

## Vplyv zmáčadiel na produkciu penicilínu V

J. FUSKA, H. HRONSKÁ

*Biotika, n. p., Vývojové laboratória, Slovenská Ľupča*

Pri riešení odpeňovania je dôležité voliť také protipenidlo, ktoré je v používaných koncentráciách netoxické na produkčný mikroorganizmus a nemá nepriaznivý vplyv na produkciu penicilínu. Mnohé protipenidlá majú často charakter zmáčadiel a ich odpeňovací účinok obyčajne závisí od celkového zloženia pôd a od technologických podmienok [5]. Často sa napríklad používajú na potláčanie peny vyššie mastné kyseliny, ktoré pri odpeňovanom účinku ostávajú bez vplyvu na produkciu penicilínu [2, 6]. Účinok týchto látok sa zjavne mení, ak sa vykoná ich sulfonácia. Účinok protipenidiel sa často neprejavuje na produkciu vtedy, ak sa odpeňovacie látky pridávajú v celom množstve na začiatku fermentácie, avšak výrazne sa prejaví pri postupnom pridávaní počas fermentácie [7]. Vplyv olejov na produkciu penicilínu sa zmení aj po ich sulfonácii. Niekedy sa po sulfonácii prejaví účinok takto upraveného oleja znížením produkcie penicilínu, avšak môže sa prejavíť i jej zvýšením a veľmi často sa tento účinok prejavuje na morfológii produkčného kmeňa. Protipenidlá, podobne ako zmáčadlá, znižujú povrchové napätie pôd, pričom znižujú aj rýchlosť absorpcie kyslíka [3]. Prevod kyslíka je pre submerzné fermentácie veľmi dôležitý a jeho stanoveniu sa venuje veľká pozornosť [4].

Medzi moderné a vysokoúčinné odpeňovacie prostriedky treba zaradiť silikónové oleje a ich emulzie, ktoré majú väčšinou výborný odpeňovací účinok a ostávajú bez vplyvu na produkciu penicilínu.

Pri riešení odpeňovania mnohé látky označované ako zmáčadlá prejavili v našich pokusoch odpeňovacie schopnosti s výrazným účinkom na produkciu penicilínu V. Preto sme sa zamerali na overenie vplyvu zmáčadiel na produkciu penicilínu. Dosiahnuté výsledky sa len z čiastky overili pokusmi v laboratórnych fermentačných tankoch a vzťahujú sa na prácu za laboratórnych podmienok.

### Experimentálna časť

#### *Materiál a metódy*

##### *Použitý mikroorganizmus*

Ako produkčný mikroorganizmus sme pri našich pokusoch použili kmeň *Penicillium chrysogenum* NH. Kmeň sme prechovávali vo forme spór na prose. Vysušnú konzervu s kultúrou sme uchovávali pri bežnej laboratórnej teplote. Tesne pred použitím sme do konzervy pridali sterilnú vodu a zmytím spór sme získali spórové inokulum, ktoré sme upotrebili na očkovanie inokulačných baniek.

*Pôdy a ich zloženie*

Pre prípravu vegetatívneho inokula sme použili pôdu o tomto zložení: glukóza 2,4 g, kukuričný výluh (60 % sušiny) 2,2 g, uhličitan vápenatý 0,12 g, dusičnan sodný 0,18 g, fosforečnan draselný primárny 0,03 g, síran horečnatý kryšt. 0,06 g, síran zinočnatý 0,12 g, síran mangánatý kryšt. 0,0042 g, sójový olej 0,12 ml, vodovodná voda 70 ml. pH pôdy sme pred sterilizáciou neupravovali. Produkčná pôda mala toto zloženie: laktóza 3,0 g, kukuričný výluh (60 % sušiny) 0,996 g, arašidová múka 1,2 g, uhličitan vápenatý 0,39 g, síran horečnatý kryšt. 0,06 g, síran zinočnatý kryšt. 0,012 g, tiosíran sodný kryšt. 0,144 g, kyselina fenoxyoctová 0,12 g, sójový olej 0,12 ml, vodovodná voda 60 ml. pH pôdy po sterilizácii bolo 6,5. Do jednotlivých produkčných baniek sme ešte pred sterilizáciou pridávali určené množstvo jednotlivých zmáčadiel, ktoré sú uvedené v tab. 1. Tam, kde sme pridali zmáčadlá, vynechali sme sójový olej. Pôdy sme plnili po 60 ml do 500 ml varných baniek a sterilizovali sme ich 30 minút pri 121 °C.

Tabuľka 1  
Zmäčadlá a ich zloženie

Číslo	Technický názov zmáčadla	Chemické zloženie zmáčadla
1	Slovasol O	kondenzačný produkt etylénoxydu s oleylalkoholom
2	Sulfopol SE 80 Retardon A	sulfónovaný ricínový olej kondenzačný produkt aminoderivátov alkaliekej hydrolýzy bielkovín a mastných kyselín
4	Syntapon CP Tergitol	cetylsulfát hexadecylsulfónan sodný
6	Synferol AH Neokal PR	sulfónovaný butylester kyseliny olejovej dibutylnaftalénsulfónan sodný
8	Sulfosol	sulfónovaný sójový olej
9	Dubosol E	sodné soli vo vode rozpustných sulfokyselín

*Zmäčadlá*

Pre pokusy sme použili dovedna 9 rozličných zmáčadiel. Obchodný názov, ako aj ich chemické zloženie sú uvedené v tab. 1.

*Analytické metódy*

Aktivitu penicilínu sme stanovovali biologickou kotúčikovou metódou [1]. Ako testovací mikroorganizmus slúžil *Bacillus subtilis* SDPC.

*Kultivačné podmienky*

Inokulačné pôdy sme očkovali 2 ml spórovej suspenzie. Kultivácia trvala 42 hodín. Produkčné banky sme očkovali 6 ml vegetatívneho inokula. Z jednotlivých koncentrácií každého zmáčadla sme očkovali po 4 banky v jednom pokuse, pričom sme pokus opakovali 3 krát. Fermentáciu sme uskutočnili na rotačnej trepačke, ktorá mala 220 ot./min. a polomer kružnice opisovanej výstredníkom 5,5 cm. Penicilín sme stanovovali za 96,

120 a 144 hodín. V tabuľkách uvádzame priemerné hodnoty, prípadne krajné hodnoty namerané v jednotlivých pokusoch.

### Výsledky a diskusia

Z dostupných zmáčadiel sme pre naše pokusy vybrali deväť zmáčadiel. Predpokladali sme, že jednotlivé látky budú mať na produkčný mikroorganizmus, ako aj na produkciu penicilínu rôzny účinok. Preto sme si zmáčadlá overili v štyroch rôznych koncentráciách. Aby sme mohli porovnať vplyv skúšaných látok na produkciu penicilínu, použili sme ako kontrolu namiesto zmáčadiel sójový olej.

Pri overovaní vplyvu zmáčadiel sme prišli k poznatku, že zmáčadlá možno podľa účinku na produkciu penicilínu rozdeliť na tri skupiny. Do prvej skupiny možno zaradiť tie zmáčadlá, ktoré prítomné aj vo veľmi nízkej koncentrácii v produkčnej pôde zjavne znižujú produkciu penicilínu V. (V tab. 2 sú uvedené pod číslom 2 a 3.) Zvyšovanie ich koncentrácie z 0,005 % na 0,2 % je už takmer bez ďalšieho vplyvu na produkciu penicilínu V. Do druhej skupiny možno zaradiť tie zmáčadlá, pri ktorých sa nepozorovalo ovplyvnenie produkcie penicilínu V v porovnaní s kontrolou. I keď sa zdá, že znižujú produkciu antibiotika, toto zníženie je malé a ťažko ho jednoznačne pripisovať účinkom použitých zmáčadiel. Tieto látky sú v tab. 2 uvedené pod číslom 4, 5, 6. Tretiu skupinu látok uvedených v tab. 2 pod číslom 7 až 10 tvoria zmáčadlá so stimulačným účinkom. Vo veľmi nízkych koncentráciách ostávali tieto

Tabuľka 2

Vplyv použitých zmáčadiel o rôznych koncentráciách na produkciu penicilínu V

Číslo	Látka	Koncentrácia použitej látky v %			
		0,005	0,01	0,1	0,2
		Produkcia penicilínu V v mj/ml za 144 hodín			
1	sójový olej	—	—	—	2220
2	Slovasol O	1935	2045	1775	1750
3	Sulfopol SE 80	1520	1590	1480	1480
4	Retardon A	2140	2153	2080	2113
5	Syntapon CP	2120	2140	2190	2139
6	Tergitol	1940	2050	2120	2095
7	Synferol AH	2275	2200	2230	2506
8	Neokal PR	2030	2450	2600	2511
9	Sulfosol	2090	2100	2320	2472
10	Dubosol E	2100	2237	2327	2607

látky bez účinku, avšak vo vyšších koncentráciách sa prejavili ich stimulačné účinky na produkciu penicilínu V.

Aby sme zistili, či ďalšie zvyšovanie koncentrácie zrnáčaďla bude mať ešte vplyv na produkciu penicilínu, zvýšili sme v prípade jedného zrnáčaďla koncentráciu až do 0,8 % (tab. 3). Presvedčili sme sa, že zvyšovanie koncentrácie nad 0,2 % nezvyšuje produkciu antibiotika oproti tejto koncentrácii. Podľa dosiahnutých výsledkov možno koncentráciu zrnáčaďiel okolo 0,2 % považovať za optimálnu.

Tabuľka 3

Vplyv rôznych koncentrácií Sulfosolu na produkciu penicilínu V

Číslo	Látka	Koncentrácia použitej látky (%)	Produkcja penicilínu V mj/ml za 144 hodín
1	sulfosol	0,005	2040
	sulfosol	0,01	2105
	sulfosol	0,1	2385
4	sulfosol	0,2	2410
	sulfosol	0,4	2430
6	sulfosol	0,8	2410

Počas fermentácií sme sledovali aj mikroskopický obraz submerznej kultúry. Zistili sme, že zrnáčaďlá poväčšine ovplyvňovali morfológický vzhľad kultúr. Látky, ktoré sa prejavili ako stimulačné, vyvolávali mierne zhrubnutie vlákien mycélia, vlákna na koncoch boli plytko rozoklané a kyjovite zhrubnuté. Vetvenie vlákien bolo bohaté s krátkymi postrannými vláknami. Vlákna kultúr, ktoré vyrastali na pôdach s prídavkom zrnáčaďiel bez stimulačného účinku alebo so zrnáčaďlami s inhibičným účinkom, boli tenké, bez vetvenia na konci vlákien a konce vlákien boli stenčené. Postranné vlákna boli tenké, dlhé a v malom počte. Morfológické znaky sme porovnávali s kultúrami, ktoré vyrastali na pôdach so sójovým olejom, kde sa prejavujú ich typické znaky.

Pri ďalšom overovaní vplyvu zrnáčaďiel sme urobili niekoľko pokusov, ktoré by mohli vysvetliť rôzny účinok zrnáčaďiel na produkciu penicilínu V. Ukázalo sa, že stimulačný účinok, akoby sa mohlo usudzovať z prvých výsledkov, nemožno pripisovať naviazanej sulfoskupine. Podobne nemožno stimulačný účinok pripisovať zvýšeniu koncentrácie síry v produkčnej pôde. Prídavanie síry vo forme sulfoskupiny ani vo forme tiosíranu produkciu nezvyšovalo. Takisto možno z pokusov zistiť, že sulfoskupina samotná môže mať priaznivý i nepriaznivý vplyv na produkciu penicilínu V.

Tabuľka 4  
Vplyv rozličných zmačadiel na produkciu penicilínu V

Číslo	Látka	I. séria		II. séria		III. séria		Celkový aritmetický priemer
		Produkcia penicilínu V v mj/ml za 144 hodín						
		od—do	priemer	od—do	priemer	od—do	priemer	
1	sójový olej	1890—2280	2180	1980—2220	2120	2040—2420	2360	2220
2	Slovasol O	1650—1840	1740	1720—1860	1820	1690—1710	1690	1750
3	Sulfopol SE 80	1390—1480	1420	1420—1594	1530	1480—1510	1490	1480
4	Retardon A	1890—2110	1980	2020—2100	2080	2030—2300	2280	2113
5	Tergitol	1740—1970	1910	1930—2300	2196	1940—2130	2180	2095
6	Syntapon CP	1830—2090	2010	1780—2204	2148	2100—2310	2260	2139
7	Synferol AH	2200—2540	2490	2350—2600	2490	2500—2670	2540	2506
8	Neokal PR	2380—2460	2430	2590—2610	2600	2480—2620	2503	2511
9	Sulfosol	2290—2570	2490	2470—2507	2498	2370—2470	2430	2472
10	Dubosol E	2590—2687	2607	2570—2690	2610	2480—2590	2570	2605

Všetky zmačadlá boli použité o koncentrácii 0,2 %. Uvádajú sa hraničné a priemerné hodnoty z každej pokusnej série, ako aj priemerné hodnoty všetkých troch sérií.

Domnievame sa, že dosiahnuté výsledky potvrdzujú fyzikálny, ako aj chemický mechanizmus účinku zmáčadiel. V procese submerznej fermentácie zmáčadlá ovplyvňujú prenos kyslíka zo vzduchu do pôdy a z pôdy do bunky. Pravdepodobne sa prejavia i ovplyvnením prechodu iných metabolitov cez bunkovú blanu. Tieto procesy sú podstatou stimulačného účinku na produkciu penicilínu V. Okrem toho zmáčadlá prejavujú svoje špecifické chemické účinky jednak na bunkovú blanu, jednak po preniknutí do bunky na jej metabolismus. Tým možno vysvetliť znižovanie produkcie penicilínu V pri použití niektorých zmáčadiel.

### Súhrn

Overil sa vplyv deviatich dostupných zmáčadiel na produkciu penicilínu V kmeňom *Penicillium chrysogenum* za laboratórnych podmienok.

Podľa tohto vplyvu možno zmáčadlá rozdeliť na tri skupiny. Prvá skupina zmáčadiel prejavovala zreteľný stimulačný účinok na produkciu penicilínu V oproti kontrolným fermentáciám na pôde so sójovým olejom. Druhá skupina dáva približne rovnaké výťažky ako kontrola, zatiaľ čo zmáčadlá tretej skupiny výťažky znižujú.

Predpokladáme, že podstatou stimulačného účinku týchto zmáčadiel sú ich fyzikálno-chemické vlastnosti. Ich chemické vlastnosti môžu však tento stimulačný účinok čiastočne alebo úplne potlačiť, čo sa prejaví znížením produkcie penicilínu V.

### ВЛИЯНИЕ СМАЧИВАЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА ПРОИЗВОДСТВО ПЕНИЦИЛЛИНА V

Я. Фуска, Г. Гронска

Биотика, н. п. Исследовательская лаборатория, Словацкая Лупча

Проверялось влияние девяти доступных смачивающих веществ на производство пенициллина V рода *Penicillium chrysogenum* в лабораторных условиях.

По характеру действия смачивающие вещества можно разделить на три группы. Первая группа смачивающих веществ имела явно стимулирующее действие на производство пенициллина V по сравнению с контрольными ферментациями на почве с соевым маслом. Вторая группа дает, приблизительно, одинаковые результаты по сравнению контрольными, в то время как смачивающие вещества третьей группы имеют заниженные результаты.

Считаем, что основой стимулирующего действия этих смачивающих веществ являются их физико-химические свойства. Однако их химические свойства могут это стимулирующее действие частично или полностью подавить, в результате чего производство пенициллина V понижается.

EINFLUSS VON NETZMITTELN AUF DIE PRODUKTION  
VON PENICILLIN V

J. Fuska, H. Hronská

Nationalunternehmen „Biotika“, Entwicklungslaboratorien, Slovenská Lupča

Bei neun zugänglichen Netzmitteln wurde deren Einfluss auf die Produktion von Penicillin V mittels des Stamms *Penicillium chrysogenum* unter Laboratoriumsbedingungen nachgeprüft.

Gemäss diesem Einfluss kann man die Netzmittel in drei Gruppen einteilen. Die erste Gruppe von Netzmitteln brachte eine deutliche stimulierende Wirkung auf die Produktion von Penicillin V gegenüber Kontrollfermentationen auf einem Boden mit Sojaöl zum Ausdruck. Die zweite Gruppe ergibt annähernd die gleichen Ausbeuten wie die Kontrolle, wogegen die Netzmittel der dritten Gruppe diese Ausbeuten erniedrigen.

Es wird die Annahme ausgedrückt, dass das Wesen der stimulierenden Wirkung dieser Netzmittel deren physikalisch-chemische Eigenschaften sind. Es können jedoch deren chemische Eigenschaften diese Stimulationswirkung teilweise oder zur Gänze unterdrücken, was durch eine Erniedrigung der Produktion von Penicillin V zum Ausdruck gelangt.

## LITERATÚRA

1. Balan J., Betina V., *Biológia* **14**, 513 (1959).
2. Brit. pat. 700 316 (1953).
3. Deindorfer F. H., *Appl. Microbiol.* **3**, 253 (1958).
4. Gualandi G., Morisi G., Ugolini G., Chain E. B., *Proceedings of the Symposium on Antibiotics*, 384. Praha 1960.
5. Moos H. V., Morse R. E., U. S. pat. 2 666 017 (1957).
6. Rollinson G. N., *J. Appl. Bacteriol.* **17**, 190 (1954).
7. Takeda K., Suzuki W., *J. Antibiot. Jap.* **2**, suppl. B, 31 (1949).

Do redakcie došlo 19. 12. 1961

V revidovanej podobe 19. 10. 1962

*Adresa autorov:**Inž. Ján Fuska, Helena Hronská, Biotika, n. p., Slovenská Lupča.*