit hodnoty běžné při dobré provozní výrobě.

Tabulka 1. Přípustné koncentrace některých škodlivých látek v krmném SCP

Škodlivá složka	Nejvyšší přípustný obsah	
	podle návrhu IUPAC 1972	podle doporučení PAG Guideline 15
Arsen	5 ppm	2 ppm
Olovo	5 ppm	5 ppm
Celkové zbytkové uhlovodíky	neuvádí se	0,5 %
Zbytkové aromatické uhlovodíky	0,05 %	0,05 %
Polycyklické aromatické uhlovodíky jako 3,4 - benzpyren	5 ppb	5 ppb

V citovaných instrukcích PAG nejsou ovšem obsaženy údaje o nejvyšších přípustných koncentracích škodlivin v SCP určeného k přímé lidské výživě. Tyto údaje budou zřejmě doplněny později až po získání dalších zkušenosť s používáním SCP připravených z netradičních surovin. Zatím je třeba vycházet z platných norem pro potravinářské výrobky obdobného charakteru. Určitým vodítkem při určení nejvyššího přípustného obsahu některých škodlivin v potravinářských kvasnicích může být návrh jednotného systému pro testování kvality petroproteinů, který v roce 1972 vypracovala pracovní skupina (SCP Advisory Committee) sekce fermentačního průmyslu IUPAC a údaje obsažené v PAG Guideline 15 pro hodnocení nutriční hodnoty a nezávadnosti nových zdrojů bílkovin pro výkrm zvířat [7]. Je samozřejmé, že požadavky na potravinářský SCP mohou být přísnější. V tabulce 1 jsou uvedeny navržené nejvyšší koncentrace arsenu, těžkých kovů a uhlovodíků. Uváděné nejvyšší přípustné obsahy zbytkových uhlovodíků mají ovšem význam pro posuzování SCP vyrobených z uhlovodíkových surovin. Při výrobě kvasnic ze syntetického etanolu by kontaminace uhlovodíků připadla v úvahu jen při použití nevhodných pomocných látek, zvláště odpěnovadel.

Pro výzkum výroby potravinářských kvasnic ze syntetického etanolu je zajímavé porovnat složení česko-slovenských etanolových krmných kvasnic se složením

Tabulka 2. Porovnání některých základních údajů krmných etanolových kvasnic (ČSSR) a potravinářských kvasnic AMOCO

	Krmné etanolové kvasinky ČSSR	TORUTEIN P — 10	TORUTEIN P — 12	TORUTEIN P — 13
<i>Základní analýza % ve vzorku t. q.</i>				
Vlhkost	7,0	6,0	6,0	6,0
Celkové proteiny [N \times 6,25]	55,2	52,0	52,0	52,0
Celkové lipidy	5,5	7,0	7,0	5,0
Vláknina	nestanoven	5,0	5,0	4,0
Popel	6,5	8,0	8,0	10,0
Sacharidy [z rozdílu]	nestanoven	22,0	22,0	26,0
Kyselost [mg KOH na 100 g suš.]	1200	1050	pH 6	pH 7
Nukleonové kyseliny [RNA]	7,5	10,0	nestanoven	nestanoven
<i>Minerální složky [mg/100 g t. q.]</i>				
Vápník	44	15	nestanoven	nestanoven
Fosfor	1170	2100	"	"
Železo	28	9,5	"	"
Sodík	35	108	"	"
Draslík	1630	2300	"	"
Hořčík	250	300	"	"
Síra	nestanoven	200	"	"
Zinek	21	9,3	"	"
Mangan	1,4	0,7	"	"
Níkl	nestanoven	0,063	"	"
Kobalt	"	0,005	"	"
Měd	4,7	0,36	"	"
Jod	nestanoven	0,34	"	"
<i>Aminokyseliny g /16 g N</i>				
Lysin	6,5	6,7	6,7	6,8
Histidin	1,7	2,1	2,1	1,8
Arginin	4,7	5,5	5,5	5,7
Kyselina asparagová	7,6	8,5	8,5	8,3
Threonin	4,7	4,9	4,9	4,7
Serin	4,6	4,4	4,4	4,2
Kyselina glutamová	11,0	16,3	16,3	16,0
Prolin	2,9	2,9	2,9	3,3
Glycin	3,6	4,3	4,3	4,3
Alanin	5,0	5,2	5,2	5,1
Cystin	nestanoven	0,7	0,7	0,7
Valin	4,3	5,3	5,3	5,1
Methionin	2,0	2,1	1,2	1,3
Isoleucin	3,7	4,3	4,3	4,3
Leucin	6,2	6,7	6,7	6,9
Tyrosin	2,9	3,2	3,2	2,8
Fenylalanin	3,9	4,1	4,1	3,8
Tryptofan	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>Vitaminy [mg na 100 g]</i>				
Thiamin	8,4	0,8	0,8	0,6
Riboflavin	8,2	4,5	4,5	4,1
Pyridoxin	3,8	9,4	8,3	5,0
Niacin	42	55	55	72
Kyselina listová (celková)	2,5	0,4	0,4	0,35
<i>Mikrobiologická čistota</i>				
a/ analýza AMOCO				
Celkový počet zárodků / g	200	<7500	nestanoven	nestanoven
E.coli / 10 g	nestanoven	neg.	"	"
Koliform. baktérie/g	<10	<10	"	"
Salmonella / 50 g	nestanoven	neg.	"	"
Staphylococcus aureus / g	<10	<10	"	"
Plísně a kvasinky/g	nestanoven	<50	"	"
b/ analýza VÚKPS				
Počet živých baktérií / g	80—130	0	"	"
Počet živých kvasinek a plísní / g	0—130	0	"	"
Koliformní baktérie	0	0	"	"

potravinářských výrobků TORUTEIN P 10, P 12 a P 13, které vyrábí v USA ze syntetického etanolu AMOCO FOODS COMPANY. Složení všech výrobků je shrnuto v tabulce 2. U tuzemských krmných kvasnic jsou uvedeny většinou hodnoty získané rozborem 10 až 15 provozních i laboratorních vzorků, složení amerických potravinářských výrobků je převzato z informačních materiálů AMOCO Co. [8] a některé údaje byly získány analýzami vzorku TORUTEIN P-10 ve VÚKPS a ÚKZÚZ.

Jak vyplývá z tabulky, mají výrobky TORUTEIN a tuzemské krmné etanolové kvasnice ve většině ukazatelů obdobné složení. Některé zjištěné rozdíly však stojí za pověsimnutí. Pokud jde o minerální látky, obsahují výrobky AMOCO většinou více biogenních prvků. Podstatný rozdíl je především v obsahu draslíku, který je v americkém vzorku dvojnásobný. Z ostatních prvků obsahuje TORUTEIN P-10 více než třikrát více sodíku, naopak koncentrace Fe, Cu, Zn, Mn jsou vyšší ve vzorcích tuzemských kvasnic. Výrobky AMOCO mají asi o 1 % vyšší obsah popela.

V aminokyselinovém spektru není mezi srovnávanými druhy kvasnic podstatný rozdíl. V přepočtu na celkovou hmotu biomasy se obsahy jednotlivých aminokyselin dobře shodují. Při vyjádření na 16 g N jsou obsahy aminokyselin příznivější u vzorků TORUTEIN, protože tuzemské kvasnice mají vyšší obsah celkového dusíku. Jde pravděpodobně o nebílkovinný dusík jiného původu, než jsou nukleové kyseliny. Velké rozdíly v obsahu některých vitamínů je možno přičíst rozdílným metodám analýzy. Americký výzkumníci věnují značnou pozornost obsahu celkové a volné kyseliny listové, protože Federální registr (21 CFR Section 121.1125 z roku 1963) předpisuje pro potravinářské kvasnice nejvyšší obsah kyseliny listové 4 mg na 100 g. Podle prací některých autorů [9] může mít vyšší obsah kyseliny listové v potravě nepříznivý vliv na nervový systém.

Pokud jde o zkoušky mikrobiální čistoty výrobku, je nutno poznamenat, že výsledky u tuzemských kvasnic pocházejí ze vzorků, které byly před sušením termolyzovány, což je operace, se kterou se počítá v rekonstruovaném závodě Seliko Kojetín. Kvasnice vyráběné v současné době mají obsah bakteriálních zárodků vyšší, ale i přesto vyhovují návrhu standardu IUPAC a instrukcím PAG 15.

Obsah arsenu a těžkých kovů v krmných kvasnicích ze syntetického etanolu, při jejichž výrobě byla použita jako zdroj P_2O_5 termická kyselina fosforečná, vyhovuje oběma návrhům normy. Obsah arsenu je nižší než 2 ppm a obsah olova je 1,4 ppm [10]. Obsah těžkých kovů se ve výrobce AMOCO neuvádí.

Zatím máme k dispozici jen velmi málo výsledků zkoušek biologické hodnoty kvasnic vyrobených z etanolu. Na ÚKZÚZ byla často stanovována stravitelnost dusíkatých látek, která se většinou pohybuje od 70 do 90 %. Práce na tomto poli probíhají v současné době ve VÚKPS.

V příštím sdělení se budeme zabývat snižováním obsahu nukleových kyselin v kvasinkách a některými postupy vypracovanými v ČSSR na úpravu krmných etanolových kvasinek pro potravinářské použití.

Literatura

- [1] LOVLAND, J., HARPER, J. M., FREY, A. L.: Lebensm. - Wiss. u. Technol. **9**, 1976, s. 131—142
- [2] PAG Guideline 12: PAG Bulletin, **2**, 1972, č. 2, 21—23
- [3] PAG Guideline 6: PAG Bulletin **4**, 1974, č. 3, s. 17—31
- [4] PAG Guideline 7: PAG Bulletin **10**, 1970, s. 6
- [5] PAG ad hoc working group on clinical evaluation and acceptable nucleic acid levels of SCP for human consumption: PAG Bulletin **5**, 1975, č. 3, s. 17—23
- [6] MUNRO, H. N., FLECK, A.: The Analyst, **91**, 1966, s. 78—88
- [7] PAG Guideline 15: PAG Bulletin **4**, 1974, č. 3, s. 11—17

[8] Amoco Foods Company: Torutein P-10, P-12 a P-13 firemní literatura Chicago 1975

[9] SCHERTEL, M. E., BOEHNE, J. W., LIBBY, A. A.: J. Biol. Chem. **240**, 1965, s. 3154—3158

Štros, F. - Rut, M.: Možnosti využití kvasinek vypěstovaných na syntetickém etanolu v lidské výživě. Kvas. prům., **24**, 1978, č. 2, s. 41—44.

Prudký rozvoj poznatků o výrobě mikrobiálních bílkovin a jejich přímé využití v lidské výživě předběhl vývoj předpisů, které kontrolují jakost a uvádějí požadavky na nové zdroje bílkovin. V ČSSR se na vypracování těchto předpisů systematicky nepracuje, ale bude možné převzít doporučení, která vydala Poradní skupina OSN pro bílkoviny Protein Advisory Group — PAG. Krmné etanolové kvasnice vyráběné v ČSSR se svým složením podobají výrobkům TORUTEIN americké společnosti AMOCO, které jsou určeny a v USA povoleny k potravinářskému použití. Je pravděpodobné, že po určitých úpravách krmných etanolových kvasnic, např. po snížení obsahu nukleových kyselin a po určitých změnách technologického postupu bylo možné při výrobě krmných bílkovin získávat současně výrobek, který by se uplatnil v potravinářství.

Штрос, Ф. — Рут, М.: Перспективы использования в пищевой промышленности дрожжей, разводимых в жидкой среде синтетического этилового спирта. Квас. прум., **24**, 1978, № 2, стр. 41—44.

Прогресс в области производства микробных белковых веществ и их использования в пищевой промышленности намного опередил темпы разработки стандартов и условий формулирующих требования, предъявляемые с точки зрения здравоохранения к новым источником протеинов. В Чехословакии компетентные органы этими вопросами пока систематически не занимались, так как предусматривается возможность принять рекомендации Советской группы по протеинам ООН. Состав кормовых дрожжей, разводимых в Чехословакии в среде синтетического этанола сходен до значительной степени с составом продукта ТОРУТЕИН, вырабатываемого американской фирмой АМОКО. В США этот продукт был уже одобрен для применения в пищевой промышленности. Можно вполне обоснованно предполагать, что после определенного изменения состава чехословацких кормовых дрожжей (напр. путем снижения содержания нуклеиновых кислот) и усовершенствования производственной технологии будет возможно одновременно с кормовыми белками получать также продукт, удовлетворяющий требования пищевой промышленности.

Štros, F. - Rut, M.: Utilization in Food Industry of Yeast Cultivated in Synthetic Ethanol Medium. Kvas. prům., **24**, 1978, No. 2, pp. 41—44.

Industrial production of microbial proteins and their utilization in food products is now making rapid progress and development in these spheres is faster than the elaboration of regulations and standards specifying the requirements put to the quality and properties of new sources of proteins. In Czechoslovakia no systematic attention has been so far paid to the problem and to standards are being prepared. Apparently it would be expedient to accept recommendations prepared by the Protein Advisory Group (PAG) of United Nations Organization. The composition of ethanol feed yeast produced in Czechoslovakia is similar to that of TORUTEIN — a product manufactured in USA by AMOCO Corporation. This product has been officially approved for usage in food industry. It can be reasonably expected, that by changing slightly the composition of feed yeast (e. g. by reducing the percentage of nucleic acids) and by adjusting the processing technology it will be pos-

sible to produce simultaneously with feed yeast also protein suitable for food products.

Štros, F. - Rut, M.: Möglichkeiten der Ausnützung der auf synthetischen Äthanol kultivierten Hefen in der menschlichen Ernährung. Kvas. prům. 24, 1978, No. 2, S. 41—44.

Die schnelle Entwicklung der Erkenntnisse über die Produktion mikrobialer Eiweißstoffe und ihre direkte Anwendung in der menschlichen Ernährung verzeichnete einen Vorsprung vor der Entwicklung der Normen, die die Qualität kontrollieren und die Anforderungen an die neuen Eiweißquellen festsetzen. In der ČSSR werden diese Vorschriften nicht systematisch bearbeitet; es

wird jedoch möglich sein, die Empfehlungen zu übernehmen, die von der Beratungsgruppe der UNO für Eiweißstoffe — Protein Advisory Group (PAG) — herausgegeben wurden. Die Futter-Äthanolhefen, die in der ČSSR hergestellt werden, sind in ihrer Zusammensetzung den Erzeugnissen TORUTEIN der amerikanischen Gesellschaft AMOCO ähnlich, die für Lebensmittelzwecke bestimmt und in den USA genehmigt sind. Es kann vorausgesetzt werden, daß es nach bestimmter Aufbereitung der Futter-Äthanolhefen (z. B. nach der Herabsetzung des Gehalts an Nukleinsäuren) und nach bestimmten Änderungen des technologischen Prozesses möglich wäre, bei der Produktion von Futtereiweiß zugleich ein in der Lebensmittelindustrie anwendbares Erzeugnis zu gewinnen.