

Zloženie mastných kyselín piatich rodov vláknitých mikromycét

JÁN ŠAJBIDOR

Súhrn. Práca sa zaoberá analýzou profilu mastných kyselín bežných kontaminantov potravín zo skupiny mikromycét. Naše výsledky poukazujú na rozdiely v obsahu lipidu a zložení mastných kyselín testovaných kmeňov. *Mucor* a *Rhizopus* sp. sa odlišovali od ostatných vzoriek prítomnosťou kyseliny γ -linolénovej. Dva kmene *Penicillium* sp. obsahovali vysoký podiel kyseliny linolovej a *Aspergillus* a *Fusarium* sp. syntetizovali najmä kyselinu olejovú.

Fungálne lipidy obsahujú rozsiahle spektrum mastných kyselín, ktorých biosyntéza podlieha vnútrobunkovej regulácii vzhľadom na optimálne zloženie bunkovej membrány tvorenej najmä fosfolipidmi [1]. Dĺžka a nenasýtenosť acylov štrukturálnych lipidov primárne determinuje niektoré fyzikálno-chemické vlastnosti medzifázového rozhrania [3], odráža podmienky prostredia [3] a adaptačnú schopnosť mikroorganizmu [4]. Hoci detegovaný profil mastných kyselín ovplyvňujú kultivačné podmienky [5], spôsob izolácie a spracovania lipidu [6], genetická podmienenosť lipogenézy dovoľuje použiť výsledky analytického stanovenia profilu mastných kyselín ako pomocné kritérium v systematike baktérií [7], kvasiniek [8] i plesní [9].

Najbežnejšou nasýtenou alifatickou mastnou kyselinou je kyselina palmitová (16 : 0), ktorá vzniká ako koncový produkt kondenzácie dvojuhlíkových intermediátov za účinnosti komplexu enzýmov syntetázy mastných kyselín [10]. V cytosóle buniek zvyčajne nastáva jej elongácia na kyselinu stearovú (18 : 10). Z nenasýtených mastných kyselín je najhojnejšie zastúpená kyselina olejová (18 : 1), hoci sa jej obsah v lipide môže znižovať v dôsledku aktivácie membránových desaturáz [11]. Fungálne lipidy bežne obsahujú estericky viazanú kyselinu linolovú (18 : 2) a linolénovú (18 : 3). Niektoré druhy sú schopné v mycéliu akumulovať mastné kyseliny s kratším reťazcom, alebo naopak,

Ing. Ján Šajbidor, CSc., Katedra biochemickej technológie, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

lipidy obsahujúce dlhoreťazcové mastné kyseliny s väčším počtom dvojitéch väzieb [12].

Summer a kol. [13] uvádzajú pre *Mucor* sp. 22,5 % kyseliny palmitovej a 55,1 % kyseliny olejovej. Rody *Aspergillus* a *Penicillium* zvyčajne syntetizujú viac kyseliny linolovej ako *Mucorales* [14]. Kolesnikova a Tolstnikova [15] detegovali u *Aspergillus* sp. 64,7–72,4 % nenasýtených mastných kyselín, najmä kyselinu linolovú a olejovú. Typickou vlastnosťou nižších vlákňovitých húb je produkcia kyseliny γ -linolénovej s lokalizáciou dvojitéch väzieb v polohách 6, 9, 12 alifatického reťazca, kým vyššie huby produkujú iba 18 : 3 [9, 12, 15] – kyselinu α -linolénovú [16].

Predložená práca zhŕňa výsledky chromatografickej analýzy profilu mastných kyselín a celkový obsah lipidu dvanástich kmeňov piatich rodov vlákňovitých mikromycét bežne sa vyskytujúcich ako kontaminanty potravín.

Materiál a metódy

Testované kmene vlákňovitých húb sme získali z Československej zbierky mikroorganizmov Univerzity J. E. Purkyně v Brne a z Katedry botaniky Přírodovedeckej fakulty Univerzity Karlovej v Prahe (+).

<i>Mucor fragilis</i>	CCF – 236
<i>Mucor mucedo</i>	CCF – 1384
<i>Mucor plumbeus</i>	CCF – 443
<i>Rhizopus arrhizus</i>	CCF – 100 ⁺
<i>Rhizopus nigricans</i>	CCF – 1504 ⁺
<i>Aspergillus oryzae</i>	CCF – 41
<i>Aspergillus niger</i>	CCF – 330
<i>Aspergillus foetidus</i>	CCF – 273
<i>Penicillium camemberti</i>	CCF – 378
<i>Penicillium chrysogenum</i>	CCF – 193
<i>Fusarium oxysporum</i>	CCF – 45
<i>Fusarium moniliforme</i>	CCF – 180

Na kultiváciu sme použili tekuté Czapekovo médium tohto zloženia: K_2HPO_4 – 1 g, $NaNO_3$ – 3 g, KCl – 0,5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,01 g, kvasničný autolyzát – 5 g, sacharóza – 30 g, destilovaná voda – 100 ml.

200 ml média sme v 1000 ml Erlenmeyerových bankách inokulovali objemom 10 ml homogénneho vitálneho mycélia, ktoré obsahovalo 200 mg sušiny. Kultúry sme inkubovali 168 hodín na rotačnej trepačke pri teplote 28 °C. Kultiváciu sme skončili sterilizáciou. Po ochladení obsahu sme mycélium prefil-

trovali a premyli 20 ml destilovanej vody. Získaný materiál sme použili na extrakciu lipidu postupom podľa Folcha a kol. [17]. Viazané lipidy sa 1 h hydrolyzovali v 1 M roztoku KOH v metanole pri 80 °C. Uvoľnené masné kyseliny sa metylovali diazometánom a metylestery sme rozdelili metódou GLC za týchto podmienok:

Plynový chromatograf CHROM 5 (LP Praha, ČSSR: s 1,8 m sklenenou kolónou vnútorného priemeru 2 mm naplnenou 15 % OV-275 na Chromsorbe PAW – DMCS zrnitosti 100/120 mesh (Supelco, Bellefonte, USA). Teplota injektora a detektora bola nastavená na 250 °C, teplota kolóny 180 °C. Nosný plyn dusík, optimálny prietok 30 ml/min. Množstvo aplikovanej vzorky 1 µl hexánového roztoku. Píky sme identifikovali na základe retencie známych štandardov (Supelco, Bellefonte, USA) a kvalifikovali pomocou integrátora CI-100 (LP Praha, ČSSR).

Výsledky a diskusia

Obsah lipidov a zloženie masných kyselín testovaných vlákнитých húb uvádza tabuľka 1. Z výsledkov sú zrejmé značné rozdiely v detegrovanom profile masných kyselín. Nižšie huby (*Rhizopus* a *Mucor* sp.) na rozdiel od *Ascomycetes* obsahovali kyselinu γ -linolénovú, čo sa zhoduje s predchádzajúcimi prácami [14, 16, 18]. Vysoký obsah nenasýtených polyénov je priamym dôsledkom aktivity desaturáz dlhoreťazcových masných kyselín, ktorá je pre najjednoduchšie mikromycéty typická [10]. Pre *Aspergillus* a *Fusarium* sp. bola charakteristická zvýšená hladina kyseliny olejovej pri potlačení jej ďalšej desaturácie na kyselinu linolovú a γ -linolénovú. Dva analyzované kmene *Penicillium* sp. mali na rozdiel od *Aspergillus* a *Fusarium* sp. vyšší obsah kyseliny linolovej, ktorá u *Penicillium camemberti* tvorila 59,2 % všetkých detegrovaných masných kyselín. Z výsledkov vyplýva, že genetická podmienenosť prednostnej biosyntézy určitého typu masnej kyseliny opisovaná u húb sa potvrdila aj v našom experimente. Rôzna schopnosť akumulácie intracelulárneho lipidu je pravdepodobne dôsledkom rozdielnej aktivity ATP citrátlyzázy E.C. 4.1.3.8 [19, 20] a syntetázy masných kyselín [10].

Hoci sa testovalo iba málo kmeňov, porovnanie s predchádzajúcimi prácami [14, 18] dovoľuje analyzované mikromycéty rozdeliť podľa nenasýtenosti ich masných kyselín do troch samostatných skupín.

Do prvej môžeme zaradiť všetky kultúry produkujúce kyselinu γ -linolénovú (*M. mucedo*, *M. fragilis*, *M. plumbeus* Rh. *arrhizus*, Rh. *nigricans*). Pre huby tejto skupiny je charakteristická prítomnosť Δ^6 desaturázy v ich enzýmovom vybavení.

Tabuľka 1. Obsah lipídu a zloženie mastných kyselín dvanástich zbierkových kmeňov mikromycét

Table 1. Lipid content and fatty acid composition of twelve collecting strams of micromycetes

kmeň ¹	obsah ² lipidu (%)	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3
<i>M. fragilis</i>	5,3	1,2	2,3	16,1	4,2	20,8	17,1	17,5	13,1 ⁺
<i>M. mucedo</i>	8,4	0,6	1,1	17,4	3,8	7,2	35,4	16,0	17,8 ⁺
<i>M. plumbeus</i>	5,8	1,5	3,3	17,8	3,2	7,6	31,2	17,1	13,3 ⁺
<i>Rh. arrhizus</i>	10,2	0,4	1,6	14,8	4,3	10,2	30,3	18,4	16,6 ⁺
<i>Rh. nigricans</i>	11,3	1,4	0,9	16,6	2,5	9,4	29,3	19,3	16,2 ⁺
<i>A. oryzae</i>	15,6	0,3	0,3	16,1	1,1	11,3	37,7	28,1	1,1
<i>A. niger</i>	6,6	1,2	0,7	16,0	2,3	20,2	36,6	18,2	0,6
<i>A. foetidus</i>	7,5	0,9	0,2	14,4	1,4	9,4	39,1	31,1	0,9
<i>P. camemberti</i>	5,5	0,8	0,6	13,0	3,1	2,1	16,6	59,2	0,2
<i>P. chrysogenum</i>	4,9	0,6	0,4	21,1	1,6	5,3	20,1	44,3	4,1
<i>F. oxysporum</i>	7,7	1,2	0,8	16,8	2,1	7,7	35,4	30,2	1,2
<i>F. moniliforme</i>	8,1	1,1	1,1	20,3	1,7	12,5	35,5	23,7	0,8

18:3⁺: kyselina γ -linolénová³, ostatné (18:3): kyselina α -linolénová⁴

1 – stram

2 – lipid content

3 – γ -linolenic acid

4 – other acids (18:3): α -linolenic acid

Vysoká konverzia kyseliny olejovej na linolovú za obmedzenia ďalšej desaturácie je typická pre druhú skupinu (*P. camemberti*, *P. chrysogenum*).

V tretej skupine sú huby, ktoré produkujú najmä kyselinu olejovú a malé množstvo kyseliny α -linolénovej (*A. oryzae*, *A. niger*, *A. foetidus*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*).

Do redakcie došlo 16. 1. 1989

Literatúra

1. CULLIS, P. R. – De KRUIJEFF, B., Biochim. Biophys. Acta, 559, 1979, s. 399
2. CULLIS, P. R. – HOPE, M. J., In: Biochemistry of Lipids and Membranes. D. E. Eds., Vance, J. E. Vance. Menlo Park, Benjamin/Cummings 1985, p. 25.
3. McELHANEY, R. N., In: Extreme Environments, Mechanism of Microbial Adaptation Ed., M. R. Heinrich. London, Academic Press 1976, p. 255.
4. INNIS, W. E. – INGRAHAM, J. L., In: Microbial Life in Extreme Environments. Ed. D. J. Kushner. London, Academic Press, 1978, p. 73.
5. ŠAJBIDOR, J. – ČERTÍK, M. – DOBROŇOVÁ, S., Biotechnol. Lett., 10, 1988, s. 347.
6. KOBAYASHI, K. – SUGINAKA, H. – YANO, I., Microbios, 51, 1987, s. 37.

7. JANTZEN, E. – KVALHEIM, O. M. – HAUGE, T. A. – HAGEN, N. – BÖVRE, K., System. Appl. Microbiol., 9, 1987, s. 142.
8. COTTREL, M. – KOCK, J. L. F. – LATEGAN, P. M. – BRITZ, T. J., System. Appl. Microbiol., 8, 1986, s. 166.
9. SHAW, R., Adv. Lipid Res., 4, 1966, s. 107.
10. CHOPRA, A. – KHULLER, G. K., CCR Crit. Rev. Microbiol., 11, 1984 s. 209.
11. KATES, M. – PUGH, E. L. – FERRANTE, G., In: Membrane Fluidity. Eds. M. Kates, L. A. Manson. New York, Plenum Publishing 1984, p. 379.
12. ŘEZANKA, T. – CUDLÍN, J. – PODOJIL, M., Folia Microbiol., 32, 1987, s. 149
13. SUMNER, J. L. – MORGAN, E. D. – EVANS, H. C., Can. J. Microbiol., 15, 1968, s. 515.
14. WASSEF, M., Adv. Lipid Res., 15, 1977, s. 159.
15. KOLESNIKOVA, I. G. – TOLSTIKOVA, G. V., Mikrobiologia, 53, 1984, s. 983.
16. SHAW, R., Biochem. Biophys. Acta, 98, 1965, s. 230.
17. FOLCH, J. – LESS, M. – STANLEY, G. H. S., J. Biol. Chem., 226, 1957, s. 497.
18. BRENNAN, J. P. – LÖSEL, D. M., Adv. Microb. Physiol., 17, 1978, s. 47.
19. BOULTON, C. A. – RATLEDGE, C., J. Gen. Microbiol., 127, 1981, s. 423.
20. EVANS, C. T. – RATLEDGE, C., Lipids, 18, 1983, s. 630.

Содержание жирных кислот пяти родов волокнистых микромицет

Резюме

Работа занимается анализом характеристики жирных кислот обыкновенных загрязнителей пищевых продуктов из группы микромицет. Наши результаты показывают различия в содержании липидов и в составе жирных кислот определенных штаммов. *Mucor* и *Rhizopus* sp. отличались от остальных проб присутствием γ -линоленовой кислоты. Два штаммы *Penicillium* sp. содержали высокую часть линолевой кислоты и *Aspergillus* и *Fusarium* синтезировали прежде всего олеиновую кислоту.

Fatty acid composition in five species belonging to micromycetes

Summary

This paper presents the fatty acid profiles of common food contaminants belonging to micromycetes. Our results indicate the various differences in lipid content and fatty acid composition of tested strains. *Mucor* and *Rhizopus* species can be distinguished from the others by the presence of γ -linolenic acid. Two analysed *Penicillium* strains contained high amount of linoleic acid and *Aspergillus* and *Fusarium* species synthesized oleic acid especially.