Доклады Академии Наук СССР
1940. Том XXVIII, № 9

МИКРОБИОЛОГИЯ

М. Н. РОТМИСТРОВ

ОБ ИДЕНТИЧНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТЕРМОФИЛЬНОГО И МЕЗОФИЛЬНОГО БРОЖЕНИЯ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

(Представлено академиком А. А. Рихтером 4 V 1940)

Возбудители анаэробного брожения целлюлозы представляют собой мало изученную группу микроорганизмов. В современной микробиологической литературе общепринято деление их на мезофильные и термофильные. В работах Омелянского ([1]), Pringsheim'a ([2],[3]), Werner'a ([4]), Acharya([5]), Симаковой ([6]) и еще в целом ряде работ брожение проводилось при температурах от 25 до 37°.

Mac Fayden и Blexall ([7]), Kroulik ([8]), Viljoen, Fred и Peterson ([9]), Woodman и Stewart ([10]), Veldhuis, Christensen и Fulmer ([11]), Первозванский и Чельцова ([12]), Olson, Peterson и Sherrard ([13]) и другие авторы проводили брожение при 50—65°. Связующим звеном между этими двумя группами работ служат работы Khouvine ([14], [15]), которая выделила чистую культуру бактерий, вызывающих брожение целлюлозы при температурах от 35 до 50°. Эта чистая кульура как бы сочетала в себе свойства мезофильных и термофильных бактерий. В большинстве работ температурные границы развития и брожения не изучались.

Прежде мы уже указывали ([16]), что в наших опытах чистые культуры анаэробных целлюлозных бактерий развиваются на картофельном агаре в пределах 18—62°.

Из образцов навоза и почвы при 62—65° нами выделено более пятидесяти сбраживающих целлюлозу культур. Все культуры обогащены кипячением и затем пятикратно пассивировались на жидких средах с целлюлозой при 62°. Из этих элективных культур посредством оригинальной методики выделено несколько чистых культур. Четыре из них использованы для опытов, описываемых в настоящей работе. Культуры № 21 и 27 выделены из одной клетки, № 24 и 39 очищены на агаровых пластинках пятикратными пассажами. № 21 и 27 выдержали уже несколько десятков пассажей при 62° и были использованы в наших работах по термофильному брожению целлюлозы ([17], [18]).

Предварительные опыты с этими термофильными целлюлозными бактериями показали, что они способны вызывать брожение целлюлозы при 62, 50 и 40°. По выяснении этого факта культуры были использованы для решения вопроса о сходстве или различии между возбудителями термофильного и мезофильного брожения целлюлозы. С этой целью был поставлен ряд опытов.

Брожение проводилось в плоскодонных колбах на 250 мл на нашей среде следующего состава: суперфосфата 5 г, NH_4Cl 3 г, KCl 1 г, воды водопроводной 1 л. Среда содержала 3% фильтровальной бумаги. Кислые продукты брожения нейтрализовались мелом. Анализ культуральных сред после брожения производился по общепринятым методам, описанным в наших прежних работах ([17], [18]). Результаты анализов выражены для всех опытов в граммах на литр среды и в процентах к сброженной целлюлозе.

В табл. 1 сведены данные опытов по сбраживанию целлюлозы чистой культурой № 21 при различных температурах.

Таблица 1

Температура брожения	% целлюлозы в среде	Продолжительность брожения в днях	Сброжено целлюлозы в %	Найдено в среде: спирта г/л	спирта %	муравьиной кислоты г/л	муравьиной кислоты %	уксусной кислоты г/л	уксусной кислоты %	масляной кислоты г/л	масляной кислоты %	молочной кислоты г/л	молочной кислоты %	Всех продуктов г/л	Всех продуктов %
62°	3,1	10	79,0	1,08	4,7	0,44	1,9	8,0	35,5	5,2	23,1	0,36	1,6	15,08	66,9
			85,8	1,08	4,4	0,42	1,8	7,28	30,0	4,8	19,6	0,28	1,1	13,86	56,9
45°	1,5	30	90,2	0,05	0,4	0,69	5,1	4,77	35,3	1,61	11,9	2,08	15,4	9,2	68,1
			93,7	0,02	0,1	0,14	1,1	4,97	37,4	1,35	10,2	1,71	12,9	8,19	61,7
35°	3	174	44,1	0,05	0,4	Нет	—	0,13	1,0	1,14	9,2	2,20	17,6	3,52	28,2
			71.5	0,07	0,5	0,74	3,6	0,36	1,8	2,46	12,1	2,14	10,5	5,77	28,5

Как видно из таблицы, с понижением температуры продолжительность брожения увеличивалась. Степень сбраживания целлюлозы колебалась незакономерно. При 45° она выше потому, что в среде содержалось меньше целлюлозы. Независимо от температуры брожения в средах найдены одни и те же продукты.

В накоплении муравьиной кислоты нельзя уловить никакой закономерности. Что же касается спирта, уксусной, масляной и молочной кислот, то для этих продуктов ясно видна определенная тенденция: с понижением температуры и увеличением срока брожения количество спирта и летучих кислот уменьшается, количество молочной кислоты увеличивается. Общее количество продуктов брожения в среде при понижении температуры уменьшается. Наряду с этим при более низких температурах идет более интенсивное образование газов.

Понижение выходов суммы продуктов брожения при 45° и 35° объясняется, повидимому, двумя причинами: с одной стороны, изменением направления биохимических реакций в сторону более обильного газообразования, с другой,—потреблением продуктов брожения бактериями при длительном соприкосновении (значительное удлинение периода брожения). Таким образом при 35° и 45° образовались те же продукты, что и при 62°, но в меньших количествах. Степень сбраживания целлюлозы при этих трех градациях температуры почти одинакова. Изменяется лишь продолжительность брожения.

Ниже приводятся данные по сбраживанию целлюлозы на той же лишенной органического азота среде несколькими чистыми культурами термо-

фильных целлюлозных бактерий. Среда содержала 3% целлюлозы, температура брожения 35°.

Таблица 2

№ культур	Продолжительность брожения в днях	Сброжено целлюлозы в %	Найдено в среде									
			спирта		муравьиной кислоты		уксусной кислоты		масляной кислоты		молочной кислоты	
			г/л	%	г/л	%	г/л	%	г/л	%	г/л	%
24	186	62,3	0,46	2,6	0,26	1,4	2,7	15,3	0,23	1,3	1,82	14,4
27	120	90,3	1,12	4,3	0,58	2,2	8,9	34,6	нет	—	3,05	11,9
39	190	69,5	0,05	0,2	0,22	1,1	0,87	4,4	2,07	10,5	2,04	10,3

Из приведенных данных видно, что у всех трех культур брожение шло при 35° медленно, однако закончилось сбраживанием целлюлозы не ниже, чем на 60%. У культуры № 27 брожение закончилось скорее, в 120 дней, у культур № 24 и 39 оно затянулось до 6 с лишним месяцев. В аналогичных опытах при 62° эти культуры заканчивали брожение за 8—10 дней. Продукты брожения при 35° и 62° у этих культур были идентичные. При 35° также наблюдаются пониженные выходы уксусной, масляной кислот и спирта и несколько повышенный выход молочной кислоты.

Если сопоставить данные табл. 1 и 2 с результатами опытов Омелянского ([1]), то увидим, что в них есть много общего.

Чтобы проверить, могут ли чистые культуры термофильных целлюлозных бактерий вызывать брожение целлюлозы в условиях, применявшихся в работах Омелянского, в качестве инокулята были взяты культуры № 21 и 27, выделенные микроманипулятором из одной клетки. Опыты поставлены на среде Омелянского с 1,5% целлюлозы при 35°. Нейтрализовалась среда мелом. Результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Продолжительность брожения 150 дней

№ культур	Сброжено целлюлозы в %	Найдено в среде									
		спирта		муравьиной кислоты		уксусной кислоты		масляной кислоты		молочной кислоты	
		г/л	%	г/л	%	г/л	%	г/л	%	г/л	%
21	51,6	0,3	4,1	1,31	17,8	1,76	23,9	0,32	4,3	2,15	29,3
	76,9	0,19	1,7	0,59	5,4	1,82	16,6	1,24	11,3	1,47	13,5
27	67,4	0,14	1,4	0,10	1,0	нет	—	1,88	19,6	1,29	13,5

Эти опыты показали, что термофильные бактерии при точном воспроизведении условий брожения Омелянского дают и в этом случае картину брожения, идентичную описанной для мезофильных бактерий. Отсюда следует, что одни и те же бактерии способны вызывать термофильное и мезофильное брожение целлюлозы. Чистые культуры, выделенные при 62° и выдержавшие при этой температуре много пассажей на целлюлозе, прекрасно сбраживают целлюлозу при 45° и 35°.

На основании опытов, описанных здесь, и ряда аналогичных не приведенных опытов мы приходим к заключению, что деление анаэробных целлюлозных бактерий на термофильные и мезофильные лишено основания. Можно говорить лишь о термофильном и мезофильном брожении целлюлозы, которое, повидимому, всегда вызывается одними и теми же бактериями.

Украинский научно-исследовательский институт
пищевой промышленности
Харьков

Поступило
13 IV 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] Омелянский, Ztbl. Bakt., II, 8, 198—391 (1902). [2] Pringsheim, Ztbl. Bakt., II, 23, 300 (1909). [3] Pringsheim, Mitteil. Dtsch. Landw. Gesel., **23**, 472 (1913). [4] Werner, Ztbl. Bakt., II, 67, 297 (1926). [5] Acharya, Bioch. Journ., **29**, № 4, 5, 6 (1935). [6] Симакова, Арх. биол. наук, **39**, 2, 555 (1935). [7] Mac-Fayden a. Blexall, Trans. of the Jenner Inst. Prev. Med., **2**, 162 (1899). [8] Kroulik, Ztbl. Bakt., II, 36, 339 (1913) [9] Violjoen, Fred a. Peterson, Journ. Agric. Sci., **16**, 1 (1926). [10] Woodman a. Stewart, Journ. Agric. Sci., **18**, 713 (1928). [11] Veldhuis, Christensen a. Fulmer, Ind. Engin. Chem., **28**, № 4 (1936). [12] Первозванский и Чельцова, Микробиология, V, вып. 3 (1936). [13] Olson, Peterson a. Sherrard, Ind. Engin. Chem., **29**, № 9 (1937). [14] Khouvine, Ann. Inst. Past., **37**, 711 (1923). [15] Khouvine, Cellul. et Bact. Décomp. et Synt., Paris (1934). [16] Ротмистров, Микробиология, VIII, вып. 1, 56 (1939). [17] Ротмистров и Шаройко, Микробиология, VIII, вып. 7, 806 (1939). [18] Ротмистров и Шаройко, Сб. работ отд. Биох. Техн., УИПП (1939).