

Využitie neštandardného chleba pri výrobe fungálnych amyláz

663.579

RNDr. VALTER VOLLEK, Doc. Ing. BOHUMIL ŠKÁRKA, DrSc. Ing. IVANA MAJERÍKOVÁ, Ing. MARGITA ČANIGOVÁ, Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Chemickotechnologickej fakulty SVŠT, Bratislava

Kľúčové slová: mikroorganizmus, *Aspergillus niger*, kultivácia, amyláza, uhlík, zdroj, chlieb, aktivita

ÚVOD

Otázka výroby enzýmov a ich použitia v rôznych odvetviach priemyslu, najmä potravinárskeho, je v poslednom čase veľmi aktuálna. Doteraz sa v potravinárskom priemysle využívajú hlavne hydrolázy, niektoré izomerázy a oxidoreduktázy. Zo skupiny amylolytických enzýmov hlav-

ne fungálne α -amylázy, glucoamylázy a β -amylázy. Ich producentami sú hlavne rôzne kmene rodu *Aspergillus*.

Ako zdroje uhlíka sa pri výrobe enzýmov používajú rôzne monosacharidy až polysacharidy a ich zdroje, napr. glukóza, sacharóza, maltóza, škrob, melasa, sladina, rôzne organické kyseliny a pod. Progresívne sú aj rôzne celulózyvé suroviny a odpadové sacharidové látky [1].

Pri výrobe amyláz sa ako zdroje uhlíka používajú doteraz rôzne druhy škrobu, najčastejšie zemiakový škrob, kukuričný a ryžový škrob, kukuričný šrot, alebo škrob z iných cereálií, prípadne hlúz iných rastlín. Je známe, že enzýmová degradácia prebieha rýchlejšie pri cereálnych škroboch ako pri škroboch z hlúz [2, 3], výnimkou je iba zemiakový škrob, ktorý je degradovaný sedemkrát rýchlejšie ako škrob kukuričný alebo pšeničný [4].

Na našom pracovisku sme na kultiváciu amylázy produkujúceho kmeňa *Aspergillus niger* CCM F 801 použili ako zdroj uhlíka neštandardný chlieb.

MATERIÁL A METÓDY

Použitá kultúra

V pokusoch sme použili nami izolovaný kmeň *Aspergillus niger* IV-123 CCM F 801.

Na kultiváciu produkčnej kultúry sme použili médium nasledovného zloženia: 3,0 g NaNO₃, 0,5 g MgSO₄, 0,5 g KCl, 0,01 g FeSO₄, 1,0 g K₂HPO₄, 0,5 g CaCl₂, 2,5 g melasa, 20,0 g neštandardný chlieb, 1000 ml voda, pH = 6,8–7,0, sterilizácia 20 min pri 120 kPa.

Ako kontrolu sme použili rovnaké médium, ale neštandardný chlieb sme nahradili 20 g kukuričného šrotu.

Neštandardný chlieb

V pokusoch sme ako neštandardný chlieb použili dva druhy chleba: pšenično-ražný chlieb (čierny) a vyrážkový cmarový chlieb (biely). Chlieb sme použili v uvedených množstvách samotný a s prídavkom 2,5 g CSL (corn steep liquor) na 1000 ml média [5].

Inokulum

100 ml kultivačného média v bankách sme očkovali spórovou suspenziou (2 · 10⁶ konidií v ml) produkčného kmeňa *Aspergillus niger* IV-123.

Kultivácia

Produkčný kmeň sme kultivovali v 500 ml bankách so 100 ml média na závesnej rotačnej trepačke (frekvencia otáčania 2 · s⁻¹) pri teplote 28–30 °C v 5 paralelných radoch.

Stanovenie amylolytickej aktivity

Amylolytickú aktivitu sme stanovovali v médiu po 72, 96 a 120 hodinách kultivácie. Aktivitu α -amylázy sme stanovili α -amylázovým Spofa-S-testom v citrát-fosfátovom tlmivom roztoku o pH = 5,25 pri teplote 44 °C. Celková amylolytická aktivita (CAA) sme stanovili rovnako z kultivačného média v citrát-fosfátovom tlmivom roztoku o pH = 5,25 a teplote 44 °C pomocou kyseliny 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoovej.

Z nameraných hodnôt absorpcie (α -amyláza pri 620 nm, CAA pri 540 nm) sme z kalibračnej čiary odčítali aktivitu príslušného enzýmu v nkat · ml⁻¹ kultivačného média.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dosiahnuté výsledky sú zhrnuté v tabuľke 1 a 2 a predstavujú priemer z pätnástich paralelných pokusov. Z výsledkov uvedených v tabuľkách vidno, že neštandardný chlieb je pre produkčný kmeň *Aspergillus niger* CCM F 801 výborným zdrojom uhlíka.

Tabuľka 1. Aktivita α -amylázy

Použitý zdroj C	Dosiadnutá aktivita α -amylázy po kultivácii					
	72 h		96 h		120 h	
	nkat . ml ⁻¹	%	nkat . ml ⁻¹	%	nkat . ml ⁻¹	%
K (kontrola)	99,32	100	97,93	100	96,91	100
Čierny chlieb	89,67	90,3	88,10	89,9	86,98	89,7
Čierny chlieb + + CSL	97,74	98,4	97,0	99,0	96,12	99,2
Biely chlieb	87,36	87,9	88,19	90,0	87,08	89,8
Biely chlieb + + CSL	92,92	93,5	99,46	101,6	94,40	97,4

Tabuľka 2. Celková amylolytická aktivita

Použitý zdroj C	Dosiadnutá CAA po kultivácii					
	72 h		96 h		120 h	
	nkat . ml ⁻¹	%	nkat . ml ⁻¹	%	nkat . ml ⁻¹	%
K (kontrola)	388,76	100	446,80	100	364,84	100
Čierny chlieb	379,19	97,5	379,51	84,9	294,18	80,6
Čierny chlieb + + CSL	299,94	77,1	391,63	87,6	328,87	90,1
Biely chlieb	349,24	89,8	392,27	87,8	365,48	100,2
Biely chlieb + + CSL	394,89	101,5	425,28	95,2	340,61	94,8

CSL — corn steep liquor

Aktivita α -amylázy dosahuje pri použití čierneho chleba s prídavkom CSL 2,5 g · l⁻¹ ako zdroja rastových faktorov takmer rovnakých hodnôt ako v kontrole, a to tak na tretí ako aj na štvrtý deň kultivácie (98–99 %). Pri použití bieleného chleba sú výsledky tiež skoro rovnaké (93–101 %). CAA na štvrtý deň kultivácie, kedy je aktivita najvyššia, dosahuje 88–95 % kontroly. Dajú sa teda používať všetky druhy chleba ako zmes pri dosiahnutí rovnakých výsledkov.

Starý, prípadne neštandardný chlieb sa používa väčšinou buď na priame skrmovanie alebo ako zložka kŕmnych zmesí pre hydinu, prípadne ošípané. Použitím na výrobu fungálnych amyláz, použiteľných v potravinárskom priemysle, dôjde k jeho lepšiemu zhodnoteniu.

Literatúra

- DĚDEK, M., BENEŠOVÁ, L., ŠMEJKALOVÁ, Z.: Mikroorganizmy a čisté kultúry v průmyslu potravin. 1. vyd. Praha 1984.
- KOSARIK, N. et al.: Ethanol fermentation. In: Biotechnology, Weinheim 1983, s. 257.
- UEDA, S.: Trends Biochem Sci., 6, 1981, s. 89.
- VEDRINA, I., MIMOROVIC-CULJAT, J., BALINT, L.: Hrana Ishrana. 24, 1983, s. 55.
- VOLLEK, V., KOČALKOVÁ, I., ŠKÁRKA, B.: Vplyv tenzidov a substrátu na produkciu celulózy hubou *T. viride* HV-4. Bull. VÚP Bratislava, 22, 1983, s. 57–64.

Lektoroval dr. František Směkal, CSc.

Vollek, V. - Škárka, B. - Majeriková, I. - Čanigová, M.: Využitie neštandardného chleba pri výrobe fungálnych amyláz. Kvas. prům. 34, 1988, č. 3, s. 71–73.

Skúmala sa možnosť využiť neštandardný chlieb ako zdroj uhlíka pri kultivácii húb, produkujúcich amylázy. Sledovala sa aktivita α -amylázy a celková amylolytická aktivita *Aspergillus niger* IV-123, CCM F 801, izolovanom na našom pracovisku. Zistili sme, že tak čierny ako aj biely chlieb s prídavkom CSL je vhodný ako zdroj uhlíka a aktivita produkovaných amylolytických enzýmov je prakticky rovnaká ako pri kultivácii v kontrolnej kultivačnej pôde.

Воллек, В. — Шкарка, Б. — Майерикова, И. — Чанигова, М.: Использование нестандартного хлеба при производстве фунгальных амилаз. Квас. прум. 34, 1988, № 3, стр. 71–73.

Исследовалась возможность использовать нестандартный хлеб в качестве источника углерода при культивировании грибов, производящих амилазы. Изучалась активность α -амилазы и суммарная амилолитическая активность штамма *Aspergillus niger* IV-123, CCM F 801, изолированного в нашем учреждении. Было установлено, что как черный, так и белый хлеб с добавкой CSL подходит как источник углерода, и активность производящихся амилолитических ферментов практически та же, как при культивировании в контрольной культуральной среде.

Vollek, V. - Škárka, B. - Majeriková, I. - Čanigová, M.: Utilization of Non-Standard Bread for Amylase Production by Fungi. Kvas. prům. 34, 1988, No. 3, pp. 71–73.

The possibility of the use of unstandard bread as a sole carbon source for amylases production by *Aspergillus niger* IV-123 was examined. The activity of α -amylase and total amylolytic activity were measured. We found that

brown and white bread with the supplement of corn-steep liquor ($2,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) is a suitable carbon source, because the amylases activity is practically the same as in control.

Vollek, V. - Škárka, B. - Majeríková, I. - Čanigová, M.: Ausnützung von nicht-standardem Brot bei der Produktion fungaler Amylasen. Kvas. prům., **34**, 1988, Nr. 3, S. 71—73.

Es wurden die Möglichkeiten untersucht, nichtstandar-

des Brot als Kohlenstoffquelle bei der Kultivation Amylase-produzierender Pilze auszunützen. Es wurde die Aktivität der α -Amylase und die amylolytische Gesamtaktivität von *Aspergillus niger* IV-123, CCM F 801 verfolgt. Es wurde festgestellt, dass Schwarzbrot sowie auch Weißbrot mit CSL-Zugabe als Kohlenstoffquelle geeignet ist, wobei die Aktivität der produzierten amylolytischen Enzyme praktisch gleichwertig wie bei der Kultivation auf dem Kontroll-Kultivationsboden war.