

# Vliv podmínek fermentace na utváření morfologie penicilií

Dr. VLASTA MATELOVÁ, CSc., Výzkumný ústav antibiotik a biotransformací, Roztoky u Prahy

*Klíčová slova: Penicillium chrysogenum, morfologie, podmínky fermentace, produkce penicilinu*

Formy mycelia kmenů produkujících penicilin lze rozdělit do dvou kategorií: na vláknité a peletové. Vláknitá forma myceliární hyfy, se kterou se pracovalo, je příčinou propletení vláken a vytváření velmi viskózních suspenzí zejména v oblastech s nízkou střížní rychlostí, což vede ke zhoršení podmínek pro přenos hmoty a tepla;

míchání se stává méně účinné. Tyto faktory pak ovlivňují růst produkčního organismu, jeho morfologii a tvorbu antibiotika [1].

Ačkoliv morfologie vláknitých hub hraje při fermentačních procesech důležitou úlohu, v literatuře se užívá k vyjádření kvalitativní charakterizace morfologie pouze



termínů např. „krátké fragmentované mycelium“, „delší větvené mycelium“ atd. [2, 3]. Vzhledem k důležitosti morfologie při optimalizaci fermentačních procesů a objektivizaci při výběru kmenů pro převod do výrobního měřítka byl učiněn pokus o definici vlivů podmínek procesu na její utváření.

Aby získané poznatky nabyly obecného charakteru, pracovalo se se čtyřmi vysokoprodukčními kmeny lišícími se navzájem genealogickou nepřibuzností. Byly to kmeny: *Penicillium chrysogenum* UV XXVII/74-3, Cu 7/8 PFP-10, 65/41-19 a NMU 2/40-11.

Laboratorní podmínky, při kterých byly sledovány morfologické změny kultury, ukazuje tab. 1.

Tabulka 1

Označení podmínek fermentace	Chod rotačního třepacího stroje		Počet zarážek ve fermentační baňce
	počet ot/min	excentr mm	
A	120	12	0
B			1
C			3
D			0
E	240	25	0
F			1
G			3
H			0
CH	360	30	1
			3
			0
			3

Fermentační postup byl standardní, fermentační pokusy byly prováděny v 500 ml varných baňkách, zarážky ve formě vřpy byly situovány v dolním kvadrantu nádoby. V průběhu fermentace, která jednotně probíhala 9 dnů, byla sledována produkce penicilinu a mikroskopický obraz.

Příprava vzorku pro mikroskopická pozorování: 1 ml vzorku fermentační kapaliny byl 100krát zředěn destilovanou vodou a roztřepáván na rotačním třepacím stroji v průběhu 10 minut. Měření byla prováděna ve 24hodinových intervalech v 10 paralelách. Měřena byla délka hlavní osy mycelia, celková délka všech částí hyfy a počet větvení. Průměrné výsledky jsou uvedeny v tabulce 2.

Kmeny, se kterými se pracovalo, se navzájem za všech podmínek fermentace výrazně morfologicky odlišují. Extrémně diferentní jsou kmeny 65/41-19 a Cu 7/8 PFP-10. Kmen 65/41-19 vytváří dlouhá štíhlá vlákna dosahující délky více než 200  $\mu\text{m}$ , minimálně se větví: opačným způsobem lze charakterizovat kmen Cu 7/8 PFP-10, jehož mycelium je velice krátké, dosahuje délky maximálně do 100  $\mu\text{m}$ , vlákna jsou silná s poměrně značným větvením. Kmen UV XXVII/74-3 má vlákna rovněž kratší a slabší než kmen Cu 7/8 PFP-10, která se větví méně intenzivně. Kmen značený NMU 2/40-11 vytváří vlákna středně dlouhá dosahující délky do 140  $\mu\text{m}$ , mycelium se bohatě větví, takže celková délka všech částí hyfy se pohybuje kolem 200  $\mu\text{m}$ .

Podmínky fermentace v žádném případě nemění typ mycelia, pouze prodlužují či zkracují délku hlavní osy, zvyšují či snižují počet větvení hyf a tím celkovou délku všech částí mycelia, avšak vždy je zachována relace mezi kmeny, resp. nemění se pořadí mezi kmeny ve sledovaných ukazatelích, i když některé kmeny reagují na změny podmínek míchání intenzivněji, jako např. kmen 65/41-19, nebo minimálně jako např. kmen Cu 7/8 PFP-10. Výrazněji se uplatňuje vliv počtu otáček než počet zarážek, se zvyšujícím se počtem otáček zkracuje se délka hlavní osy hyfy, počet větvení i celková délka všech částí mycelia.

Současně se sledováním morfologických změn byla ověřována i produktivita kultur v závislosti na podmínkách fermentace. Ve fermentačních baňkách bez zarážek se zvyšujícím se počtem otáček u všech kmenů vzrůstá výťažnost penicilinu. Zavedením jedné zarážky při 240 ot/min nastal pokles produktivity antibiotika pouze u jednoho kmene, a to 65/41-19, při 3 zarážkách a uvedených otáčkách klesá u všech kmenů produkční schopnost. Jsou-li fermentace prováděny při 300 otáčkách, pak za-

vedení jedné zarážky do fermentační nádoby má negativní vliv již na většinu kmenů, výjimkou je pouze kmen Cu 7/8 PFP-10, totéž platí při fermentacích prováděných při 300 otáčkách/min a 3 zarážkách. Z hlediska zvýšeného namáhání mycelia vlivem zarážek podléhá tomuto vlivu nejvíce kmen rostoucí v dlouhých vláknech, nejméně

Tabulka 2. Vliv podmínek fermentace na utváření morfologie penicilií a produkci penicilinu

Kmen	Podmínky fermentace	Morfologický obraz			penicilin /ml
		délka hlavní hyfy $\mu\text{m}$	celk. délka všech částí hyfy $\mu\text{m}$	počet větvení	
UV XXVII/74-3	A	120	150	0,73	3 200
Cu 7/8 PFP-10		90	120	1,08	3 600
65/41-19		240	300	0,73	5 500
NMU 2/40-11		140	210	2,04	6 600
UV XXVII/74-3	B	120	165	1,44	4 860
Cu 7/8 PFP-10		105	135	1,61	5 200
65/41-19		240	330	1,13	5 700
NMU 2/40-11		135	240	2,34	5 500
UV XXVII/74-3	C	105	150	1,21	5 700
Cu 7/8 PFP-10		90	120	1,72	5 200
65/41-19		210	255	1,18	6 100
NMU 2/40-11		135	225	1,55	5 700
UV XXVII/74-3	D	105	125	0,53	16 800
Cu 7/8 PFP-10		90	120	1,20	6 800
65/41-19		195	285	0,88	29 600
NMU 2/40-11		120	200	1,47	23 900
UV XXVII/74-3	E	100	125	0,55	18 900
Cu 7/8 PFP-10		100	120	1,78	12 600
65/41-19		185	270	1,05	16 800
NMU 2/40-11		118	148	1,55	24 600
UV XXVII/74-3	F	100	140	0,97	11 800
Cu 7/8 PFP-10		90	110	1,40	9 000
65/41-19		190	210	1,08	8 060
NMU 2/40-11		96	140	1,20	14 300
UV XXVII/74-3	G	95	120	0,50	16 900
Cu 7/8 PFP-10		80	160	0,74	13 700
65/41-19		178	205	0,51	30 700
NMU 2/40-11		115	175	1,57	25 960
UV XXVII/74-3	H	95	121	0,78	12 500
Cu 7/8 PFP-10		80	110	0,68	17 300
65/41-19		150	190	0,73	25 200
NMU 2/40-11		91	125	1,20	25 000
UV XXVII/74-3	CH	100	130	0,90	7 300
Cu 7/8 PFP-10		70	115	1,30	17 500
65/41-19		155	185	0,82	16 400
NMU 2/40-11		95	135	1,27	17 900

kmen s krátkými vlákny. Důležitou předností kmenů je schopnost bohatě se větvit, kmen NMU 2/40-11, který se vyznačuje touto vlastností, podléhá destrukčnímu vlivu zarážek rovněž v menší míře.

Produkční schopnost všech uvedených kmenů byla ověřována v poloproduktu aparatuře a lze říci, že podmínkou pro využití kmene při fermentacích ve velkých fermentorech je, aby vytvořil dlouhá štíhlá vlákna a aby se intenzivně větvil. Těmto požadavkům nejlépe vyhovuje kmen NMU 2/40-11.

## Literatura

- [1] VAN SUIJDAM J. C., METZ Z.: Biotechnol. Bioneng. **23**, 1981, č. 1, s. 111—148.
- [2] METZ B. et al.: Biotechnol. Bioneng. **23**, 1981, č. 1, s. 149—162.
- [3] NASTAAS E. a WANG D. I. C.: Biotechnol. Bioeng. **23**, 1981, č. 12, s. 2803—2813.

Matelová, V.: Vliv podmínek fermentace na utváření morfologie penicilií. Kvas. prům. **31**, 1985, č. 7—8, s. 163—165.

Sledování vlivu podmínek fermentace na utváření morfologie



penicilii bylo zjištěno, že charakter mycelia je geneticky fixován a podmínky fermentace pouze spoludotvářejí aktuální morfologický obraz. Byl analyzován vztah: morfologie mycelia — produkční aktivita kultury. Byly specifikovány morfologické parametry určující uplatnění produkčních kmenů při výrobě penicilinu.

**Мателова, В.: Влияние условий ферментации на морфологию мицелия рода *Penicillium*. Квас. прум. 31, 1985, № 7—8, стр. 163—165.**

Изучением влияния условий ферментации на морфологию мицелия представителей рода *Penicillium* было обнаружено, что характер мицелия генетически определен и условия ферментации имеют влияние только на завершение настоящей морфологической картины. Было исследовано отношение: морфология мицелия — способность культуры продуцировать. Были специфицированы морфологические параметры, которые определяют возможности применения штаммов-продуцентов для производства пенициллина.

**Matelová, V.: Influence of the Fermentation Conditions on the Formation of *Penicillia* Morphology. Kvas. prům., 31, 1985, No. 7—8, pp. 163—165.**

The fermentation conditions affecting the morphological forms of *Penicillia* were studied; it was found the mycelium character to be genetically fixed and, the fermentation conditions only to cooperate in completing the actual morphology picture. The relationship was analysed between the mycelium morphology and the productive activity of the culture. The morphologic properties were specified that determine the usefulness of the producing strains in the penicillin production.

**Matelová, V.: Einfluß der Gärungsbedingungen auf die morphologische Bildung von *Penizillien*. Kvas. prům. 31, 1985, No. 7—8, S. 163—165.**

Durch Verfolgung der Gärungsbedingungen, die auf die morphologische Formgebung der *Penizillien* einwirken, wurde es gefunden, daß der Charakter des Myzels genetisch fixiert wird und die Gärungsbedingungen nur am Nachformen des aktuellen morphologischen Bildes gemeinsam funktionieren. Es wurde analysiert die Beziehung zwischen der Morphologie des Myzeliums und der Produktionsaktivität der Kultur. Die morphologischen, die Durchsetzung der Produktionsstämme bei Herstellung des *Penizillins*, definierenden Parameter wurden präzisiert.