

## Aktivované pivovarské kvasnice

J. RENTZ

663.12 : 621.384.4

*V článku jsou shrnuty poznatky o aktivování odpadních pivovarských kvasnic pro krmné účely. Autor seznamuje s ugrobní metodou.*

V roce 1951 byl zdůrazněn požadavek zkvalitnění krmiv a potřeba vitamínu D jako důležitého růstového faktoru pro živočišnou produkci našeho zemědělství. Veškerý vitamin D pro potřebu výroby krmiv byl dovážěn z ciziny a proto bylo navrženo použít domácí surovinu, sušené pivovarské kvasnice, pro získání dostatečného množství vitamínu D. V Branickém pivovaru bylo sestaveno nejdříve poloproduční a potom průmyslové výrobní zařízení pro aktivaci kvasnic a vitamínu D.

Vitamin D (calciferol) je jedním ze základních, životně důležitých vitaminů. Reguluje metabolismus vápníku a fosforu v živém organismu a ovlivňuje vzrůst živočichů. Následek nedostatku vitamínu D v těle se projevuje u mladých organismů zastavením růstu a v dalším stadiu jako rachitis, deformace a špatný vývin kostry a chrupu, jako osteomalacie, měknutí a lámavost kostí, degenerace a kažení chrupu a degenerace meziobratlových plotének a chrupavek.

Kvasnice samy neobsahují vitamin D, pouze jeho provitamin ergosterol, který teprve vlivem ultrafialového záření se přeměňuje na vitamin D. Prvním lékem proti rachitis byl původně rybí tuk, kterému se dříve připisovaly vlastnosti prostředku všeobecně posilujícího tělesné síly. Teprve po světové válce podařilo se dokázat, že v rybím tuku je obsažena specificky účinná látka, která léčí rachitis a jejíž nedostatek v obvyklé potravě rachitis vyvolává.

V roce 1919 prokázal Huldschinsky (1), že některé potraviny po ozáření ultrafialovými paprsky mají protirachitický účinek. Tento poznatek rozšířil Hess (2) a Steenbock (3), kteří našli, že při ozáření lidské pokožky ultrafialovými paprsky se rovněž tvoří vitamin D. Tento zjev se vysvětloval tím, že v potravinách a v pokožce je obsažena látka, která ozářením se přemění v účinný vitamin D.

Newton, Kugelmass a Mc Quarrie (4) objevili, že celá řada antirachiticky působících látek, jako rybí tuk, jeho nezmýdelnitelná frakce, vaječný žloutek, žluč atd., za použití křemenného skla jako clony, působí na fotografické desky. Jestliže se užilo clony z obyčejného skla, desky nečernaly. Látky, které nemají antirachitických vlastností, vůbec na fotografické desky nepůsobí. Pokusy ukázaly, že látky mající antirachitické účinky, vysílají ultrafialové paprsky.

J. Špinka (5) referoval o vlivu světla na syntézu vitamínu v rostlinách a poukázal na skutečnost, že původní slabou fotoaktivitu některých látek lze velmi mocně zesílit ozářením ultrafialovými paprsky. Poukázal dále na nápadnou souvislost, že to jsou právě látky obsahující hojně tuky nebo tuky či oleje samotné, které působí antirachiticky.

Pohl (6), Windaus (7) a Rosenheim (8) dokázali, že účinný faktor, provitamin D, je obsažen

v nezmýdelnitelném podílu přirozených tuků a olejů, a že to je ergosterol.

Windaus (9) později objasnil fotochemické reakce vznikající při ozáření ergosterolu ultrafialovými paprsky a podařilo se mu konečně izolovat vitamin D v krystalické formě. Tento vitamin byl označen D<sub>2</sub>, když se ukázalo, že jako vitamin D<sub>1</sub> původně označená látka je molekulární sloučeninou vitamínu D<sub>2</sub> s jiným produktem ozáření, lumisterinem.

Ergosterol není jediným provitaminem D. Později bylo objeveno, že také 7-dehydro-cholesterol je provitaminem D a ozářením ultrafialovými paprsky přechází ve vitamin D<sub>3</sub>, který je identický s antirachitickým faktorem rybiho tuku. Provitamin D<sub>3</sub> se vyskytuje v malém množství i v kvasnicích. Jako další provitaminy D byly zjištěny: 22-dihydro-ergosterol; 7-dehydrosistosterol; 7-dehydrostigmasterol. Všechny tyto látky lze převést působením ultrafialového záření na pravé protirachitické vitaminy, avšak jejich účinnost ve výše uvedeném pořadí velmi ubývá a vitamin D<sub>6</sub> (ze 7-dehydrostigmasterolu) vykazuje již zcela malou účinnost.

Provitaminy D vyskytují se v přírodě častěji než vlastní vitaminy D. V rostlinné říši se vyskytuje především ergosterol. Ve význačnější míře je obsažen v kvasnicích a houbách, také však ve žloutku slepičích vajec, oleji z bavlíkových semen a j. 7-dehydro-cholesterol vyskytuje se vyjma v kvasnicích ve větším množství ve škvarcích z vepřového sádla (10) a v lidské pokožce. 7-dehydrosistosterin vyskytuje se v oleji ze sojových bobů. Další provitaminy D byly připraveny pouze synteticky.

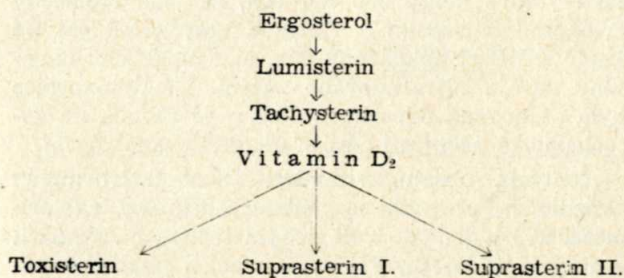
Vitamin D<sub>2</sub> se vyskytuje, i když jen v malých množstvích, všude, kde se vyskytuje ergosterol, neboť z něj vzniká působením ultrafialových paprsků slunečního světla. V rybím tuku z jater tuňáků se vyskytuje ve větším množství.

Vitamin D<sub>3</sub> se vyskytuje ve všech jaterních i tělesných tucích ryb, obzvláště tuňáků. V rostlinné říši byl identifikován jedinečně v tuku z kakaových slupek. Jen v nepatrném množství se vyskytuje vitamin D<sub>3</sub> v mléce, másle a oleji z vaječného žloutku a v zelenině. V zimě však mléko i máslo jsou prakticky zcela bez vitamínu D. Játra hovězího dobytka a vepřů obsahují jen zcela nepatrné množství tohoto vitamínu.

Přeměna ergosterolu ve vitamin D<sub>2</sub> není jednoduchá chemická reakce. Probíhá postupně přes několik meziproduktů a její průběh byl objasněn teprve v nedávné době. A. Windaus (11) a F. A. Askew (12) se zasloužili o to, že se podařilo zvládnout tuto reakci a izolovat meziprodukty. Ozáření ergosterolu bylo prováděno v křemenných nádobách v benzolovém roztoku za nepřístupu vzduchu ultrafialovými paprsky rtuťového hořáku. Účinné paprsky jsou pouze ty, které jsou ergosterolem absorbovány. Jsou to ultrafialové paprsky v rozsahu 250

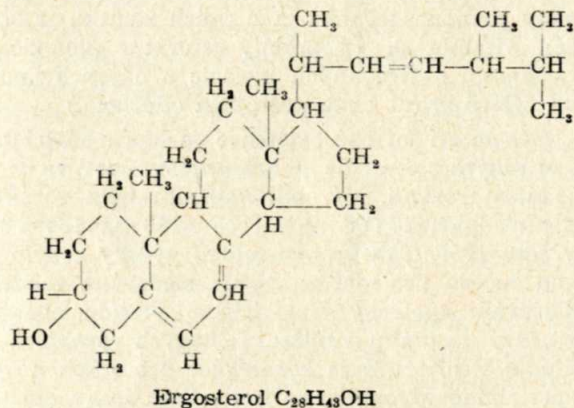


až 300 m $\mu$ . Maximum absorpce je u paprsků o délce vlny 281 m $\mu$ . Reakce probíhá postupně přes řadu meziproduktů, které byly od sebe odlišeny podle svých absorpčních spekter.

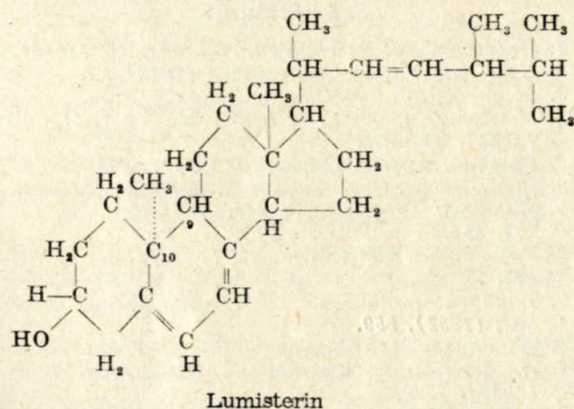


Při nadměrné dávce záření reakce pokračuje a z vitaminu D<sub>2</sub> vznikají látky, které nejen postrádají protirachitický účinek, ale ještě k tomu jsou jedovaté.

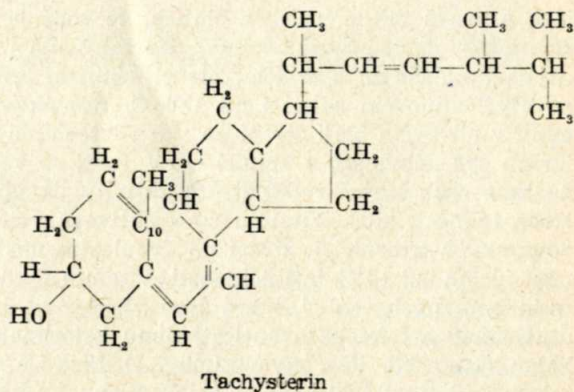
Stavba molekuly ergosterolu je komplikovaná a je založena na podkladu skeletu cyklopentanophenantrenu.



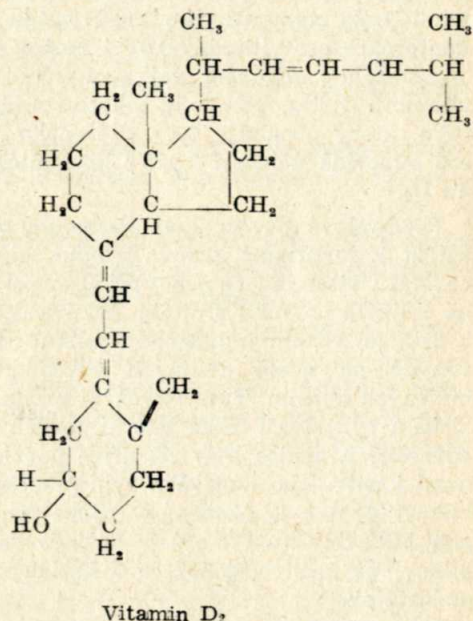
První meziprodukt výše uvedené postupné reakce lumisterin odlišuje se od ergosterolu sterickým přemýknutím methylové skupiny na uhlíkovém atomu 10. Tím je také podmíněna optická aktivita lumisterinu, který ve srovnání s ergosterolem je silně pravotočivý. Lumisterin nemá protirachistický účinek.



Při dalším ožáření nastává otevření středního benzenového jádra v kruhové stavbě molekuly mezi uhlíkovými atomy 9 a 10. Tím vzniká tachysterin, který je levotočivý, podléhá velmi snadno oxydaci vzdušným kyslíkem a nemá rovněž protirachitický účinek.



Z tachysterinu vzniká konečně přesunem jedné dvojné vazby pravotočivý vitamin D<sub>2</sub>.



Vitamin D<sub>2</sub> vykazuje velmi silnou protirachitickou aktivitu, avšak další látky, které z něho vznikají při přezáření, Toxisterin a Suprasteriny I a II jsou vesměs rovněž protirachiticky neúčinné. Toxisterin je velmi jedovatý a suprasteriny jsou méně jedovaté. Chemické složení jejich molekul nebylo dosud přesně určeno. V průběhu ozařování nedochází k chemické rovnováze a postupná reakce probíhá jednosměrně podle výše uvedeného schématu. Je možné, že jednotlivé přechody u meziproduktů probíhají skokem. Z reakční směsi je možno odstranit neproměněný ergosterol vysrážením digitoninem. Tachysterin lze oddělit jako adiční produkt anhydridu kyseliny citrkonové. Vitamin D<sub>2</sub> v čisté formě je možno připravit přes ester kyseliny 3,5-dinitrobenzoové. S výjimkou toxisterinu podařilo se izolovat všechny členy uvedené reakční řady v krystalické formě.

Vitamin D<sub>2</sub> tvoří jehličkovité krystaly bez barvy a bez zápachu, které tají při 114,5–117 °C. Je pravotočivý ( $\alpha$ <sub>D</sub><sup>20</sup> = +102° v alkoholu) : +52° v chloroformu : +82,6° v acetonu. Absorpční maximum v ultrafialovém světle leží při 265 m $\mu$ . Je dobře rozpustný v obyklých organických rozpustid-



lech a právě tak v tucích a olejích, ve vodě je nerozpustný. Je relativně odolný proti zahřátí a proti oxydaci vzdušným kyslíkem. Ztrácí účinnost teprve po čtyřhodinovém zahřátí na 180 °C. Roztok vitamínu v olivovém oleji ztrácí po třech letech asi polovinu své účinnosti, v emulsi O : V (olej ve vodě) nastane však stejně velká ztráta aktivity již asi po třech týdnech (13). Vitamin D<sub>2</sub> v aktivovaných pivovarských kvasnicích ztrácí po dvouletém uskladnění jenom asi 10 % své účinnosti. Vitamin D<sub>2</sub> dává řadu barevných reakcí, které jsou vhodné ke kvalitativnímu a také ke kvantitativnímu kolorimetrickému stanovení. Všechny vitaminy D dávají s roztokem antimontrichloridu v chloroformu oranžově žluté zabarvení, které vykazuje absorpční pruhy při 500 mμ. H. Brockmann a Y. C. Chen (14) opracovali analytickou metodu k spektrofotometrickému a kolorimetrickému kvantitativnímu stanovení vitamínu D. Za standard vitamínu D určila mezinárodní konference pro vitaminy 0,01 % roztok ozařovaného ergosterolu v olivovém oleji a za jednotku účinnosti vitamínu D stanovila 1 mg tohoto standardního roztoku, který obsahuje 0,1 γ ozařovaného ergosterolu, což odpovídá účinnosti 0,025 γ krystalického vitamínu D<sub>2</sub>.

Průmyslové výroby krmiv nemohou prakticky používat k fortifikaci krmiva rybího tuku jako koncentráty vitamínu D, neboť při absorpci rybího tuku na velkém povrchu zrnitého krmiva dochází rychle k oxydaci vlivem vzdušného kyslíku a k tvorbě peroxidů na místě dvojných vazeb nenasycených mastných kyselin. Tyto oxydační produkty jsou toxické a vyvolávají těžké jaterní poruchy. Sušené pivovarské kvasnice byly již dříve používány výrobními krmiv jako náhražka rybí moučky (živočišné bílkoviny) a byly oceňovány pouze pro vysoký obsah bílkoviny (asi 50 % v sušině) jako vydatné bílkovinné krmivo, jehož je v našich zemích stálý nedostatek.

Při volbě výrobní metody vyšlo se proto ze základního požadavku, aby při zpracování pivovarských odpadních kvasnic na koncentrát vitamínu D nebyly znehodnoceny ostatní důležité nutriční hodnoty kvasnic, hlavně bílkoviny a vitaminy B-komplexu. Z toho důvodu nebyla použita klasická metoda výroby vitamínu D, kterou vypracoval Windaus (16). Podle této metody připraví se nejprve koncentrát ergosterolu, který potom v benzenovém roztoku se ozařuje ultrafialovými paprsky a vzniklý vitamin D<sub>2</sub> se oddělí od neproměnného ergosterolu srážením digitoninem. Při izolaci ergosterolu podle tohoto výrobního postupu se totiž zničí celý kvasničný substrát včetně všech biogenních faktorů. Byla tedy použita jiná metoda, při níž sice není zcela využit všechny obsažený ergosterol, která však vyhovuje výrobním krmiv a požadavkům živočišné produkce. Podle této výrobní metody bude v letošním roce zpracováno v Bránickém pivovaru 130 000 kg sušených odpadních pivovarských kvasnic na koncentrát vitamínu D s obsahem 1000 mezinárodních jednotek vitamínu D v 1 g kvasnic. Tato výrobní metoda spočívá v tom, že sušené pivovarské kvasnice se nejprve standardisují na maximální obsah vláhy 6,5 %, případné výchylky pH se korigují, kvasnice se rozemílají, desintegrují a ho-

mogenisují na velmi jemný prášek, který projde sítím o počtu 1300 otvorů v 1 čtverečním centimetru. Takto připravené kvasnice podrobí se účinku ultrafialového záření s maximem intenzity v oblasti vlnové délky 280 mμ tím, že jsou nanášeny zvláštním zařízením v tloušťce vrstvy 0,2 mm na gumový běžící nekonečný pás, nad nímž jsou umístěny zdroje ultrafialového záření. Délka expozice byla stanovena experimentálně a je závislá na fotochemické účinnosti zdrojů ultrafialového záření.

Kontrola obsahu vitamínu D<sub>2</sub> v aktivovaných kvasnicích provádí se jednak chemicky (kolorimetricky) a jednak biologickým testem na kryších a jiných zvířatech. Při srovnávacích pokusech káčata, která dostávala přídavek 1 % aktivovaných kvasnic ke své denní dietě, za stejných pokusných podmínek vykázala o 12,5 % větší přírůstek na váze, a kuřata o 15 % větší přírůstek na váze než skupiny kontrolní. Krávy příkrmované aktivovanými kvasnicemi dojí mléko s vitaminem D. Slepice, které dostávají k potravě přídavek 1 % aktivovaných kvasnic, snášejí více vajec, která jsou větší a mají vždy pevnou skořápku, a v jejich žloutku je obsažen vitamin D. (Podrobný referát o biologickém hodnocení aktivovaných kvasnic a o jejich použití ve výživě zvířat bude uveřejněn odděleně.)

Během tří let své existence je biochemický provoz aktivace kvasnic v Bránickém pivovaru v neustálém rozvoji. Výrobní kapacita byla rozšířena z původních 12 000 kg v roce 1952 na 130 000 kg v roce 1955. Také v technologii výroby nebylo dosud řečeno poslední slovo. Je sledována tendence snižování spotřeby elektrického proudu, spotřeby rtuťových hořáků a snížení celkových výrobních nákladů. V přípravě je konstrukce prototypu nového speciálního výrobního zařízení. Celá dosavadní produkce je dodávána pouze výrobním krmiv, neboť dosavadní technologie zpracování kvasnic není na takové výši, aby mohlo být uvažováno o výrobě aktivovaných kvasnic pro farmaceutické účely.

Produkcí koncentráty vitamínu D z odpadních pivovarských kvasnic přispívá pivovarský průmysl k zvýšení živočišné produkce našeho zemědělství.

#### Literatura:

1. Huldshinsky: *Dtsch. Med. Wchschr.*, 45, (1919), 712.
2. Hess A. F.: *J. biol. Chem.*, 50, (1922), 77.
3. Steenbock: *J. biol. Chem.*, 61, (1925), 405.
4. Newton, Kugelmass a Irvine Mc Quarrie: *Science*, (1924), 272—74.
5. Špinka J.: *Chemické listy*, (1926), 420.
6. Pohl: *Nachr. Ges. Wissensch. Göttingen* (1926), 185.
7. Windaus: *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 24, (1927), 171, 461.
8. Rosenheim: *Biochem. J.* 20, (1926), 537, 21 (1927), 127.
9. Windaus: *Annal.* 489, (1931), 252, 492, (1932), 226, 493, (1932), 259.
10. Windaus a Bock: *Z. physiol. Chemie* 245, (1937), 168.
11. Windaus A. a Löttringhaus A.: *Dtsch. Med. Wchschr.*, (1932), 1669.
12. Askew F. A.: *Proc. Roy. Soc. London* 107, (1930), 76, 108, (1931), 340, 109, (1932), 488.
13. Shelling: *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 35, (1936), 660.
14. Brockmann A. a Chen Y. C.: *Z. physiol. Chemie* 241, (1936), 129.
15. Windaus A., Lettré H. a Schenk: *Annal.* 520, (1935), 98.
16. Windaus A.: *Z. physiol. Chemie* 124, (1933), 8.