

Dr. MATÚŠ POVAŽAJ, Výskumný ústav liehovarov a konzervární, Bratislava

Doc. Ing. DUŠAN HALAMA, CSc., Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Bratislava

Celosvetový deficit surovín, energie a bielkovín vyžaduje hľadať nové-nekonvenčné prístupy v riešení tohto závažného problému. V posledných rokoch dochádza i k neustálemu zhoršovaniu stavu surovinovej základne pre fermentačný priemysel. Pre výrobu je k dispozícii len limitované množstvo sacharidických surovín - melasa, škrobnaté produkty, s každoročnou zhoršujúcou sa kvalitou, čo nedovoľuje zvýšenie produkcie biomasy, ale i ostatných fermentačných výrob. Jedinou možnosťou zostáva vytvorenie novej surovinovej základne, s dlhodobou platnosťou spotreby a kvality, ekonomicky rentabilnej a nezávislej na dovoze. V prvom rade treba dôkladne využiť všetky domáce odpadové suroviny, veď iba celoročný odpad idúci do riek obsahuje vyše 100 000 ton sacharidov, čo teoreticky postačuje na výrobu až 40 000 ton sušených kŕmnych bielkovín. V druhom rade sa jedná o atraktívne petrochemické suroviny (n-alkány, syntetický etanol a metanol), kde však treba zvážiť ich dostupnosť, cenu a závislosť na trvalom dovoze ropnej suroviny. Veľmi perspektívne sa ukazuje možnosť získavania sacharidickej suroviny hydrolýzou odpadnej drevnej hmoty (odpadové drevo, kôra, piliny) ako i iných lignocelulózových materiálov, najmä z poľnohospodárskej produkcie (slama). Jedná sa prakticky o nevyčerpatelnú surovinovú bázu, veď pri plánovanej ťažbe dreva v roku 1980 sa predpokladá odpad viac než milión ton kôry a pilín, z poľnohospodárskej výroby, iba na Slovensku činí každoročný odpad niekoľko 100 000 ton slamy [3]. So zvýšením produkcie živočíšnej výroby dostáva sa do popredia i otázka likvidácie živočíšnych exkrementov, najmä prasačích. Nakoľko nie je možné klasicky využiť tento odpad k hnojeniu, narastajú tak problémy so znečistením životného prostredia. Pre všetky menované odpa-

dy je práve hydrolýza jediná forma umožňujúca ich najdokonalejšie využitie ako pre fermentačný, tak i pre krmovinársky priemysel.

V súvislosti s použitím nových surovín vo fermentačnom priemysle a s aplikáciou nových technológií je veľmi dôležitý výber vhodného produkčného mikroorganizmu. V podstate sa jedná najmä o kvasinky, resp. kvasinkovité mikroorganizmy *Saccharomycopsis (Candida) lipolytica* a *Candida utilis*, prípadne i iné nepatogénne druhy z rodu *Candida*. Nakoľko nie je možné z hľadiska ekonomického vytvoriť pri výrobe kŕmneho droždia aseptické prostredie, sú na mieste obavy z možnej kontaminácie fermentačného procesu nielen baktériami, ale i inými, najmä patogénnymi druhmi kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov. Z nich prichádzajú do úvahy (okrem niektorých druhov rodov *Cryptococcus*, *Pityrosporum*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* a *Trichosporon*) v prvom rade obligátne patogénny druh *Candida albicans*, fakultatívne patogénne druhy *C. guilliermondii* a *C. tropicalis*, prípadne *C. krusei*, *C. parapsilopsis*, *C. pseudotropicalis*, *C. slooffii*, *C. stellatoidea*, *C. viswanathii* a *C. zeylanoides* [2].

V praxi doteraz používané substráty nie sú svojim zložením výhodné pre rast patogénnych kvasiniek. Ovšem za zmenených kultivačných podmienok môžu nastať prípady kontaminácie. Na Kube pri výrobe kŕmneho droždia z melasy sa pri vyššej kultivačnej teplote produkčný kmeň *Candida utilis* dosť často silne kontaminuje patogénnym druhom *Candida tropicalis*. Zaujímavým bolo použitie avirulentného kmeňa *Candida guilliermondii* ako producenta biomasy na báze n-alkánov v ZSSR, keďže z veľkého množstva odskúšaných druhov a kmeňov z rodu *Candida* najlepšie utilizoval túto surovinu. Neskôr však

bol ďalší vývoj výroby zastavený pre viaceré výskyty infekcie u pracovníkov v prevádzke. Hydrolyzáty lignocelulózových materiálov môžu byť v niektorých prípadoch pre rast patogénnych druhov kvasiniek veľmi vhodné. V ZSSR nepozorovali na uvedených materiáloch rast patogénnych kvasiniek v dôsledku vysokého obsahu inhibítorov (fural, prchavé kyseliny), na druhej strane bol u nás izolovaný kmeň, determinovaný ako *C. tropicalis*, ktorý v porovnaní s inými druhmi najlepšie rástol na hydrolyzátoch slamy. Vidno, že argumenty týkajúce sa údajného nepriaznivého zloženia týchto substrátov pre rast patogénnych kvasiniek neobstoja, nakoľko mnohé kmene sú schopné rýchlej adaptácie jednak pre daný substrát, jednak k zvýšeným koncentráciám mnohých inhibítorov.

Všeobecne možno povedať, že patogénne kvasinky rastú dobre na takých substrátoch, ktoré obsahujú väčšie množstvo organického dusíka (Sabouraudov agar používaný na kultiváciu patogénnych kvasiniek obsahuje 1 % a viac peptónu), pričom hydrolyzát z prasačích exkrementov obsahuje až 2,5–2,7 % organického dusíka a práve tento materiál býva najčastejšie kontaminovaný patogénnymi kvasinkami, ktoré tu rastú oveľa lepšie ako produkčné nepatogénne kultúry [1]. Patogénne kvasinky vyžadujú zvyčajne alkalické pH prostredia (5,6 až 7,0) než produkčné kmene (3,5–4,5; pH sladiny je 5,5) a vyššiu kultivačnú teplotu (maximálna teplota je až 47 °C). Rozdiely sú i v nárokoch na vitamíny a ostatné rastové faktory, bilanciu kyslíka atď. Preto pri optimalizácii kultivačných podmienok pre produkčné kmene bude nutné ako jedno z kritérií použiť aj overovanie podmienok rastu patogénnych druhov, aby sa čo najviac vylúčilo riziko kontaminácie výroby. Použitím fyzikálno-chemických parametrov, nepriaznivo pôsobiacich na patogénne kvasinky, môže dôjsť k úplnému zastaveniu, resp. zabrzdeniu rastu, čím sa odstráni možnosť ich premoženia. Veľmi perspektívne je v tomto smere štúdium autoselekcie produkčného kmeňa k zvýšeným koncentráciám inhibítorov. Autoselekcia v intenzívnej kultúre poskytuje stále formy schopné konkurencie, ktoré sú veľmi perspektívne z hľadiska priemyselného využitia. Pokusy s adaptáciou prietokovej kultúry umožnili získať za 50 generácií (200 hodín kontinuálneho rastu) kmene, ktoré boli 10–15krát odolnejšie k furálu než východzie kmene [4].

Námietky, že fakultatívne patogénne druhy (*Candida guilliermondii* a *Candida tropicalis*) nepredstavujú riziko a môžu slúžiť ako zdroj krmnej bielkoviny, sú len teoretické a v praxi neobstoja. Je síce pravda, že pri autolýze a sušení sa biomasa inaktivuje, ovšem z ekonomických dôvodov, ako už bolo povedané, nemožno uvažovať o sterilných podmienkach v prevádzke. Je známe, že vzduch unikajúci z fermentoru je vlastne masívnym biologickým aerosolom (obsahuje až 10^3 buniek z použitej kultúry v jednom litri). Tento aspekt by bolo žiadúce akceptovať aj pri použití nepatogénnych druhov, nakoľko sú známe prípady viacerých alergií na ľubovoľný podnet, napríklad na spóry aspergila.

Samotný dôkaz patogenity (virulencie) vyžaduje pomerne dlhý čas a kvalifikovaný personál, nakoľko nie je možné morfológicky odlíšiť patogénne druhy kvasiniek od nepatogénnych. Je známe, že patogénne vlastnosti kvasiniek úzko súvisia s chemickým zložením a celkovou štruktúrou bunkovej steny. Ovšem strata, resp. opätovné nadobudnutie patogenity môžu nastať akoukoľvek zmenou kultivačných podmienok, t. j. ako jedna z možných komponentov, alebo použitie avirulentných kmeňov. Preto použitie mutantov s poruchami biosyntézy stenových komponentov, alebo použitie avirulentných kmeňov, nesie so sebou väčšie-menšie riziko potenciálnej možnosti reverzie. Sérologické odlíšenie virulentných a neviru-

lentných kmeňov nie je možné, nakoľko antigénna štruktúra je u obidvoch typov rovnaká. Spoľahlivé nie je ani použitie špecifických testovacích médií pre patogénne kvasinky, založené na princípe zafarbenia rastúcich kolónií (molybdenový a Pagano-Levinov agar). Väčšinou sa na patogénny druh príde v prevádzke až vtedy, ak sa objavia prípady infekcie. Preto by bolo vhodné navrhnúť priebežné sledovanie stavu produkčnej kultúry bežnými testami na laboratórnych zvieratách (očkovanie suspenzie buniek do ušnej žily kráľíka alebo chvostovej žily myši a sledovanie histologicko-patologických zmien, napríklad na obličkách). To však v podmienkach výroby je viac ako nereálne. Preto je nevyhnutné ešte v laboratórnom štádiu výskumu získať istotu, že navrhovaný kmeň nepatrí medzi potenciálne patogény. Okrem patogénnych vlastností niektorých kvasiniek nie je vylúčená možnosť produkcie rôznych toxických látok. Veď produkcia tzv. mykotoxínov je známa prakticky u všetkých taxonomických skupín húb. Z tohto hľadiska by bolo žiadúce zamerať sa na posúdenie vhodnosti nových kultúr navrhovaných pre výrobu krmných bielkovín i napriek tomu, že doposiaľ nie sú u druhov *Candida* známe údaje o ich produkovaní. Bolo by preto potrebné overovať u nových kmeňov okrem patogénnych vlastností i potenciálnu možnosť produkcie toxických a najmä mutagénnych látok, ktoré by mohli nepriaznivo pôsobiť na zdravotný stav krmných hospodárskych zvierat.

Pri štúdiu odbornej literatúry, pojednávajúcej o možnosti nových technologických postupov pri výrobe krmného droždía, je možné sa stretnúť s veľkým počtom prác, ktoré ako produkčnú kultúru udávajú *Candida* sp., t. j. bez bližšieho druhového určenia. Je veľmi dôležité u každej novo navrhovanej kultúry robiť čo možno najpresnejšiu determináciu a neuvažovať s kmeňmi tých druhov, u ktorých sú známe patogénne varianty.

Na základe uvedených aspektov treba brať pri výrobe krmných bielkovín do úvahy možné riziko kontaminácie patogénnymi a toxigénnymi kmeňmi. Preto treba tieto hľadiská akceptovať už pri primárnom screeningu produkčných kultúr. Domnievame sa, že pri výbere by sa zásadne nemali používať kultúry tých druhov, u ktorých sú známe patogénne vlastnosti.

Literatura

- [1] BARTÁK, R. T. et al.: 9. výročná konferencia o kvasinkách, Smolenice, február 1977
- [2] COMMONER, B.: Hosp. Pract., 11, 1976, č. 6, s. 84.
- [3] FORSTHOFFER, J.: Kvasný průmysl, 22, 1976, č. 7, s. 149
- [4] TERSKOV, I.: Vestnik AN SSSR, 7, 1973, č. 1, s. 61

Považaj, M. - Haľama, D.: Výroba krmného droždía a patogénne kvasinky. Kvas. prům. 23, 1977, č. 8, s. 174–176

Autori upozorňujú na možnosti kontaminácie netradičných fermentačných substrátov (n-alkány, hydrolyzáty lignocelulózových materiálov), navrhovaných pre výrobu kvasničnej biomasy. Ide najmä o viaceré patogénne druhy, predovšetkým z rodu *Candida*. Zaoberajú sa možnými príčinami infekcie porovnaním niektorých dôležitých kultivačných parametrov s nepatogénnymi produkčnými kmeňmi a predkladajú k posúdeniu niektoré návrhy pre riešenie tohto problému.

Поважай, М. — Галяма, Д.: Производство кормовых дрожжей и патогенные дрожжи Квас. прум. 23, 1977, № 8, стр. 174–176

Авторы предупреждают на возможности контаминации нетрадиционных бродильных субстратов (н-алканы, гидролизаты лигноцеллюлозных материалов), предлагаемых для производства дрожжевой биомассы. Дело имеется в первой очереди в более патогенных видах дрожжеобразных микроорганизмов, прежде всего из рода *Candida*. Они занимаются возможными причинами

инфекции сравнением некоторых существенных культивационных параметров с непатогенными продукционными штаммами и предлагают к рассмотрению некоторые предложения для решения этой проблемы.

Považaj, M. - Hařama, D.: Fodder yeast production and pathogenic yeasts. Kvas. prům. 23, 1977, No. 8, pp. 174—176.

The authors show the possible contamination of non-conventional fermentation substrates (n-alkanes, hydrolyzates of lignocellulosic materials), recommended for the production of fodder yeast. Those are mainly certain yeast-like microorganisms of the genus *Candida*. They deal with the possible causes of infection by comparison of some important cultivation parameters with

non-pathogenic production strains and submit several proposals for problem solving.

Považaj, M. - Hařama, D.: Die Futterhefeproduktion und pathogene Hefen. Kvas. prům. 23, 1977, No. 8, s. 174—176.

Die Autoren weisen auf die mögliche Kontamination nichtherkömmlicher Fermentationssubstrate (n-Alkane, Lignozellulosehydrolysate), die zur Produktion von Futterhefe empfohlen werden. Es handelt sich hier hauptsächlich um mehrere hefeartige Mikroorganismen der Gattung *Candida*. Sie befassen sich mit den potentiellen Infektionsursachen mit dem Vergleich einiger bedeutender Kultivierungsparameter mit nichtpathogenen Produktionsstämmen und unterbreiten zur Beurteilung einige Vorschläge zur Lösung dieses Problems.