POTENCIÁLVÁLTOZÁS VIZSGÁLATA CITROMSAV-TERMELÉSNÉL FELÜLETI- ÉS MÉLYKULTÚRÁKBAN

MATKOVICS BÉLA és KOVÁCS ENDRE

A potenciálváltozást táptalajban beépített elektródokkal már számos szerző vizsgálta. Ezek közül elsősorban LJUBIMOVot kell megemlíteni [5], aki az ecetsav-baktérium tenyészetek rH-vizsgálatát végezte el. Már az első munkák megállapítják, hogy a baktériumtenyészetbe helyezett elektróda a tenyészet fejlődése alatt negatívabb töltést kap, mint a steril táptalajban levő. KUZNYECOV viszont [3] azt figyelte meg, hogy kapcsolat áll fenn a közeg redox-potenciálja és az Aspergillus niger anyagcseréje között. Ez a gomba a glukozból redoxpotenciáltól függően citromsavat, szénsavat, oxálsavat, glukonsavat, vagy alkoholt termel. A glukozból akkor keletkezik citromsav az említett vizsgálatok szerint, ha az rH 15,5-nél alacsonyabb. Más szovjet szerzők is beszámolnak hasonló eredményekről [2, 4, 7].

Kísérleteink célja ebben az esetben az volt, hogy a felületi- és mélykultúrában történő nagy citromsavtermelési különbséget az előbb említett módszerekkel — tehát a táptalaj redoxpotenciál mérésével — azonos táptalajon megvizsgáljuk és a nyert értékekből valamilyen összefüggést keressünk a redoxpotenciál és a citromsavtermelés között.

Metodika

Vizsgálatainknál az *Aspergillus niger* esetében jól bevált és a citromsav termelésére alkalmas táptalajt használtunk [1].

glukoz	130 g	KH_2PO_4	1 g
NH_4NO_3	2 g	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2 g

1000 ml kétszer desztillált vízben oldottuk fel az anyagokat és a pH-t 1 *N* kénsavval pH 2-re állítottuk.

A ferde-agar táptalajon tenyésztett *Aspergillus niger* törzseket kb. 5 ml steril fiziológiás NaCl-oldattal lemostuk és ezt használtuk a lombiktenyészetek beoltására. Az *Aspergillus niger*-t a fent megadott táptalajon 1 literes Erlenmeyer-lombikban felületi és rázott tenyészetekben 25 C°-on vizsgáltuk. A

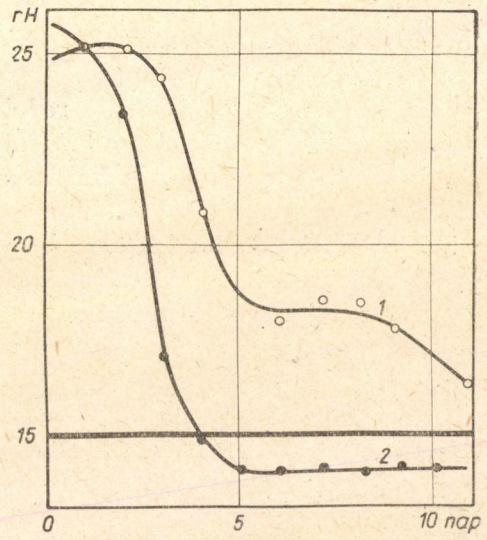
lombikban 200—200 ml táptalajt tettünk. A sterilizálást 105 C°-on 10 percig végeztük. A lombikokba mintavevő, platinaelektród és normál kalomelelektród befogadására alkalmas üvegcső volt beépítve [6]. Platinaelektródként tűelektródot használtunk, amit beépítés előtt 24 óráig krómkénsavban tartottunk, majd ezt követően 24 óráig desztillált vízbe helyeztünk. Beépítés után a lombikkal és táptalajjal együtt sterilizáltuk. A telített kalomelelektródot bot alakúra képezve, méréskor az agar-agar tartalmú üvegcső helyeztük, a káliumkloridos agar-agar cső révén az összehasonlító elektród elektromos kapcsolatba lép a táptalajjal. A Pt elektród és a KCl-os agar-agar cső a mintavevővel együtt a felületi *Aspergillus* hártya alatt helyezkedett el. A telített kalomelelektródot viszont csak méréskor helyeztük el az üvegcsőbe, egyébként állandóan telített KCl-ban állt. Mintát minden harmadik nap vettünk és ilyenkor 0,1 n NaOH fogyáson kívül a táptalaj redukálóanyag tartalmát is megvizsgáltuk a módosított Schoorl [8] eljárással. Az előbb ismertetett rendszer alkalmasnak bizonyult a táptalaj potenciálváltozásának vizsgálatára és mintavétel alkalmával történő pH meghatározása révén az rH értékek kiszámítására is. Szárazanyag tartalmat felületi tenyészetnél úgy határoztunk meg, hogy nedvesen lemértük az egész felületi tenyészetet, vagy a dugófúró sorozat legnagyobb átmérőjű tagjával 10—10 db egyforma részt vágtunk ki a tenyészetből, majd azt óraüvegen 60°-on súlyállandóra szárítottuk és a két súly különbségéből kiszámítottuk a szárazanyag tartalmat.

Eredmények megbeszélése

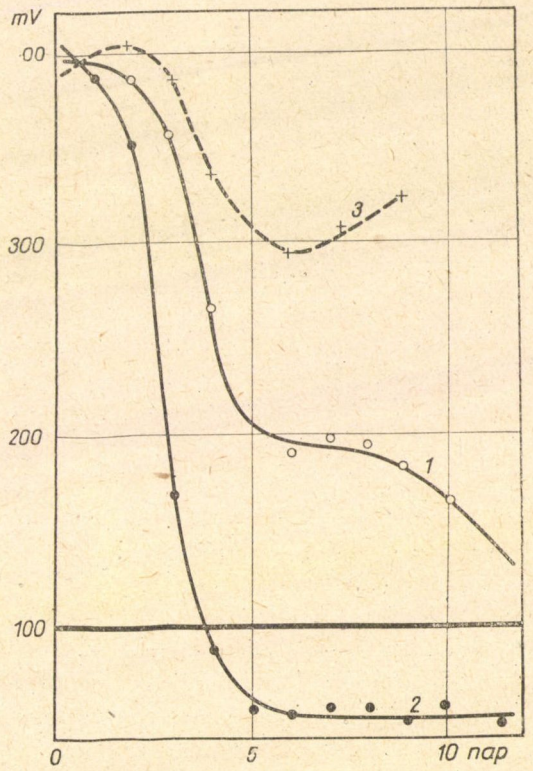
Masszív beoltás után az *Aspergillus niger* tenyészetek fejlődése különböző ütemű volt. Ez a potenciálértékek változásában is észlelhető különbséget okozott. A táptalajok egy részében a felületi gombaréteg kifejlődése igen gyors (1. ábra 1, görbe) és már a harmadik, negyedik napon spórázni kezd, ami a potenciálérték nagymértékű csökkenését eredményezi. Más *Aspergillus* tenyészete lassan kifejlődő vékony ráncos hártyát alkot és csak néhány nap múlva kezd spórázni. Az 1. ábrán jól látható, hogy a spórázó törzs táptalajával szemben a nem spórázó táptalajában a potenciálértéke lényegesen alacsonyabb (1. ábra 2. görbe).

A pH értékek 1,6—2 közötti változásának figyelembevételével és az rH értékek kiszámításával a görbék lefutásában lényeges változás nem tapasztalható (2. ábra).

Intenzív citromsavtermelés a lassan fejlődő, vékony hártyát adó törzsnél észlelhető. A sav tartalmának növekedését a kivett minta 10 ml-ének 0,1 n NaOH-val történő titrálással állapítottuk meg és ennek eredményeit a 3. ábrán foglaltuk össze. A citromsavat kalciumkloriddal Ca-citrát formájában több alkalommal leválasztottuk a jó termelő tenyészeteknél. Azon tenyé-



1. ábra

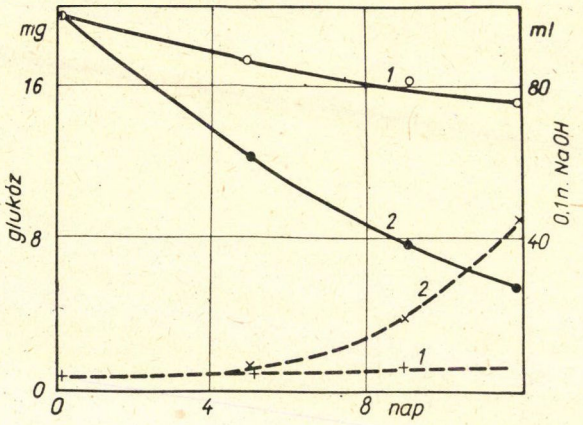


2. ábra

szetek esetében, ahol a micéliumréteg lassan fejlődött ki és a spórázás későn következett be, a citromsav Ca-citrát formájában mindig kipreparálható volt.

A savtartalom meghatározásával egyidőben a redukálóanyag tartalom változását is vizsgáltuk. A kapott eredményeket a 3. ábrán kihúzott vonallal jelöljük. Úgy találtuk, hogy a redukálóanyag tartalom a kezdeti csökkenés után emelkedik és elérése után gyorsan csökken.

Kísérleteinket a 17. napon fejeztük be. A felületi tenyészetek micéliumait 24 óráig 60 C°-on súlyállandóságig beszárítottuk és lemértük. Azt tapasztaltuk, hogy addig, amíg a citromsavat jól termelő törzsek micéliumsúlya nagyobb, a korán spórázó, citromsavat nem termelő törzsek micéliumsúlya kisebb. A különbség átlag: 0,89 g.



3. ábra

A továbbiakban megvizsgáltuk több mélykultúra potenciálértékének, valamint redukálóanyag- és savtartalmának a változását is. (1. ábra 3. görbe). Összehasonlítva a kapott eredményeket, azt találtuk, hogy a felületi tenyészeteknél észlelt redoxváltozások nem lelhetők meg a mélykultúrák esetében és a kapott eredmények lényegesen eltérnek egymástól, a használt törzs és táptalaj azonossága ellenére. Ez arra utal, hogy gyökeres eltérés van anyagcsere szempontból a felületi és rázott tenyészetek között.

Összefoglalva az eredményeket megállapítottuk, hogy a felületi tenyészetek rH-ja jó citromsavtermelés esetében 10—15 rH-értéket mutat. Ezen érték felett a tenyészetek gyors kifejlődése és spórázása észlelhető, de citromsavtermelés nem mutatható ki. Ugyancsak nem tapasztaltunk citromsavtermelést abban az esetben sem, amikor felületi kultúra helyett mélykultúrát tenyésztettünk ugyanazon a táptalajon.

IRODALOM

1. V. M. FJODOROV: „Mikrobiológia" (1951.) Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
2. E. S. KANEL: „Oxydations-reductions-potential in Bacterienkulturen" Mikrobiológia, *10*, 595—620 (1941); Ch. Ztbl. 2912 (1942).
3. S. J. KUZNETZOV: „The dependence of oxidizing fermentations upon the oxidation-reduction potential of the external medium" Ztbl. Bakt. Parasitenk., 2 Abt. *83*, 37—52 (1931); C. A., *25*, 1851 (1931).
4. S. J. KUZNETZOV: „The oxidation-reduction potential in biology" Trans. Sci. Inst. Fertilizers (USSR) *No. 108*, 93—110 (1935); C. A., *29*, 1443 (1939).
5. V. I. LJUBIMOV: Mikrobiologija *9*, 53—59 (1950).
6. B. MATKOVICS, and E. KOVÁCS: „A simple method for rH measuring in microbiological processes" Schw. Z. Path. Bakteriol. *21*, 666—669 (1958).
7. MATKOVICS, und KOVÁCS: „Untersuchung der Zitronensäure-produktion und Potential-Veränderung in Oberflächen- und Tiefkulturen" Naturwiss., *44*, 447 (1957).