

Optimalizácia niektorých parametrov citrónovej fermentácie kvasinkou *Candida lipolytica* 106 na *n*-alkánoch

BOHUMIL ŠKÁRKA — LIANA UJHELYIOVÁ

Súhrn. Kvasinka *Candida lipolytica* 106 na pôde s *n*-alkánmi ako jediným zdrojom uhlíka produkuje kyselinu citrónovú a izocitrónovú. Optimalizáciou teploty, pH, zdroja dusíka a koncentrácie *n*-alkánov možno produkciu týchto kyselín zvýšiť. Najvyššia produkcia oboch kyselín 80—85 g.l⁻¹ sa dosiahne pri použití NH₄NO₃ ako zdroja dusíka, pri pH 5,5, 28—32 °C a pri koncentrácii *n*-alkánov 8—10 %.

Produkcia kyseliny citrónovej fermentáciou *n*-alkánov kvasinkami je predmetom mnohých prác [1—11], pričom niektoré z nich boli podkladom pre priemyselnú výrobu. Úspešnosť fermentácie ako v každom inom prípade závisí od niekoľkých parametrov, z ktorých medzi základné patrí teplota, pH, druh a koncentrácia živín.

Kvasinka *Candida lipolytica* 106 patrí k perspektívnym producentom kyseliny citrónovej. Na *n*-alkánovej pôde produkuje zmes kyseliny citrónovej a izocitrónovej. Optimalizácia parametrov jej kultivácie na *n*-alkánoch môže prispieť k upresneniu podmienok maximálnej produkcie kyseliny citrónovej.

Materiál a metódy

Použitý mikroorganizmus. V práci sme používali kmeň *Candida lipolytica* 106 zo zbierky mikroorganizmov VÚRUP v Bratislave.

Kultivačná pôda. Kultivácie sme robili v médiu obsahujúcom močovinu (1,1 g, resp. iný zdroj dusíka v dávke s rovnakým množstvom aminodusíka),

Doc. Ing. Bohumil Škárka, CSc., Ing. Liana Ujhelyiová, CSc., Katedra technickej mikrobiológie a biochémie, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Radlinského 9 812 37 Bratislava.

KH_2PO_4 (0,5 g), kukuričný výluh (0,8 g), *n*-alkány (2—16 obj. %), vodovodnú vodu (1 l). pH sme upravovali na 5,5.

Podmienky kultivácie. Používali sme 50 ml pôdy v 500 ml bankách, 2,5 ml inokula (kultúra po naočkovaní na šikmý sladinkový agar sa nechala stáť 48 h pri 28 °C, potom sa spláchla do 500 ml banky s 50 ml média a nechala na trepačke 48 h pri 28 °C) a 3 g CaCO_3 na neutralizáciu produkovaných kyselín. Kultiváciu sme robili pri 28 °C na rotačnej trepačke (5 cm excenter, 110 ot./min).

Stanovenie kyseliny citrónovej a izocitrónovej. Na stanovenie kyseliny citrónovej a izocitrónovej sme používali kapilárnu izotachoforézu [12].

Výsledky a diskusia

V práci sme sledovali vplyv zdroja dusíka, pH, teploty a koncentrácie *n*-alkánov na produkciu kyseliny citrónovej a izocitrónovej. Výsledky uvádza tabuľka 1.

Vplyv zdroja dusíka na produkciu kyseliny citrónovej a izocitrónovej. Z údajov v tabuľke 1 vidieť, že všetky testované zdroje dusíka spôsobili pokles produkcie kyseliny citrónovej v porovnaní s močovinou, najmä NH_4Cl (o 23,6 %) a stimulovali tvorbu kyseliny izocitrónovej, najmä kazeínhydrolyzát (o 26,1 %). Ak berieme do úvahy produkciu oboch kyselín, najlepšie výsledky dáva NH_4NO_3 a kazeínhydrolyzát.

Vplyv pH na produkciu kyseliny citrónovej a izocitrónovej. Z tabuľky 1 vidieť optimálne pH pre produkciu kyseliny citrónovej — 5,5, kým produkcia kyseliny izocitrónovej rastie so zvyšujúcim sa pH. Pokles produkcie kyseliny citrónovej so zvyšovaním pH je natoľko prudký, že súčet produkcie oboch kyselín je nižší ako pri pH 5,5.

Vplyv teploty na produkciu kyseliny citrónovej a izocitrónovej. Z údajov v tabuľke 1 vidieť, že produkcia kyseliny citrónovej s teplotou klesá, kým produkcia kyseliny izocitrónovej má optimum pri 32 °C. Teplotné optimum pri súčte produkcie oboch kyselín je 32 °C. Pritom diferencia produkcie pri 28 °C a 34 °C je ± 5 %.

*Vplyv koncentrácie *n*-alkánov na produkciu kyseliny citrónovej a izocitrónovej.* Výsledky pokusov ukazujú, že so zvyšovaním koncentrácie rastie aj produkcia oboch kyselín. Pri zdvojnásobení koncentrácie *n*-alkánov sa zvýši produkcia kyseliny citrónovej o 12 % a kyseliny izocitrónovej o 29 %, resp. oboch kyselín o 19 %. Účelnosť použitia vyššej koncentrácie *n*-alkánov závisí od ekonomických faktorov, lebo so zvyšovaním koncentrácie *n*-alkánov klesá stupeň ich konverzie.

Tabuľka 1. Vplyv niektorých parametrov na produkciu kyseliny citrónovej a izocitrónovej
Table 1. Effects of some parameters on the production of citric and isocitric acids

Parameter ¹	Produkcia na 10. deň kultivácie ²					
	kyselina citrónová ³		kyselina izocitrónová ⁴		kyselina citrónová a izocitrónová ⁵	
	[g.l ⁻¹]	[%]	[g.l ⁻¹]	[%]	[g.l ⁻¹]	[%]
Zdroj dusíka ⁶						
močovina (kontrola) ⁷	48,4	100,0	33,3	100,0	81,7	100,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	45,3	93,6	37,1	111,4	82,4	100,8
NH ₄ Cl	37,0	76,4	40,5	121,6	77,5	94,8
NH ₄ NO ₃	46,3	95,7	41,3	124,0	87,6	107,2
kazeínhydrolyzát ⁸	47,0	97,1	42,0	126,1	89,0	108,9
pH						
3,5	36,3	84,6	27,3	86,7	63,6	85,5
4,0	39,4	91,8	29,7	94,3	69,1	92,9
4,5	39,4	91,8	30,0	95,2	69,4	93,3
5,0	40,3	93,9	31,0	98,4	71,3	95,8
5,5	42,9	100,0	31,5	100,0	74,4	100,0
6,0	39,7	92,5	33,0	104,8	72,7	97,7
6,5	36,1	84,1	34,4	109,2	70,5	94,7
Teplota ⁹ [°C]						
28	46,7	100,0	33,1	100,0	79,8	100,0
30	45,6	97,6	36,2	109,4	81,8	102,5
32	43,6	93,4	40,0	120,8	83,6	104,7
34	43,1	92,3	32,2	97,3	75,3	94,4
36	4,3	9,2	13,6	41,1	17,9	22,4
Koncentrácia substrátu ¹⁰ [%]						
8	45,5	100,0	32,1	100,0	77,6	100,0
10	46,3	101,7	32,9	102,5	79,2	102,1
12	48,4	106,3	36,3	113,1	84,7	109,1
14	50,6	111,2	39,9	124,3	90,5	116,6
16	51,4	112,9	41,5	129,3	92,9	119,7

Výsledky sú priemerom 3 paraleliek, pričom smerodajná odchýlka neprekročila 1,2 % hodnoty.

The results are expressed as the mean value of 3 parallel determinations; standard deviation was less than 1.2% of the value.

¹Parameter; ²Production after 10 day's cultivation; ³Citric acid; ⁴Isocitric acid; ⁵Citric and isocitric acids; ⁶Nitrogen source; ⁷Urea (control); ⁸Casein hydrolysate; ⁹Temperature; ¹⁰Substrate concentration.

Literatúra

1. Pat. NSR 2134826.
2. Pat. GB 1203006.
3. Pat. NSR 2205141.
4. GAUJA, B. — LUKA, V. — KARKLINŠ, R., In: Producenty aminokislot i fermentov. Riga, Zinatne 1976, s. 84.
5. Pat. Jap. 7314954.

6. FINOGENOVA, T. V. — SHISHKANOVA, N. V. — ERMAKOVA, I. T. — KATAEVA, I. A., Appl. Microbiol. Biotechnol., 23, 1986, č. 5, s. 378.
7. FINOGENOVA, T. V. — LOZINOV, A. B. — KARKLINS, P. — PELCMANE, I. — ILLARIONOVA, V. I. — ŠIŠKANOVA, N. V., In: Biosintez oksikislot i ketokislot mikroorganizmov. Riga, Zinatne 1984, s. 18.
8. KARKLINŠ, R. — PELCMANE, I. — RAMINA, L., Latv. PRS Zinat. Akad. Vestis, 1984, s. 108.
9. RAMINA, L. — OZOLINS, M., In: Biosintez oksikislot i ketokislot mikroorganizmov. Riga, Zinatne 1984, s. 35.
10. PELCMANE, I. — KARKLINS, P. — LIEPINS, G. — BORISENOK, M. Ja., In: Biosintez oksikislot i ketokislot mikroorganizmov. Riga, Zinatne 1984, s. 27.
11. PELCMANE, I. — KARKLINS, P. — LIEPINS, G. — BORISENOK, M. Ja., In: Biosintez oksikislot i ketokislot mikroorganizmov. Riga, Zinatne 1984, s. 32.
12. MADAJOVÁ, V. — KANIANSKY, D. — RADĚJ, Z. — ESZENYIOVÁ, A., In: Zborník 25. konf. o rope. Bratislava, Slovnaft, 1980, s. 18.

Оптимизация некоторых параметров лимонной ферментации дрожжей *Candida lipolytica* 106 на *n*-алканах

Резюме

Дрожжи *Candida lipolytica* 106 в среде с *n*-алканами, являющимися единственным источником углерода, производят лимонную и изолимонную кислоты. Оптимизацией температуры, pH, источника азота и концентрации *n*-алканов можно повысить продукцию упомянутых кислот. Самую высокую продукцию обеих кислот 80—85 г.л⁻¹ можно достигнуть с помощью применения NH₄NO₃ в качестве источника азота, с pH 5,5, при температуре 28—32 °C и с концентрацией *n*-алканов 8—10 %.

The optimalization of some parameters of citric fermentation using the *Candida lipolytica* 106 yeast cultivated on *n*-alkanes

Summary

The *Candida lipolytica* 106 yeast cultivated on the medium with *n*-alkanes which is the only carbon source, produces both citric and isocitric acids. The production of these acids can be increased using the optimalization of temperature, pH, nitrogen source and *n*-alkanes concentration. The use of NH₄NO₃ as the nitrogen source at pH 5.5, temperature 28—32°C and at the concentration of *n*-alkanes 8—10% allow to reach the highest production of both acids (80—85 g l⁻¹).