

## Vplyv tenzidov na produkciu celuláz vláknitou hubou *Trichoderma viride*

BOHUMIL ŠKÁRKA — JAROSLAV ZEMANOVIČ

**Súhrn.** Tenzidy Tween 80 a niektoré typy Slovanik vykazujú stimulačný vplyv na produkciu celuláz vláknitou hubou *Trichoderma viride*. Československé tenzidy typu Slovanik sa vyrovnávajú tenzidu Tween 80. Pridavok tenzidu 0,1—0,2 % pred dosiahnutím maxima produkcie celuláz môže viesť k jej zvýšeniu o 60—100 %. Tenzidy zrejme neovplyvňujú tvorbu extracelulárnych proteínov, ale mohlo by ísť o ovplyvnenie vlastností bunkovej steny.

Reese [1], Griffin [2] a ďalší autori upozornili, že tenzidy sú účinné stimulatory produkcie celuláz. Naproti tomu iní autori, ako Mandelsová [3], Gottwaldová [4], Tangnu [5] a ďalší, sa nestotožňujú s týmto tvrdením. Mechanizmus účinku tenzidov na produkciu celuláz nie je známy.

V našej práci sme porovnávali stimulačný účinok na produkciu celuláz niekoľkých zahraničných a domácich tenzidov, a to vzhľadom na produkciu extracelulárnych proteínov a čas pridania tenzidu do média.

### Materiál a metódy

**Použitý mikroorganizmus.** V práci sme používali kmeň *Trichoderma viride* QM 9414 zo zbierky Chemického ústavu SAV v Bratislave a v niektorých pokusoch aj kmeň *Trichoderma viride* M 3 z Katedry technickej mikrobiológie a biochémie CHTF SVŠT (RNDr. A. Fargašová, CSc.).

**Kultivačné pôdy.** Na kultiváciu *Trichoderma viride* sme používali pôdu podľa Mandelsovej [6], modifikovanú podľa Farkaša [7].

---

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

*Podmienky kultivácie.* Používali sme 500 ml banky so 125 ml pôdy pH 5,0. Kultivovali sme na rotačnej trepačke (5 cm excenter, 110 obr./min) pri 28 °C.

*Stanovenie celulázovej aktivity na filtračný papier (FPA).* 0,2 ml odstredeného kultivačného média sme v skúmavke zriedili 0,3 ml vody, pridali 0,5 ml 0,05 mol.dm<sup>-3</sup> citrátového tlmivého roztoku pH 4,8 a 6 × 1 cm prúžok filtračného papiera Whatman 1. Skúmavku sme vložili do vodného kúpeľa (50 °C) a nechali inkubovať 60 min. Po ochladení roztoku sme v ňom stanovili redukujúce sacharidy [8] alebo glukózu [9].

*Stanovenie proteínov.* Na stanovenie proteínov sme používali metódu podľa Lowryho [10, 11].

## Výsledky a diskusia

Prehľad testovaných tensidov je v tabuľke 1.

Tabuľka 1. Prehľad testovaných tensidov  
Table 1. Review of tested tensides

Obchodný názov <sup>1</sup>	Chemické zloženie <sup>2</sup>	Výrobca — dodávateľ <sup>3</sup>
Tween 80	oxyetylovaný sorbitan + monooleát <sup>6</sup>	Atlas Chemical Co., USA
Slovasol O	oxyetylovaný oleyl-alkohol + acetylalkohol <sup>7</sup>	CHZWP, Nováky
Slovasol A	oxyetylovaná kyselina olejová <sup>8</sup>	CHZWP, Nováky
Slovanik PV 370B	kopolyméry etylénoxidu a propylénoxidu <sup>9</sup>	CHZWP, Nováky
Slovanik M 640	kopolyméry etylénoxidu a propylénoxidu <sup>9</sup>	CHZWO, Nováky
Slovanik T 310	kopolyméry etylénoxidu a propylénoxidu <sup>9</sup>	CHZWP, Nováky
Slovanik NT 70	kopolyméry etylénoxidu a propylénoxidu <sup>9</sup>	CHZWP, Nováky
Dodecylsírán sodný <sup>4</sup>		Lachema, Brno
Dodecylbenzénsulfónan sodný <sup>5</sup>		Hüls, NSR
Flavok BMK	alkylbetaín <sup>10</sup>	Spolek, Ústí n.L.

<sup>1</sup>Commercial name; <sup>2</sup>Chemical composition; <sup>3</sup>Producer — supplier; <sup>4</sup>Sodium dodecyl sulphate; <sup>5</sup>Sodium dodecylbenzene sulphonate; <sup>6</sup>Oxyethylated sorbate + monooleate; <sup>7</sup>Oxyethylated oleyl and acetyl alcohols; <sup>8</sup>Oxyethylated oleic acid; <sup>9</sup>Copolymers of ethylene and propylene oxides; <sup>10</sup>Alkylbetaine.

Vplyv testovaných tensidov na produkciu celuláz uvádza tabuľka 2, kde vidieť, že z československých tensidov najlepšie výsledky vykazujú tensidy typu Slovanik.

Tabuľka 2. Vplyv rôznych tensidov na produkciu celulózy (vyjadrenú ako FPA)  
Table 2. Effects of different tensides on the production of cellulases (expressed as the filter paper activity — FPA)

Produkčný kmeň <sup>1</sup>	Tenzid <sup>2</sup>	Koncen-trácia v médiu <sup>3</sup> [%]	Doba kultivácie [dni] <sup>4</sup>	FPA <sup>5</sup> [nkat.ml <sup>-1</sup> ]	% ku kontrole <sup>6</sup>
<i>Trichoderma viride</i> M 3	—	—	5	4,5	100
	Tween 80	0,2	4	5,1	146
	Slovanik M 640	0,2	5	5,8	166
	Slovasol A	0,2	5	2,8	80
	Slovasol O	0,2	5	3,0	86
	Flavol BMK	0,2	4	0,1	3
	Dodecylsírán Na <sup>7</sup>	0,2	4	0,1	3
	Dodecylbenzénsul-fonán Na <sup>8</sup>	0,2	4	0,1	3
	Karboxymetylce-lulóza <sup>9</sup>	0,2	6	1,6	46
<i>Trichoderma viride</i> QM 9414	—	—	4	6,11	100
	Tween 80	0,2	4	10,10	165
	Slovanik NT 70	0,1	4	11,66	189
	Slovanik T 310	0,2	9	9,85	153
	Slovanik PV 370-B	0,1	6	9,10	149

Výsledky v tejto i ďalších tabuľkách sú priemerom 3—5 paralelných stanovení.

The results in this table and in next ones are expressed as the meaas of 3—5 parallel determi-nations.

<sup>1</sup>Production strain; <sup>2</sup>Tenside; <sup>3</sup>Concentration in medium; <sup>4</sup>Cultivation time (days); <sup>5</sup>Filter paper activity; <sup>6</sup>% for the control; <sup>7</sup>Sodium dodecyl sulphate; <sup>8</sup>Sodium dodecylbenzene sulpho-nate; <sup>9</sup>Carboxymethyl cellulose.

Tabuľka 3. Vplyv rôznych tensidov na produkciu celulózy (ako FPA) počas kultivácie  
*Trichoderma viride* QM 9414 (očkované spórami)

Table 3. Effects of different tensides on the production of cellulases (as FPA) during the  
*Trichoderma viride* QM 9414 cultivation (inoculated with spores)

Tenzid <sup>1</sup>	Koncen- trácia v médiu <sup>2</sup> [%]	Produkcia celulózu (ako FPA) <sup>3</sup> [nkat.ml <sup>-1</sup> ]						Maxi- mum k maxi- mu kontro- ly <sup>5</sup> [%]
		deň kultivácie <sup>4</sup>						
		3	4	5	6	7	10	
Kontrola <sup>6</sup>	—	3,44	3,74	3,83	5,15	5,43	5,22	100
Tween 80	0,1	5,89	6,55	6,33	9,28	10,73	9,19	198
	0,2	5,47	6,07	5,66	10,80	9,21	12,59	232
Slovanik NT 70	0,1	4,54	5,96	5,65	9,46	8,87	8,42	174
	0,2	5,32	5,65	4,41	7,16	7,27	10,25	188
Slovanik PV 370-B	0,1	5,71	7,39	6,26	9,30	10,45	8,62	192
	0,2	6,13	6,09	5,63	7,79	8,84	12,78	235

<sup>1</sup>Tenside; <sup>2</sup>Concentration in medium; <sup>3</sup>Production of cellulases (as FPA); <sup>4</sup>Cultivation's day;

<sup>5</sup>The maximum to control maximum; <sup>6</sup>Control.

Tabuľka 3 porovnáva stimulačný účinok tenzidu Tween 80 a dvoch česko-slovenských tenzidov typu Slovanik. Z výsledkov vidieť, že predovšetkým Slovanik PV 370B sa stimulačným účinkom vyrovná Tweenu 80.

V tabuľke 4 sú okrem FPA zaznamenané aj hodnoty obsahu extracelulárnych proteínov. Z uvedených údajov vidieť, že zvýšenie celulázovej aktivity nesúvisí s ich tvorbou.

Tabuľka 4. Vzťah medzi produkciou celuláz (ako FPA) a extracelulárnymi proteínmi počas kultivácie *Trichoderma viride* QM 9414 (očkované spórmi)

Table 4. Relations between the production of cellulases (as FPA) and the extracellular proteins during the *Trichoderma viride* QM 9414 cultivation (inoculated with spores)

Tenzid <sup>1</sup>	Koncentrácia v médiu <sup>2</sup> [%]	Čas kultivácie [dni] <sup>3</sup>				S	Maxi- mum k maxi- mu Tween 80 <sup>4</sup> [%]
		3	4	5	6		
Produkcia celulózy (vyjadrená ako FPA) <sup>5</sup> [nkat.ml <sup>-1</sup> ]							
Tween 80	0,2	3,66	4,54	5,43	9,80	8,26	100
Slovanik PV 370-B	0,1	2,25	3,02	3,82	9,09	8,33	93
Extracelulárne proteíny <sup>6</sup> [mg.ml <sup>-1</sup> ]							
Tween 80	0,2	0,88	1,12	1,40	1,53	1,38	100
Slovanik PV 370-B	0,1	0,60	0,76	0,84	1,32	1,29	86

<sup>1</sup>Tenside; <sup>2</sup>Concentration in medium; <sup>3</sup>Cultivation time (days); <sup>4</sup>Maximum to Tween 80 maximum; <sup>5</sup>Production of cellulases (expressed as FPA); <sup>6</sup>Extracellular proteins.

Tabuľka 5. Vplyv pridania tenzidu Slovanik PV 370-B v koncentrácii 0,2 % do média počas kultivácie *Trichoderma viride* QM 9414 (očkované spórmi) na produkciu celuláz

Table 5. Effects of the addition of Slovanik PV 370-B tenside in concentration 0.2 % into the medium during the *Trichoderma viride* QM 9414 cultivation (inoculated with spores) on the production of cellulases

Čas pridania tenzidu <sup>1</sup> [dni]	Produkcia celuláz (ako FPA) <sup>2</sup> [nkat.ml <sup>-1</sup> ] deň kultivácie <sup>3</sup>				
	3	4	5	6	8
0	2,52	3,36	8,22	5,95	5,66
3	2,24	3,63	8,32	6,94	6,71
4		2,40	7,20	6,18	5,52
5			4,73	4,09	3,83

<sup>1</sup>Time of the tenside addition (days); <sup>2</sup>Production of cellulases (as FPA); <sup>3</sup>Cultivation's day.

Keďže testované tenzidy spôsobujú mierne penenie pôdy, čo je v prevádzke málo žiadúce, zisťovali sme, ako sa prejaví účinok tenzidov pridávaných až v priebehu fermentácie (tab. 5).

Z výsledkov tabuľky 5 vidieť, že ak sa tenzid pridáva iba krátko pred dosiahnutím maxima produkcie, jeho stimulačný účinok sa už neprejaví. Z toho by sa dalo usudzovať, že tenzidy určitým spôsobom zasahujú do vlastností bunkovej steny.

## Literatúra

1. REESE, E. T. — MAGUIRE, A., Devel. ind. Microbiol., 12, 1970, s. 212.
2. GRIFFIN, H. L. — SLONEKER, J. H. — INGLET, G. E., Appl. Microbiol., 27, 1974, č. 6, s. 1061.
3. MANDELS, M. — WEBER, J. — PARIZEK, R., Appl. Microbiol., 21, 1971, č. 1, s. 152.
4. GOTTWALDOVÁ, M., Kvasný Prům., 27, 1981, č. 10, s. 232.
5. TANGNU, S. K. — BLANCH, H. W. — WILKE, C. R., Biotechnol. Bioeng., 23, 1981, s. 1837.
6. MANDELS, M. — WEBER, J., Adv. Chem. Ser., 95, 1969, s. 391.
7. FARKAŠ, V., Proc. 3rd Symp. Socialist Countries on Biotechnology, Bratislava, 1983.
8. MILLER, G. L. — BLUM, R. — GLENNON, W. E. — BURTON, A. L., Anal. Biochem., 1, 1960, s. 127.
9. BIO-LA-TEST — Stanovenie glukózy. Brno, Lachema.
10. PEETERSEN, N., Biotechnol. Bioeng., 19, 1977, č. 3, s. 337.
11. DAVÍDEK, J.: Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha, SNTL 1977, s. 267.

## Влияние тензидов на продукцию целлюлаз с помощью волокнистого гриба *Trichoderma viride*

### Резюме

Тензиды Tween 80 и некоторые типа Slovanik оказывают стимулирующее влияние на продукцию целлюлаз с помощью волокнистого гриба *Trichoderma viride*. Чехословацкие тензиды типа Slovanik равны тензиду Tween 80. Добавка тензида 0,1—0,2 % перед достижением максимума продукции целлюлаз может вызвать ее повышение на 60—100 %. Тензиды явно не оказывают влияние на образование внеклеточных протеинов, но могли бы повлиять на свойства клеточной стенки.

## The influence of tensides on the cellulases production by *Trichoderma viride*

### Summary

The tensides Tween 80 and some of Slovaniks have the stimulating effect on the cellulases production by *Trichoderma viride*. The Czechoslovak tensides Slovaniks are comparable with Tween 80. The supplement 0.1—0.2% of the tensides before the maximal cellulases production could increase it about 60—100%. The tensides probably do not interfere with the extracellular proteins production but by some way could change the properties of the cell wall.