

A Mn^{2+} -ion hatásának vizsgálata a termesztett csiperkegomba kompozstjában

Rácz László – B. Tóth Szabolcs – Rácz József

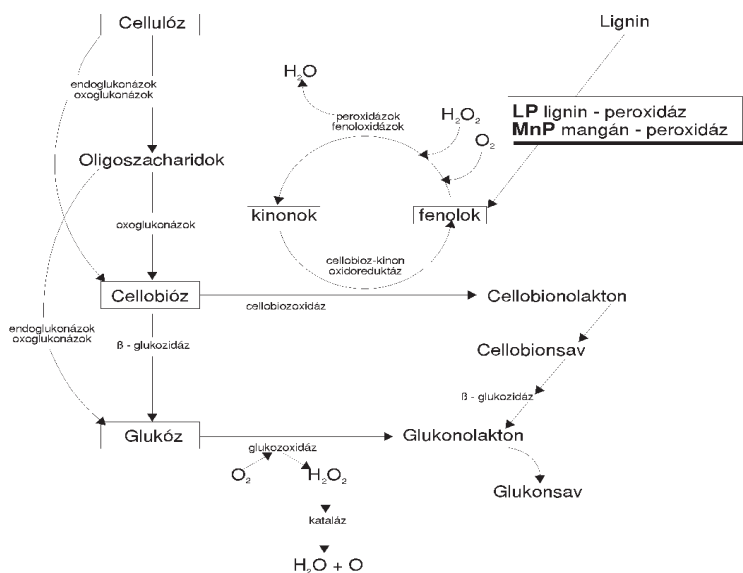
Kémia Tanszék – Korona Gombaipari Egyesülés

A mangán esszenciális mikroelem, mind növény-, állat- és humánélet-tani szempontból számos enzimrendszer alkotórésze, illetve aktivátora. A növények a mangánt $Mn(II)$ -ionok formájában veszik fel a talajból. A felvétel mértékét jelentősen befolyásolja annak mennyisége, a pH, a nedvességtartalom, valamint a talaj szerves anyag tartalma

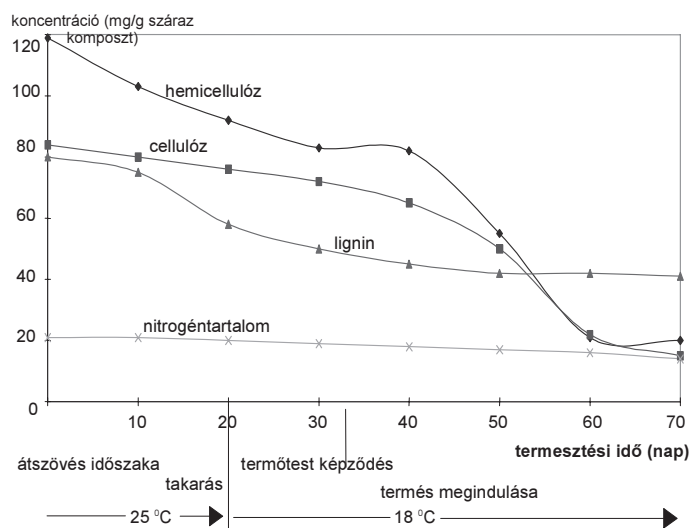
Korábbi irodalmakból [1] [2] már ismert volt, hogy számos enzim (például peptidázok, dehidrogenázok, egyes dekarboxilázok, foszforilázok) működéséhez elengedhetetlen a mangán jelenléte. Az utóbbi időben vált ismertté, hogy a ligninbontó enzimrendszerben is jelentős szerepe van (**Bonnen** és **mtsi**. 1994. [3]). Hatása úgy értelmezhető, hogy az enzimműködés során a fém a sejten belül képződő nagy molekulatömegű fehérjéhez kapcsolódik (komplekképződés), ami a kémiai átalakulások lefolyását a reakciósebesség fokozásával specifikus módon segíti elő.

A cellulóz és ligninbontás folyamatát az 1. ábra szemlélteti.

A 2. ábra a cellulóz és a lignin lebontásának a gombatermesztés alatti időbeli változását mutatja Mn^{2+} -ionok hozzáadása nélkül (**Durrant** és **mtsi** (1991). Az ábrából kitűnik, hogy a szalma lebomlásakor a cellulóz- és a hemicellulóz-tartalom a termesztés folyamatában jobban csökken, mint a lignintartalom. Az is látszik, hogy a szalma a termesztés későbbi fázisában a csírázástól számított ötvenedik nap körül, azaz háromhetes termésideő után még jelentős mennyiségű (~ 40 mg/g) le nem bontott lignintartalommal bír.



1. ábra: A cellulóz- és a ligninbontás folyamatának vázlata (Eriksson nyomán 1987. [4])



2. ábra: A szalma lebomlásának folyamata a termesztés időszakában (Durrant és mtsi. 1991. közleményéből)

A cellulóz és hemicellulóz mennyiségének erre az időszakra történő nagymértékű csökkenése a természetben is szignifikánsan megmutatkozik, azaz már ezen időszakban a termőtestképződés jelentősen visszaesik. Jó lenne elérni azt, hogy ebben az időben történjen meg a lignin erőteljesebb bontása, azaz a gomba számára felvető szénforrás pótlása. Erre a beavatkozásra a természet során már nincs lehetőség, de úgy gondoltuk, hogy egy adott mennyiségű mangánsónak a kész kompozsthoz történő adagolásával jobb ligninlebontást lehet elérni. Ez az adagolás a természetstechnológiai kötöttségek miatt csak a gombacsíra hozzáadásával egyidőben lehetséges. A természetés folyamatát a 3. ábra szemlélteti. Ezen elméleti ismeretek birtokában végeztünk kísérleteket $MnCl_2$ -oldattal történő kezeléssel.

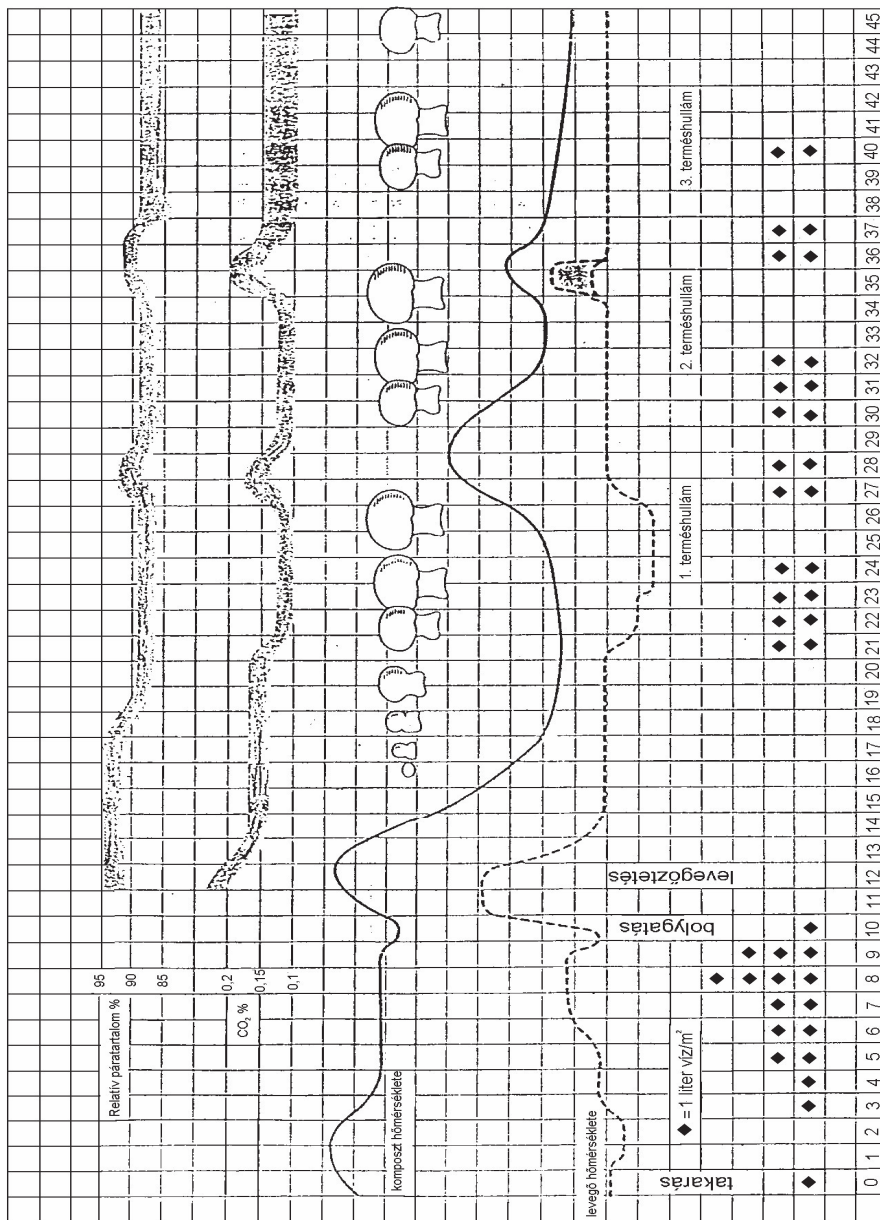
Vizsgálataink arra irányultak, hogy a mangánnak ($MnCl_2$ formában), mint mikroelemnek, – a csiperkegomba termőtalajába juttatásával – milyen változások következnek be az azon természetett gombákban. Méréseink tehát *egyrészt* arra irányultak, hogy növekszik-e a mangántartalom a termőtestben, továbbá megváltoznak-e az egyéb vizsgált fémion-koncentrációértékek, *másrészt* e kezelés hatására várható-e termésmnövekedés, és ha igen, az milyen mértékű (**Vetter** (1988) [5], **Jakucs** (1990) [1], **Lelley** és **mtsa** (1993) [6]).

Elsősorban azt kellett meghatározni, hogy milyen koncentrációjú Mn^{2+} -ionokat tartalmazó oldat szükséges a lignin bontásához ahhoz, hogy optimális termésmnövekedés következzen be.

Az optimális $[Mn^{2+}]$ koncentráció megállapítására következő kísérletet állítottunk be:

Öt-öt műanyag természetzőzsákban lévő, egyenként 20 kg hőkezelt, csírázatlan kompozstba olyan koncentrációjú $MnCl_2$ oldat 1 literét kevertük, melyekben 20, 50, 100, 200 és 400 mg/kg (azaz 0,36; 0,91; 1,82; 3,64 és 7,28 millimol, azaz 0,91; 2,28; 4,55; 9,1; 18,2 g) mangán(II)-t tartalmazott a 20 kg gombatáptalaj. Ezen kívül vakpróbaként öt kezeletlen (kontroll) gomba-alapanyaghoz zsákonként egy-egy liter vizet adtunk azért, hogy kísérleti körülményeink azonosak maradjanak. Ezt követően hozzákevertük valamennyihez a K-23 fajtájú gombaszem csírárt, zsákonként 150–150 cm^3 -t. Az összekeverést speciális keverőgépből végeztük, majd az alapanyagot polietilén fóliazsákokba töltöttük.

A termett gomba terméshullámonkénti mennyiségeit is megadjuk az 1. táblázatban. Ezek alapján 100 kg kompozstra számítva a kontrollnál mért ~ 23–24 kg gombával szemben a 100 és 200 mg/kg-os Mn^{2+} koncentráció hatására ~ 27 kg gomba termett, ami kb. 15 % termésmnövekedést jelent. Ezen vizsgálataink laboratóriumi, illetve félüzemi kísérletek voltak.



3. ábra: A csiperkegomba termesztése

Minta-előkészítési és vizsgálati módszerek:

A három párhuzamos termesztő zsákról 3-3 gombát szedtünk le. Műanyagkéssel szűrőpapíron negyedeltük – esetleg nyolcadoltuk – mindegyiket, a gomba nagyságától függően, majd mind a 9 gombafejből mértünk ki pontosan 20 g körüli mennyiségeket. Az így nyert átlagmintákat $105^{\circ}C$ -on súlyállandóságig szárítottuk. Retsch malomban megőröltük, majd $60\ \mu m$ lyukméretű szitán átszitáltuk.

A mintákból $400-400\ mg$ -ot $100\ cm^3$ -es zárható teflonpoharakba mértünk, s $2\ cm^3\ cc.$ pa. HNO_3 és $2\ cm^3\ 30\ \%$ -os H_2O_2 elegyében roncsoltuk.

Az ún. teflonbombákat szárítószekrénybe helyezve egy 3 órás $160^{\circ}C$ -ra történő felfűtés után lehűtöttük. A keletkezett víztiszta oldatokat kétszer desztillált vízzel $25\ cm^3$ -re töltöttük.

Az egyes elemek koncentrációinak meghatározásához Spectro gyártmányú Spectroflame, ill. Jarell-Ash ICP optikai emissziós spektrométereket alkalmaztunk.

A Spectroflame készülék esetében mono- ill. polikromátor üzemmódban egyoldali háttérkorrekcióval dolgoztunk.

Paraméterek:

- kicsatolt teljesítmény $1\ kW$,
- porlasztógáz (Ar) $2\ lit/perc$,
- plazmagáz (Ar) $5\ lit/perc$,
- hűtőgáz $16\ lit/perc$,
- integráció vonalon és háttéren $10\ sec$,
- porlasztó Meinhardt típusú.
- A Jarell-Ash spektrométer fontosabb paraméterei a következők voltak:
 - kicsatolt teljesítmény $1,05\ kW$,
 - porlasztógáz (Ar) sebessége $0,4\ lit/perc$,
 - plazmagáz (Ar) sebessége $14\ dm^3/perc$.

A vonalak mérésénél kétoldali háttérkorrekciót alkalmaztunk $7-7\ sec$ integrációs idővel, s a vonal + háttér jelet is $7\ s$ -ig mértük. Az oldatok porlasztásához Babington rendszerű porlasztót alkalmaztunk.

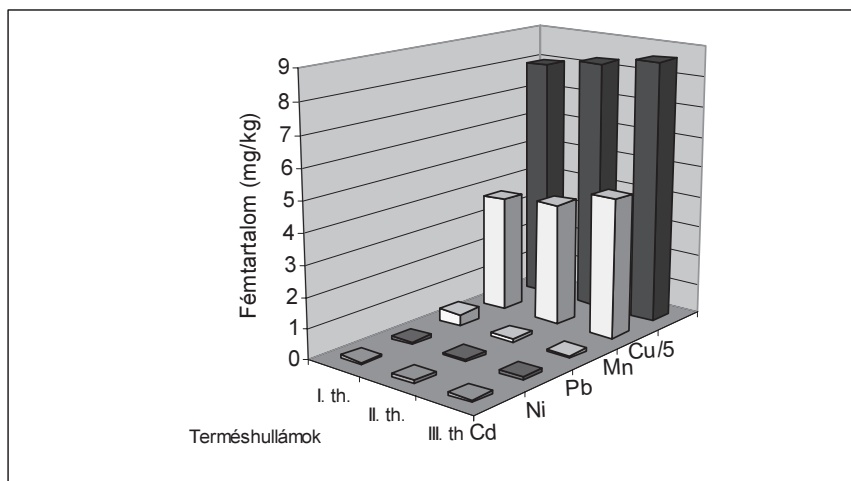
A zsákokon a termés (időben) periodikusan képződik, ezek az ún. terméshullámok. A terméshullámok $7-9$ napoként követik egymást. Ezután is van termőtestképződés, de jelentősen csökken a szedhető mennyiség. Mi az első három termesztési hullámban szedtünk mintát.

1. táblázat: Különböző koncentrációjú Mn^{2+} -ionokkal kezelt táptalajon termesztett gomba mennyiségei terméshullámonként. [Mn^{2+}] = mg/kg-ban

$MnCl_2$	20	50	100	200	400	Kontroll
I. th.*	8,8	9,1	10,6	10,2	10	8,3
II. th.	9,2	10,9	10,7	10,8	11	10
III. th.	4,8	5,1	6,1	6,1	5,6	5,2
Összesen	22,8	25,2	27,4	27,1	26,6	23,5
	-2,98%	+7,23%	+16,6%	+15,32%	+13,19%	

* th = terméshullám

E vizsgálatok során mértük a gombában a mangán- és az egyéb elemkoncentrációkat. A mangán(II)-kloridos adalékolás során kapott adatokat szemlélteti a 4. ábra. (A szemléltetési diagrammon a Cu/5 koncentrációval történt a jelölés, amely a Cu mennyiségének az ötöd részét jelenti)

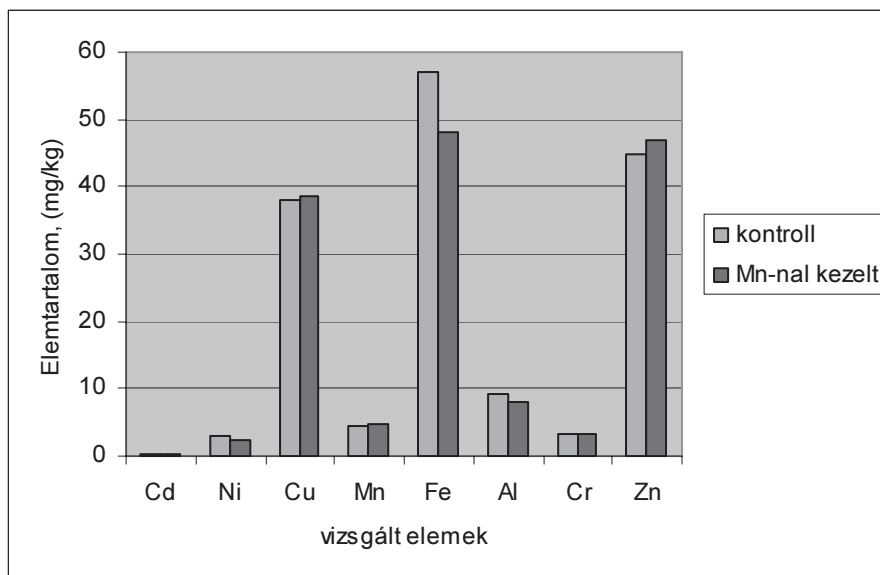


4. ábra: Mangán(II)-kloriddal kezelt táptalajon termesztett gomba fémtartalmai

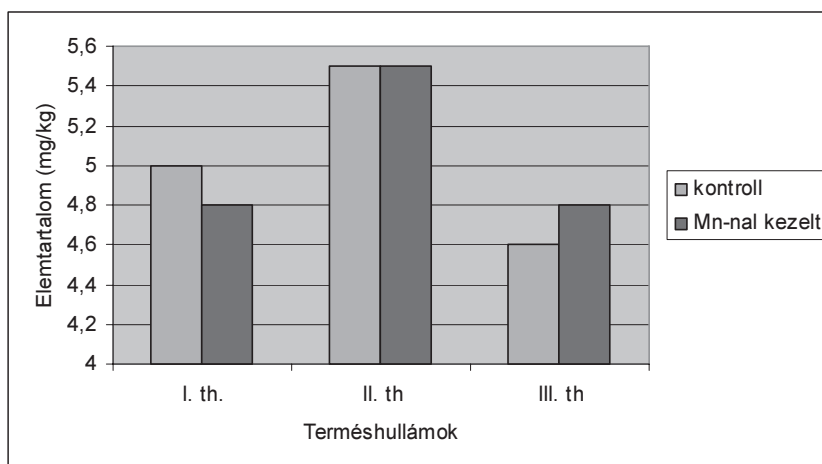
Az ábrából megállapítható, hogy az adalékolás hatására (100 mg/kg) sem a mangán, sem egyéb vizsgált elemek koncentrációja a gombákban szignifikánsan nem változik.

A $MnCl_2$ -oldattal kezelt táptalajon termesztett gombák analitikai vizsgálatának eredményei

1. Vizsgálataink alapján a mangánsóval kezelt (100 mg/kg) táptalajokon termesztett gombákban mért egyéb mikroelemkoncentrációértékek (Cd, Pb, Ni, Cu, Fe, Mn, Al, Cr, Zn) – a megengedett szórásokon belül – megegyeznek a kezeletlen (kontrollként használt) táptalajról vett gombaminták elemtartalmával (lásd 5. ábra.), tehát a Mn^{2+} nem vont ki más elemeket, illetve nem lép be más elemek helyett.
1. Csak a mangánkoncentráció-értékeket szemlélteti terméshullámonként a 6. ábra, a 100 mg/kg-os mangánsóval kezelt és a kezeletlen táptalajról vett gombáknál. Látható, hogy a táptalajhoz való adalékolás ellenére sem nőtt a termőtestben a mangán mennyisége. Ez minden esetben 4,0-5,5 mg/kg Mn^{2+} koncentrációérték körülnek adódott. Ez is bizonyítja, hogy a Mn^{2+} -ionnak nem a gomba nyomelemmel történő ellátása vagy egyéb nyomelemek mobilizálása a szerepe (lásd az első pontban tett megállapítást is), hanem a szerves tápanyaggal való ellátása a lignin enzimatikus bontása útján.



5. ábra: Mangánsóval kezelt (100 mg/kg)t, illetve kezeletlen táptalajon termelt csiperkegomba elemtartalmai

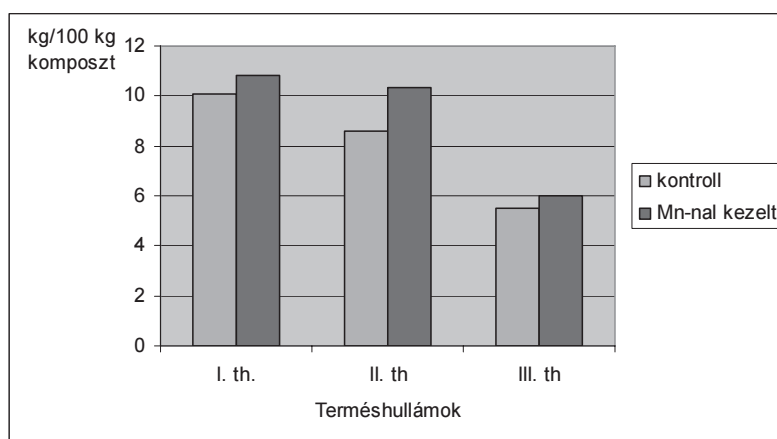


6. ábra: Mangántartalom a kontroll- és a $MnCl_2$ -dal kezelt táptalajon termett gombákban terméshullámonként

Üzemi méretben végzett kísérlet

A $MnCl_2$ -nak a gomba termésmennyiségére gyakorolt hatását vizsgáló kísérleteinket üzemi méretben 200 m²-es gombatermesztésre kialakított pincében végeztük 9 tonna alapanyaghoz, nedves táptalajra számítva 100 mg/kg Mn^{2+} -t $MnCl_2$ -oldat formájában kevertünk. A kontrollként beállított ugyancsak 9 tonna alapanyaghoz ugyanolyan mennyiségű vizet adtunk, mint amennyit a $MnCl_2$ -só bejuttatásához használtunk fel. Az oldatnak ilyen nagy mennyiségű, a táptalajba történő egyenletes eloszlátása, technikailag bonyolult; rendkívül gondos munkát igényelt. Ezt úgy oldottuk meg, hogy a hőkezelőből (pasztörizálóból) kikerült komposzt alapanyagba a $MnCl_2$ -oldatot, és a kontrollalapanyaghoz az oldat helyett a vizet egy homogenizáló berendezésben, a komposztra – futószalagra való kerüléskor – finom eloszlátású permetezéssel ellenáramban juttattuk be.

Az üzemi méretben végzett kísérleteink eredményét a $MnCl_2$ -dal kezelt és kontrolltáptalajon termett értékek összevetését terméshullámonkénti összehasonlításban az 7. ábra mutatja.



7. ábra: Terméshullámonkénti termésátlagok üzemi méretű kísérletünkben

A 2003 áprilisában végzett kísérletünk terméshullámonkénti mérésénél az első kettőnél nagyobb termésmennyiség növekedés történt, a 3.-nál ez jelentősen kisebb mértékű. Ennek véleményünk szerint elsősorban a komposzt anyaga, azaz annak paraméterei (nitrogéntartalma, szén–nitrogén aránya stb.) lehetett az oka.

Az üzemi méretben végzett kísérletünk is sikeresnek bizonyult, mert a kontrolltáptalajon 24,2 kg, a mangán-kloriddal kezelt 27,1 kg csiperkegomba termett 100–100 kg táptalajra vonatkoztatva. Tehát nagyüzemi termesztésnél a termésnövekedés 11 %-os volt.

Kísérleteinkről elmondható, hogy a $MnCl_2$ -dal kezelt táptalaj gombafovalakkal való átszövetése gyorsabban következett be, intenzívebb volt a 14. napra, mint a kontrolltáptalajnál. A termesztő helyiségben minden kezelés azonosan történt a kontroll- és a kísérleti táptalajon. Nem volt különbség a termesztő helyiség bal vagy jobb oldaláról szedett gombák tönkmérete, kalapjának nagysága, színe, alakja stb. között. Szemből nézve a gombapince bal oldalán a mangán-só nélküli (kontroll), a jobb oldalán a $MnCl_2$ -dal kezelt táptalajt helyeztük el. A 8. ábra (fénykép) a termést kezdeti állapotban mutatja be.

Irodalomjegyzék

- [1] Jakucs, E.: A gombák szerepe a cellulóz és lignin lebontásában / The role of fungi in degradation of cellulose and lignin. Mikológiai Közlemények (1990) 1-3 13–36.
- [2] Bessenyei, J.: Doktori értekezés. DOTE, Debrecen (1972)
- [3] Bonnen, A. M., L. H. Anton & A. B. Orth: Lignin-Degrading Enzymes of the Commercial Button Mushroom, *Agaricus bisporus* Appl. and Environ. Microbiology (1994) 60 960–965.
- [4] Eriksson, K. E.: Enzyme mechanisms involved in cellulose hydrolysis by the rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. Biotechnol. Bioeng. (1987) 20 317–332.
- [5] Vetter, J.: *Agaricus* és *Pleurotus* fajok ásványi elem tartalma/Mineral elements content of *Agaricus* and *Pleurotus* spp. Mikológiai Közlemények (1988) 3 189–197.
- [6] Lelley, J., A. Janssen.: Untersuchungen über Substrataufwertung im Austernpilzbau/Investigations in Supplementation of the Oyster Mushroom Substrate./In: Mitteil. der Versuchsanstalt für Pilzbau der Landwirtschaftskammer Rheinland (1993) 16 49–57.
- [7] László Rácz, Gábor Tasnádi: Examination of the effect of the addition of manganese to substrates of cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*). Acta Horticulturae (1998) 469 463–471.
- [8] Durrant, A. J., D. A. Wood & R. B. Cain: Lignocellulose biodegradation by *Agaricus* during solid substrate fermentation. J. of General Mikrobiol. (1991) 137 751–755.