

Racionalizace fermentačního procesu přípravy penicilinu

582.282.23 535.31

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

Klíčová slova: penicilin, fermentační postup, výměny půd, rationalizace

Při klasickém postupu přípravy penicilinu fermentační cestou, je-li použita jako zdroj uhlíku pomalu asimilovatelná laktosa, není v laboratorních podmínkách po začkování půdy již třeba zasahovat do průběhu fermentace. Tento způsob fermentace umožňuje v laboratorním měřítku dosažení výtěžků penicilinu kolem $30\ 000\ j.\ ml^{-1}$ při průměrné hodinové produkční rychlosti $130\ j.\ ml^{-1}$.

Naši snahou bylo vypracovat fermentační postup, který by přinášel výrazné zvýšení výtěžnosti. Sledovala se proto možnost prodloužení doby fermentace obohacením fermentační půdy v průběhu fermentace esenciálními živinami. V řadě případů došlo k prodloužení doby fermentace a k dosažení vyšších produkcí v absolutních hodnotách, avšak hodinová produkční rychlosť se snižovala. Proto se hledaly postupy, při kterých by hodinová produkční rychlosť byla zachována, event. zvýšena při získání úměrně vyššího výtěžku antibiotika [1].

Jako výhodný způsob vedení fermentace se projevilo odebrání části fermentační půdy z fermentační nádoby v průběhu fermentace a doplňování půdou vhodného složení na původní objem [2, 3]. Úspěch tohoto režimu vedení fermentace závisí na době, ve které se výměna provádí, na objemu vyměňované půdy a na složení média, kterým je snížený objem doplněn.

Alternativně v průběhu fermentace byla výměna provedena jednorázově ve 3. až 9. dnu fermentace nebo opakovaně počínajíc 3. dnem ve 24, 48, 72 či 96hodinových intervalech končíc 23. dnem fermentace.

Na obr. 1 je uveden průběh standardní fermentace penicilinu provedené kontrolním postupem.

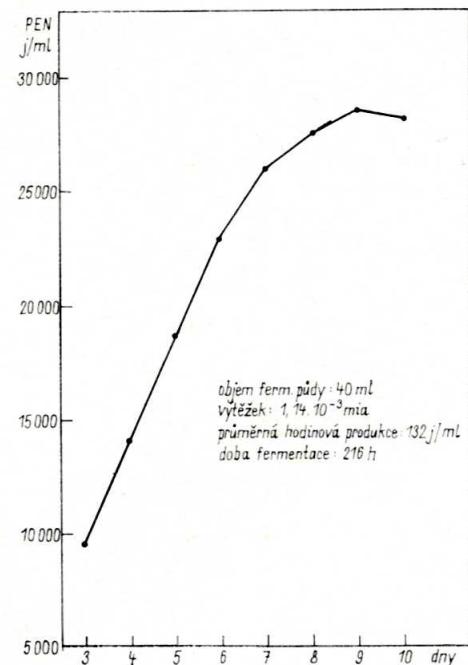
Obrázek 2 vystihuje optimalizované doby výměny fermentační půdy.

Z kalkulace procesu vyplynulo, že ekonomicky nevhodnější je v průběhu fermentace provádět 2–3 ředění, při aplikaci dalších výměn sice celková výtěžnost v mia vzhledem k zvětšujícímu se objemu získané půdy stoupá, avšak obsah penicilinu v odebraných podílech půdy klesá.

Úspěch této technologie závisí na rychlosti růstu produkčního organismu; podmírkou je, aby po naředění půdy byla do 24 hodin obnovena biomasa na koncentraci před ředěním, není-li tomu tak, stagnuje biosyntéza penicilinu. Stagnace je sice většinou dočasná, ale ekonomika procesu vzhledem k prodlevě v tvorbě penicilinu se výrazně zhoršuje.

Obrázek 3 demonstreuje ukázky závislosti rychlosti tvorby penicilinu na obnovení obsahu biomasy vlivem velikosti ředění fermentační půdy.

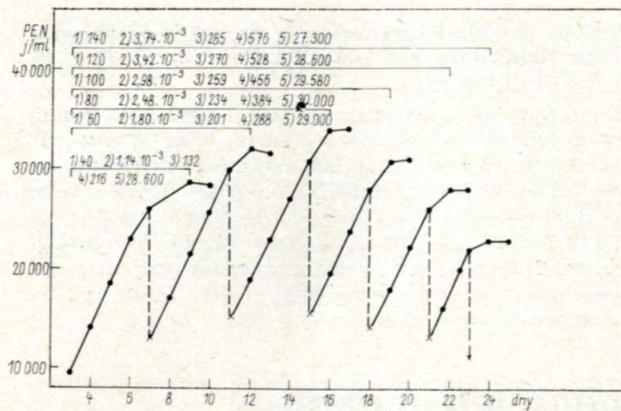
Zpoždění v nastupující tvorbě penicilinu lze sice vykompenzovat prodloužením intervalu pro další ředění, ale celková bilance procesu je zhoršena.



Obr. 1. Standardní fermentace penicilinu

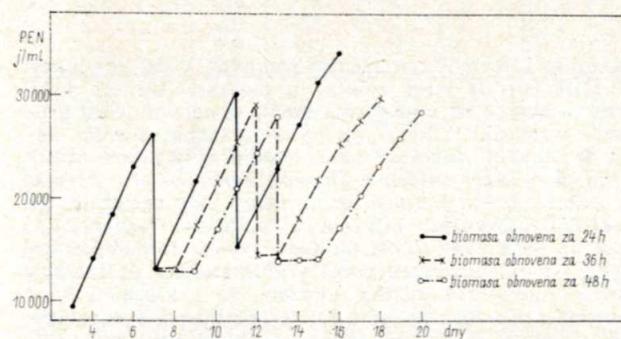
Intervaly mezi jednotlivými výměnami půd, resp. dobu, po kterou neklesne produkční rychlosť po výměně půdy, lze řídit buď objemem vyměňovaného média, nebo koncentrací živin v médiu. Optimální koncentrace živin půdy použité k výměně odpovídá 100–120 % kontrolní půdy (obr. 4) a optimální vyměňovaný objem půdy pro použitý systém ředění, tj. v 7. a 11. dnu fermentace, je 50 %, jak je patrné z obr. 5.

Součástí média použitého k ředění je uhlík, dusík, síra, fosfát, křída a prekurzor postranního řetězce penicilinu. Ne všechny tyto složky půdy jsou rov-

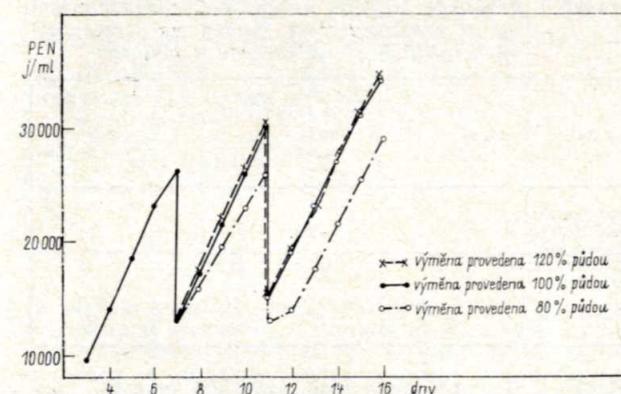


Obr. 2. Biosyntéza penicilinu při několikeré výměně fermentační půdy v průběhu fermentace

1 — získané množství fermentační půdy v ml, 2 — výtěžek v mia, 3 — průměrná hodinová produkce v $j \cdot ml^{-1} \cdot h^{-1}$ do doby maxima, 4 — doba fermentace v h, 5 — průměrná produkce ve filtrátech v $j \cdot ml^{-1}$

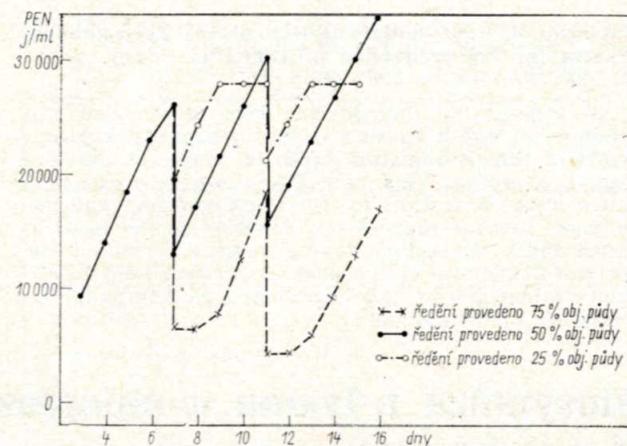


Obr. 3. Závislost rychlosti tvorby penicilinu na rychlosti obnovení biomasy

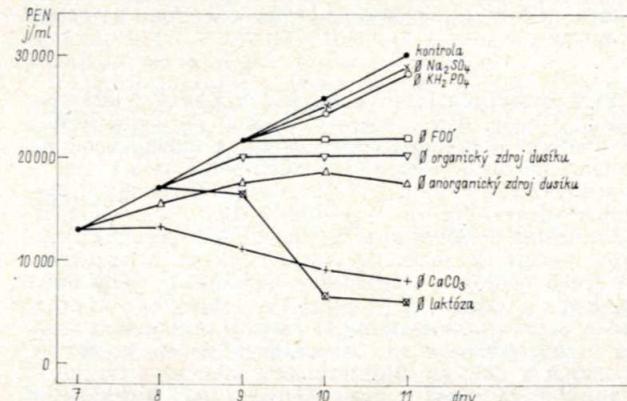


Obr. 4. Závislost biosyntézy penicilinu na koncentraci živin v půdě použité k výměně

nocenné v důležitosti pro vlastní biosyntézu. Celkem nepatrný pokles produkce nastane, neobsahuje-li médium zdroj síry nebo fosfát, rovněž neobsahuje-li půda prekurzor. Důsledky se projeví až po 48 hodinách od výměny půdy. Není-li přidán zdroj dusíku, projeví se to méně významně ve srovnání se zdrojem uhlíku a kříd. Deficit kříd zasahuje do celkového metabolismu kultury, např. stagnuje utilizace zdroje uhlíku, v médiu se kumulují amonné ionty apod. Vliv deficitu jednotlivých složek fermentační půdy použité k ředění na biosyntetickou schopnost produkčního kmene po ředění provedeném v 7. dni fermentace je uveden na obr. 6.



Obr. 5. Závislost biosyntézy penicilinu na objemu vyměňované půdy



Obr. 6. Vliv deficitu jednotlivých složek fermentační půdy použité k výměně na biosyntézu penicilinu

Literatura

- [1] Van der BEEK C. P. a ROELS J. A.: Antonie van Leeuwenhoek **50**, 1984, s. 625—639.
- [2] ČSSR a. o. 220 750, 1981.
- [3] ČSSR a. o. 228 574, 1982.

Matelová, V.: Racionalizace fermentačního procesu přípravy penicilinu. Kvas. prům. **32**, 1986, č. 7—8, s. 178—180.

Vypracovaným fermentačním postupem, jehož principem je několikerá výměna části fermentační půdy v průběhu fermentace, se podařilo po optimalizaci doby určené k výměně, po optimalizaci koncentrace živin přidávaného média a objemu vyměňované půdy dosáhnout zvýšení výtěžnosti penicilinu v absolutních hodnotách, v závislosti na čase i v celkovém výtěžku antibiotika.

Мателова, В.: Рационализация процесса приготовления пенициллина. Квас. прум. 32, 1986, № 7—8, стр. 178—180.

Разработанным процессом ферментации, принципом которого является многократный обмен части культуральной жидкости в течение ферментации, нам удалось после оптимизации времени необходимого для обмена, после оптимизации концентраций питательных веществ прибавляемой среды и объема обмененной среды достичь повышения выхода пенициллина как в абсолютных величинах, так и в зависимости от времени, так же в общем выходе антибиотика.

Matelová, V.: The Rationalization of the Fermentation Process for the Production of Penicillin. Kvas. prům. 32, 1986, No. 7—8, pp. 178—180.

The fermentation method has been developed the principle of which consists in multiple partial replacements of the fermentation broth in course of the fermentation process. This method joint with the optimization of the time fixed for the broth exchange and the optimum concentration of the nutrients in the medium added and of its volume being replaced, resulted in successful increase of the penicillin output both in absolute values and in time dependence, as well as in the total yield of the antibiotic.

Matelová, V.: Die Rationalisierung des Gärungsprozesses für die Herstellung von Penicillin. Kvas. prům. 32, 1986, Nr. 7—8, S. 178—180.

Das entwickelte Gärungsverfahren, dessen Prinzip in mehrfachem Wechsel einer Partie des Gärbodens während der Fermentation besteht, die Optimierung der zum Auswechsel festgelegten Zeit und der Konzentration von Nährstoffen des zugegebenen Mediums und des Volumens des zu ersetzen Bodens, führten zur erfolgreichen Erhöhung der Penicillinausbeute, wie in Absolutwerten, so in Zeitabhängigkeit, sowie auch in Gesamtausbeute des Antibiotikums.