

## K OTÁZKE AMINOKYSELÍN VO FERMENTAČNÝCH PÔDACH (III) METABOLIZMUS AMINOKYSELÍN PRI FERMENTÁCII KMEŇOM *STREPTOMYCES AUREOFACIENS*

J. ZELINKA, M. HUDEC

Oddelenie technickej mikrobiológie Biologického ústavu Slovenskej akadémie vied,  
pracovisko Boleráz

V predchádzajúcich prácach [6, 7] sme sledovali povahu a obsah aminokyselín v surovinách používaných vo fermentačných pôdach. Doteraz nie sú známe práce o metabolizme aminokyselín produkčného kmeňa *Streptomyces aureofaciens* za prevádzkových podmienok biosyntézy. Z. Vaněk [5] sledoval metabolizmus aminokyselín za laboratórnych podmienok s nízkoпродукčným kmeňom na pôde s 1 % kukuričného výluhu. Podľa intenzity škvŕn na chromatogramoch usúdil, že prevažná časť aminokyselín sa spotrebovala už v priebehu 24 hodín, zatiaľ čo tyrozín nebol vôbec asimilovaný ani v priebehu 48 hodín. D. Perlman a E. O'Brien [4] sledovali produkciu aminokyselín niektorých streptomycét (medzi nimi u *Streptomyces aureofaciens* na syntetickej pôde). Zistili, že kyselina glutamová bola 4. a 7. deň kultivácie jedinou aminokyselinou uvoľňovanou vo väčšom množstve do fermentačného prostredia. Desiaty deň zistili aj uvoľňovanie alanínu, fenyľalanínu, glycínu a kyseliny asparágovej. A. M. Bezborodov, E. P. Savaredov, L. E. Semkina a M. V. Fursenko [1] študovali aminokyseliny v živnej pôde a v mycéliu *Streptomyces aureofaciens* pri fermentácii na syntetickej pôde. Zistili, že možno badať určitú pravidelnosť pri asimilácii aminokyselín z pôdy. Ďalej zistili, že pri všetkých kombináciách aminokyselín sa ako prvá spotrebovala kyselina glutamová; rýchlo sa spotrebovala i kyselina asparágová, alanín a histidín. V hydrolyzáte mycélia bola kyselina glutamová prítomná v najväčších množstvách a celkový obsah voľných aminokyselín bol vyšší v mladých kultúrach.

V období 1958—1959 sme pomocou elektroforézy na papieri študovali metabolizmus aminokyselín pri fermentácii kmeňom *Streptomyces aureofaciens* v prevádzkových podmienkach.

### Experimentálna časť

Použili sme metódu kvalitatívnej a kvantitatívnej elektroforézy na papieri ako v predchádzajúcich prácach [6, 7]. Na analýzu sme použili 50  $\mu$ l filtrátu fermentačnej pôdy. Vzorky sme odoberali každých 5 hodín a po prerušení fermentácie. Roztok zmesi štandardných aminokyselín sme pripravili v súlade s postupom F. G. Fischera a H. Dörfela [3] tak, aby sa priblížil pomer aminokyselín štandardného roztoku k pomeru aminokyselín skúšanej vzorky. Metabolizmus sme sledovali u kmeňa *Streptomyces aureofaciens* BMK na pôde 8/8 [2] (aminokyseliny obsahuje sójová múka, kukuričný výluh a melasa), a to jednak v 100 (X) a 400 (Y, Z) litrových tankoch z nehrdzavejúcej ocele,

jednak v drevených kadiach o obsahu 2000 litrov (A, B) [2]. Plnenie všetkých nádrží bolo približne 50 %. Fermentácia v tankoch z nehrdzavejúcej ocele slúžila ako príprava inokula a vlastná fermentácia chlór-tetracyklínu prebiehala v drevených kadiach za ne-sterilných podmienok [2]. V tankoch X-17 a X-18 sa porovnávala rýchlosť nárastu kultúry na základe metabolizmu aminokyselín.

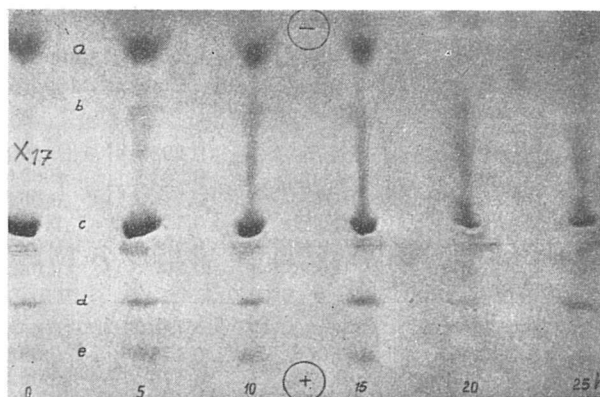
Tabuľka 1

Ozna- čenie fermen- tora	Hodina fermen- tácie	Kyselina asparágová	Kyselina glutamová	Neutrálne aminokyse- liny	Kyselina γ-amino- maslová	Zásadité amino- kyseliny
		v g/1000 ml filtrátu pôdy				
X-40	0	0,050	0,070	0,208	0,090	0,272
	5	0,046	0,066	0,201	0,094	0,250
	10	0,046	0,062	0,150	0,094	0,220
	15	0,022	0,042	0,120	0,090	0,060
	20	stopy	0,082	0,108	0,090	0,060
	24	stopy	0,058	0,100	0,082	0,054
X-51	0	0,050	0,056	0,189	0,098	0,194
	5	0,044	0,046	0,177	0,098	0,196
	10	0,028	0,036	0,178	0,092	0,194
	15	0,018	0,076	0,144	0,090	0,078
	20	0,014	0,114	0,123	0,080	0,080
	24	0,010	0,090	0,084	0,084	0,048
Y-21	0	stopy	0,020	0,144	stopy	0,216
	5	stopy	0,010	0,144	stopy	0,153
	10	stopy	0,010	0,132	stopy	0,057
	15	—	0,014	0,036	stopy	—
	20	—	0,044	0,054	stopy	—
	24	—	0,010	stopy	stopy	—
Z-22	0	stopy	0,038	0,180	stopy	0,144
	5	stopy	0,034	0,174	stopy	0,147
	10	stopy	0,042	0,162	stopy	0,142
	15	stopy	0,038	0,090	stopy	0,075
	20	—	0,050	0,093	stopy	0,075
	24	—	0,038	0,078	stopy	0,075
B-38	0	0,060	0,056	0,222	0,112	0,184
	5	0,042	0,052	0,198	0,110	0,068
	10	stopy	0,106	0,192	0,096	0,054
	15	—	0,064	0,174	0,088	0,050
	20	—	0,056	0,132	0,080	0,044
	25	—	0,038	0,108	0,070	0,034
30	—	0,030	0,102	0,076	0,026	
40	—	0,016	0,102	0,070	0,030	
45	—	0,018	0,096	0,064	0,030	
48	—	0,014	0,090	0,054	0,022	

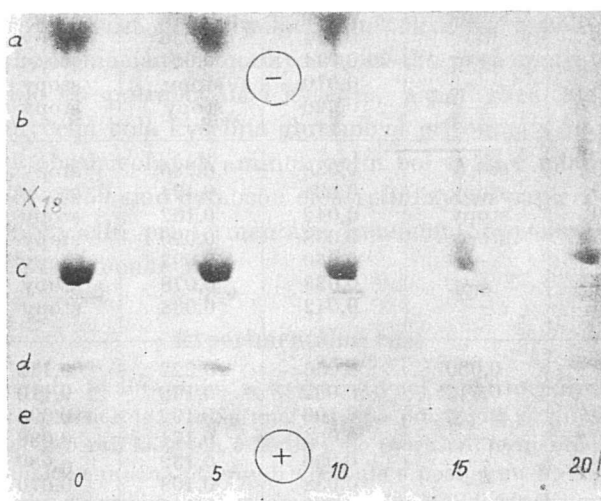
## Výsledky

Kvantitatívne stanovenie aminokyselín v priebehu fermentácie je zrejmé z tab. 1. Priebeh metabolizmu aminokyselín znázorňuje obr. 1 až 3.

Z výsledkov je zrejmá pravidelnosť v metabolizme aminokyselín, ktorú možno v našich podmienkach charakterizovať takto: Asi v 15. hodine nastáva vo fermentačnej pôde pozorovateľný pokles zásaditých aminokyselín

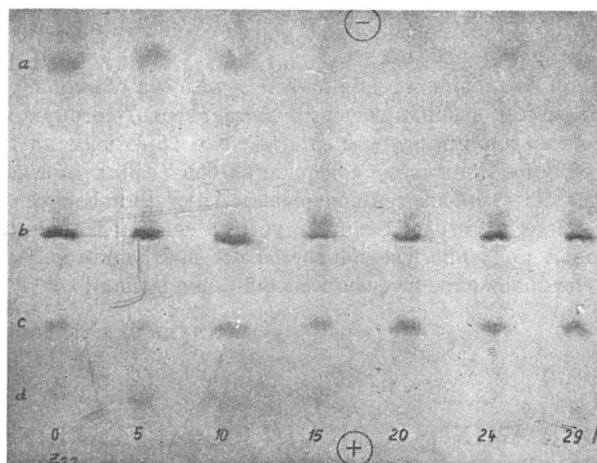


Obr. 1. Elektroforegram voľných aminokyselín vzoriek fermentačnej pôdy v tanku X-17. *a* — zásadité aminokyseliny, *b* — kyselina  $\gamma$ -aminomaslová, *c* — neutrálne aminokyseliny, *d* — kyselina glutamová, *e* — kyselina asparágová.



Obr. 2. Elektroforegram voľných aminokyselín vzoriek fermentačnej pôdy v tanku X-18. *a* — zásadité aminokyseliny, *b* — kyselina  $\gamma$ -aminomaslová, *c* — neutrálne aminokyseliny, *d* — kyselina glutamová, *e* — kyselina asparágová.

lín, do toho času mierne klesá obsah kyseliny glutamovej; asi po ďalších piatich hodinách nastáva zjavný pokles kyseliny asparágovej a obsah kyseliny glutamovej mierne stúpane. Pri neutrálnych aminokyselinách sa javí pozvoľný pokles priebehom celej fermentácie. Treba poznamenať, že počiatočný obsah aminokyselín ovplyvňuje ich obsah v surovinách.



Obr. 3. Elektroforegram voľných aminokyselín vzoriek fermentačnej pôdy.

*a* — zásadité aminokyseliny, *b* — neutrálne aminokyseliny, *c* — kyselina glutamová, *d* — kyselina asparágová.

Porovnaním obr. 1 (X-17) a obr. 2 (X-18) možno podľa ubúdania zásaditých aminokyselín poukázať na rýchlosť nárastu produkčného kmeňa — aktinomycéty v očkovačom tanku X-18 predstihli časovo vo svojom raste mikroorganizmy v tanku X-17.

### Súhrn

Pri štúdiu metabolizmu aminokyselín kmeňa *Streptomyces aureofaciens* za prevádzkových podmienok sa zistila pravidelnosť, ktorú možno v podmienkach vykonaných pokusov charakterizovať takto: Asi v 15. hodine nastáva vo fermentačnej pôde zrejmy pokles obsahu zásaditých aminokyselín; do tohto času mierne klesá obsah kyseliny glutamovej; asi po ďalších piatich hodinách nastáva zjavný úbytok kyseliny asparágovej a obsah kyseliny glutamovej mierne stúpane. Pri neutrálnych aminokyselinách sa javí pozvoľný pokles v priebehu celej fermentácie.

## К ВОПРОСУ АМИНОКИСЛОТ В ФЕРМЕНТАЦИОННЫХ СРЕДАХ (III) МЕТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ ШТАММОМ *STREPTOMYCES AUREOFACIENS*

Я. ЗЕЛИНКА, М. ГУДЕЦ

Отделение технической микробиологии Биологического института Словацкой  
Академии Наук, опытная станция Болераз

### Выводы

При исследовании метаболизма аминокислот штамма *Streptomyces aureofaciens* в заводских условиях была обнаружена закономерность, которую в условиях проведения опытов можно характеризовать так: Около 15-го часа наступает в ферментационной среде видимое понижение содержания базических аминокислот; до этого периода незначительно уменьшается содержание глютаминовой кислоты; в течении дальнейших пяти часов наступает видимый убыток аспарагиновой кислоты а содержание глютаминовой медленно увеличивается. У нейтральных аминокислот появляется постепенное понижение в течении целой ферментации.

Поступило в редакцию 29. 6. 1959 г.

## ZUR FRAGE DER AMINOSÄUREN IN FERMENTATIONSBÖDEN (III) METABOLISMUS DER AMINOSÄUREN BEI DER FERMENTATION MIT DEM STAMM *STREPTOMYCES AUREOFACIENS*

J. ZELINKA, M. HUDEC

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

### Zusammenfassung

Beim Studium des Metabolismus der Aminosäuren des Stammes *Streptomyces aureofaciens* in Betriebsbedingungen wurde eine Regelmässigkeit festgestellt, welche man unter den Bedingungen der durchgeführten Versuche wie folgt charakterisieren kann: Ungefähr in der 15 Stunde tritt im Fermentationsboden ein deutliches Sinken des Gehalts an basischen Aminosäuren ein; zu dieser Zeit sinkt der Gehalt an Glutaminsäure mässig; nach weiteren etwa fünf Stunden tritt eine deutliche Abnahme der Asparaginsäure ein und der Gehalt an Glutaminsäure steigt mässig an. Bei den neutralen Aminosäuren zeigt sich ein allmähliches Sinken im Verlaufe der gesamten Fermentation.

In die Redaktion eingelangt den 29. 6. 1959

### LITERATÚRA

1. Bezborodov A. M., Savaredov E. P., Semkina L. E., Fursenko M. V., *Referát na sympóziu o antibiotikách*, Praha 1959. — 2. Bělik E., Herold M., Hudec M., Miščka J., Zelinka J., *Chem. zvesti* 12, 121 (1958). — 3. Fischer F. G., Dörfel

H., *Biochem. Z.* 324, 544 (1953). — 4. Perlman D., O'Brien E., *J. Bact.* 75, 611 (1958). — 5. Vaněk Z., *Některé problémy biosynthesy chlortetracyklínu*, Kandidátska dizertačná práca, Biologický ústav ČSAV, Praha 1956. — 6. Zelinka J., Hudec M., *Chem. zvesti* 12, 620 (1958). — 7. Zelinka J., Hudec M., *Chem. zvesti* 13, 193 (1959).

Do redakcie došlo 29. 6. 1959

*Adresa autorov:*

*Inž. Ján Zelinka, kandidát chemických vied, inž. Marius Hudec, Slovenská akadémia vied, Biologický ústav, oddelenie technickej mikrobiológie, pracovisko Boleráz.*