

METABOLIZMUS *STREPTOMYCES AUREOFACIENS* V PRIEBEHU BIOSYNTÉZY CHLÓRTETRACYKLÍNU NA ŠKROBOVÝCH PÔDACH

J. ZELINKA, M. HUDEC

ČSAV, Oddelenie technickej mikrobiológie Biologického ústavu
Slovenskej akadémie vied v Boleráze

V predchádzajúcich prácach sme sledovali metabolizmus produkčného mikroorganizmu *Streptomyces aureofaciens* v priebehu biosyntézy chlór-tetracyklínu na fermentačných pôdach, kde zdrojom uhlíka bola sacharóza. Pokusy sme robili jednak v pokusnej výrobe, jednak vo veľkovýrobe [2, 9—11]. Keďže sa ukázalo, že za podmienok „nesterilnej fermentácie“ [1] dochádza na pôdach so sacharózou k častým kontamináciám, použil E. Bělík [3] obohatené pôdy, v ktorých nahradil sacharózu zemiakovým škrobom. Hydrolyzovaný škrob ako súčasť fermentačných pôd pri výrobe chlór-tetracyklínu navrhol už r. 1954 J. J. Goodman [6]. Aj v britskom patente z roku 1956 sa ako zdroj uhlíka navrhuje škrob [5]. Preto sme aj my prikrročili k sledovaniu biosyntézy chlór-tetracyklínu za podmienok „nesterilnej fermentácie“ na škrobových pôdach, avšak na rozdiel od doterajších autorov sme použili kukuričný škrob. Snažili sme sa vytvoriť podmienky pre kombinovanú výrobu *kukuričná škrobáreň—technický chlór-tetracyklín*, ktorá sa nám v daných podmienkach javila ekonomicky veľmi výhodnou.

V tejto práci sa zameriavame na sledovanie metabolizmu aminokyselín, redukujúcich látok, celkového dusíka a aminodusíka v priebehu biosyntézy antibiotika na škrobových pôdach. Ďalej porovnáваме priebeh biosyntézy na škrobových pôdach obohatených a na pôdach bežne používaných, v ktorých sa sacharóza nahradila kukuričným škrobom.

Experimentálna časť

Pokusy v pokusnej výrobe sa vykonali v drevených kadiach o obsahu 2000 litrov. Inštalácia a technologický postup pri tejto výrobe za použitia sacharózy boli už detailne opísané [2]. Bežné škrobové pôdy mali nasledujúce zloženie: kukuričný škrob 3,45 %, sójová múka 2 %, NaCl 0,2 %, CaCO₃ 0,4 %, (NH₄)₂SO₄ 0,2 %, kukuričný výluh (60 % sušiny) 0,5 %, melasa 0,2 %. Obohatené pôdy mali zloženie: kukuričný škrob 4,6 %, sójová múka 3 %, CaCO₃ 0,6 %, (NH₄)₂SO₄ 0,3 %, pričom obsah ostatných zložiek pôdy bol nezmenený. Pôda sa sterilizovala povarením a výsledné pH bolo 6,6—6,8. Benzylrodanid sa podľa V. Pecáka a spolupracovníkov [8] pridával v množstve 2 µg na 1 ml fermentačnej pôdy v 0, 10, 20 a 30 hodine fermentácie. V priebehu fermentácie sa vzdušnilo 0,8 objemom vzduchu na 1,0 objem fermentačnej pôdy za jednu minútu. Na analýzu sa brali filtráty fermentačnej pôdy, okrem stanovenia chlór-tetracyklínu, kde sa brala fermentačná pôda i s mycéliom. Voľné aminokyseliny filtrátu sa stanovili elektroforézou na papieri podľa O. Mikeša [7], pričom kvantitatívne vyhodnotenie sa urobilo podľa F. Bodeho [4]. Podrobné stanovenie aminokyselín vo filtrátoch fer-

mentačnej pôdy sme opísali v predchádzajúcej práci [9]. Ostatné zložky filtrátu pôdy sme stanovili ako v podmienkach pokusnej výroby na pôdach so sacharózou [2], pričom redukujúce látky po hydrolyze kyselinou solnou sme stanovili ako glukózu.

Výsledky

Tab. 1 a graf 1 znázorňujú metabolizmus aminokyselín, redukujúcich látok, celkového dusíka a aminodusíka v priebehu biosyntézy chlór-tetracyklínu.

Tabuľka 1

Metabolizmus aminokyselín v priebehu biosyntézy chlór-tetracyklínu na škrobových pôdach

Fermentácia A-17					
Hodina fermentácie	Asp	Glu	Neutr.	KGAM	Zásad.
v g/100 ml filtrátu pôdy					
0	0,040	0,060	0,285	0,118	0,320
5	0,034	0,060	0,234	0,068	0,129
15	0,028	0,060	0,138	0,056	0,054
20	0,018	0,044	0,114	0,056	0,044
25	0,022	0,040	0,108	0,030	0,040
30	stopy	0,046	0,102	0,028	0,038
35	stopy	stopy	0,039	0,026	0,027
40	stopy	stopy	0,033	0,016	0,027
45	stopy	stopy	0,024	0,016	0,027
50	stopy	stopy	0,024	0,010	0,027

Asp — kyselina asparágová

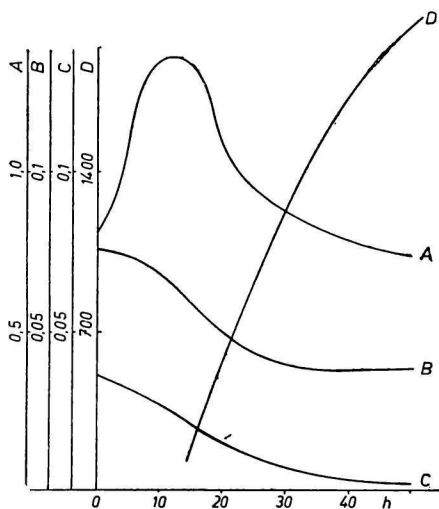
Glu — kyselina glutamová

Neutr. — neutrálne aminokyseliny ako alanín

KGAM — kyselina γ -aminomaslová

Zásad. — zásadité aminokyseliny, ako arginín . HCl

Pritom ide o výsledky jednej fermentácie z viacerých sledovaných fermentácií. Ostatné sledované fermentácie vykazovali podobný charakteristický priebeh. V tab. 2 sa porovnáva produkcia chlór-tetracyklínu na bežných pôdach a na obohatených škrobových pôdach. Ako vidieť, v krátkodobých fermentáciách za „nesterilných“ podmienok pokusnej výroby nemajú obohatené škrobové pôdy vplyv na zvýšenie produkcie chlór-tetracyklínu.



Graf 1. Priebek metabolizmu *Streptomyces aureofaciens* na škrobových pôdach.

A — g redukujúcich látok na 100 ml filtrátu pôdy

B — g celkového N na 100 ml filtrátu pôdy

C — g N-NH₂ na 100 ml filtrátu pôdy

D — µg CTC na ml fermentačnej pôdy

Tabuľka 2

Porovnanie produkcie chlór-tetracyklínu na bežných pôdach a na obohatených škrobových pôdach

Fermentor	Dĺžka fermentácie v hod.	Škrob v kg/700 l pôdy	CTC v µg/ml pôdy
A — 14/60	40	32	2050
B — 15/60	40	32	1550
A — 17/60	50	24	2082
B — 19/60	45	24	1978
B — 21/60	55	32	2082
A — 22/60	45	32	2094
B — 5/61	50	24	2024
B — 11/61	50	24	1494

∅ 32 kg = 1855 µg CTC/ml

∅ 24 kg = 1894 µg CTC/ml

Súhrn

V pokusnej výrobe za podmienok krátkodobej „nesterilnej“ fermentácie sa sledoval metabolizmus aminokyselín, redukujúcich látok, celkového dusíka a aminodusíka v priebehu biosyntézy chlortetracyklínu na škrobových pôdach. Súčasne sa zistilo, že za týchto podmienok v krátkodobých fermentáciách nemajú obohatené škrobové pôdy vplyv na zvýšenie produkcie chlortetracyklínu.

МЕТАБОЛИЗМ *STREPTOMYCES AUREOFACIENS* В ТЕЧЕНИИ БИОСИНТЕЗА ХЛОРТЕТРАЦИКЛИНА НА КРАХМАЛЬНЫХ СРЕДАХ

Я. ЗЕЛИНКА, М. ГУДЕЦ

ЧСАН, Отдел технической микробиологии Биологического института
Словацкой академии наук в Болеразе

В опытном производстве в условиях кратковременной «нестерильной» ферментации исследовался метаболизм аминокислот, редуцирующих веществ, общего азота и аминокислот азота в течении биосинтеза хлортетрациклина на крахмальных средах. Одновременно было обнаружено, что при этих условиях при коротковременных ферментациях обогащенные крахмальные среды не имеют влияния на увеличение продукции хлортетрациклина.

Поступило в редакцию 28. 9. 1961 г.

METABOLISMUS VON *STREPTOMYCES AUREOFACIENS* IM VERLAUF DER BIOSYNTHESE DES CHLORTETRACYCLINS AUF STÄRKEBÖDEN

J. ZELINKA, M. HUDEC

ČSAV, Abteilung für technische Mikrobiologie des Biologischen Instituts
an der Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Boleráz

In einer Versuchserzeugung wurde unter Bedingungen einer kurzfristigen „nicht-sterilen“ Fermentation der Metabolismus der Aminosäuren, der reduzierenden Stoffe, des Gesamtstickstoffs und des Aminostickstoffs im Verlauf der Biosynthese des Chlortetracyclins auf Stärkeböden untersucht. Gleichzeitig wurde festgestellt, dass unter diesen Bedingungen in kurzfristigen Fermentationen angereicherte Stärkeböden keinen Einfluss auf eine Erhöhung der Chlortetracyclin-Produktion ausüben.

In die Redaktion eingelangt den 28. 9. 1961

LITERATÚRA

1. Bělík E., Herold M., Doskočil J., Čs. patent 87 520 (1955). — 2. Bělík E., Herold M., Hudec M., Mišečka J., Zelinka J., Chem. zvesti 12, 121 (1958). — 3. Bělík E., osobné oznámenie (1959). — 4. Bode F., Biochem. Z. 326, 433 (1955). — 5. Britský patent 744 965 (1956). — 6. Goodman J. J., Kanadský patent 499 649 (1954). — 7. Mikeš O., Chem. listy 51, 138 (1957). — 8. Pecák V., Čížek S., Musil J., Čerkes L., Herold M., Bělík E., Hoffman J., Čs. mikrobiol. 3, 1 (1958). — 9. Zelinka J., Hudec M., Chem. zvesti 14, 240 (1960). — 10. Zelinka J., Hudec M., Biológia 15, 370 (1930). — 11. Zelinka J., Hudec M., Biológia 17, 53 (1962).

Do redakcie došlo 28. 9. 1961

Adresa autorov:

Inž. Ján Zelinka, C. Sc., inž. Mária Hudec, Boleráz, Oddelenie technickej mikrobiológie SAV.