

Э. Д. МИХЛИН и М. Г. ГОЛЫШЕВА

**ВЛИЯНИЕ ГИСТИДИНА НА ОКИСЛЕНИЕ СОРБИТА
БАКТЕРИЯМИ АСЕТОВАСТЕР MELANOGENUM**

(Представлено академиком А. И. Опариным 23 XI 1951)

Бактериальная клетка является местом активных химических реакций. Для нормальной жизнедеятельности клетки необходимо, чтобы химические, биохимические и физико-химические превращения на ее поверхности были строго координированы между собой.

Питательные среды, применяемые при производстве различных химических продуктов с помощью микроорганизмов (витаминов, лимонной кислоты и др.), как правило, подвергаются предварительной термической стерилизации. Естественно, что при относительно жестком тепловом воздействии (нагревание в течение 0,5—1 часа при 120—130°) состав питательной среды претерпевает ряд существенных изменений. Наряду с денатурацией белков изменяется аминокислотный состав среды и разрушается ряд других веществ, как то ферменты и некоторые витамины, необходимые для благоприятного развития микроорганизмов.

Свободные аминокруппы белков и аминокислот образуют ряд химических соединений с углеводами, также обычно входящими в состав питательной среды. При рН 6,3 реакция между аминокислотами и углеводами протекает с заметной скоростью уже при 37° (1).

В результате взаимодействия аминокислот с углеводами могут образоваться вещества, обладающие бактерицидными свойствами (2). В. Кретович и Р. Токарева наблюдали образование меланоидиновых соединений при нагревании сахаров с аминокислотами в течение нескольких часов при 95° (3). Большое значение для развития микроорганизмов имеет аминокислотный состав питательной среды, так как некоторые аминокислоты, даже в очень небольших количествах, усиливают действие окислительных и других ферментов.

Ухудшение состава питательной среды после ее термической стерилизации влечет за собой уменьшение скорости образования нужных продуктов и повышение выхода нежелательных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. Подобные явления описаны для *Ac. melanogenum* (4), а также для микроорганизмов, синтезирующих рибофлавин (5).

Благоприятное действие на развитие микроорганизмов оказывают добавки *l*-цистина и *l*-лизина (2). Аланин способствует росту молочнокислых бактерий (6).

Нами исследовалось влияние *l*-гистидина на процесс окисления сорбита в сорбозу бактериями *Ac. melanogenum*. Питательная среда готовилась из технического сорбита, очищенного от тяжелых металлов, и автолизата пекарских дрожжей. Автолиз проводился в течение 2 час. при 45°. Концентрация сорбита в питательной среде составляла 12—15%, концентрация автолизата 0,1—0,15%.

Смесь сорбита и автолизата подкислялась уксусной кислотой до рН 4,8—5,2. Стерилизация питательной среды проводилась в паровом автоклаве при 120° в течение 30 мин. В стерильную среду вводилась жидкая односуточная культура бактерий. После введения культуры жидкость разливалась в стерильные колбы. Толщина слоя жидкости в колбах была 15—18 мм.

Гистидин в виде водного раствора, приготовленного из чистого кристаллического вещества, непосредственно перед опытом стерилизовался в автоклаве. В других случаях гистидин добавлялся без предварительной стерилизации непосредственно в колбы с окисляемой жидкостью. Затем колбы закрывались ватными пробками и помещались в термостат, где хранились в неподвижном состоянии при температуре 32—34°. Через 24—40 час. из колб брались пробы, в которых определялось содержание редуцирующих веществ (по Бертрану), количество микроорганизмов, содержание сухих веществ и рН. Результаты опытов приведены в табл 1*.

Таблица 1

Влияние гистидина на скорость окисления сорбита бактериями *Ac. melanogenum*

Опыт	Колич. гистидина, мг	Экспозиция в часах	Содержание редуцирующих веществ			Число микроорганизмов в 1 мл ($\times 10^6$)	рН
			по анализу, мг/мл	увеличение к контролю			
				мг/мл	%		
Контроль (без добавок)	—	39	102	—	—	—	4,0
+ гистидин, стерилизов.	2,6	39	106	4	4	—	4,1
" " " "	3,0	39	101	0	0	—	4,1
" " " "	4,8	39	102	0	0	—	4,1
Контроль (без добавок)	—	25	44	—	—	22	4,3
+ гистидин, нестерилизов.	1,6	25	53	9	20	45	4,3
+ " стерилизов.	2,6	25	41	—	—	—	4,4
Контроль (без добавок)	—	42	52	—	—	—	4,5
+ гистидин, нестерилизов.	12	42	62	10	19	—	4,9

Как видно из табл. 1, прибавление гистидина к питательной среде, подвергавшейся стерилизации в автоклаве, оказывает благоприятное влияние на развитие бактерий *Ac. melanogenum*. Соответственно увеличивается скорость окисления сорбита. Так, при прибавлении гистидина, не подвергавшегося термической стерилизации, скорость окисления сорбита увеличилась на 19—20%. Количество микробных клеток составляло в контроле без гистидина 22 млн. в 1 мл среды, а в колбах, содержащих добавку гистидина, 40—45 млн.

По литературным данным (7), благоприятное влияние добавки гистидина можно объяснить ускоряющим действием его на ферменты. При стерилизации в автоклаве при 120° раствор гистидина темнел, а сухой гистидин приобретает коричневую окраску.

Прибавление гистидина, подвергнутого предварительной стерилизации в автоклаве, не оказало положительного влияния. При термической стерилизации гистидин разлагается. Подобное явление происходит, очевидно, также и с гистидином, содержащимся в исходной питательной

* В экспериментальной части работы принимали участие В. Кеппен и О. Мавричева.

среде, при стерилизации ее в паровом автоклаве. Следовательно, содержание гистидина в питательной среде, стерилизованной путем нагревания до 118—120°, может уменьшаться не только в результате взаимодействия с сахарами, но также вследствие прямого разложения его при автоклавировании.

Обогащение питательной среды *l*-гистидином до стерилизации ее в автоклаве, а также добавление гистидина, прошедшего предварительную термическую стерилизацию, не оказывает влияния на процесс окисления.

Проведенные опыты показали, что размножение бактерий *As. melanogenum* и скорость окисления ими сорбита увеличиваются при прибавлении к питательной среде, прошедшей термическую стерилизацию, небольших количеств *l*-гистидина.

Поступило
5 VI 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ C. Lea and K. Hannan, *Nature*, **165**, 438 (1950). ² S. Lee, *Ind. Eng. Chem.*, **42**, 1672 (1950). ³ В. Кретович и Р. Токарева, *Биохимия*, **13**, № 6, 508 (1948). ⁴ Е. Креслинг, *Микробиология*, **6**, 898 (1937). ⁵ V. Pfeifer, F. Tanner and oth., *Ind. Eng. Chem.*, **42**, 1776 (1950). ⁶ J. Holden, *Journ. Biol. Chem.*, **178**, 2799 (1949). ⁷ E. Poli and S. Jucke, *Physiol. Rev.*, **11**, 545 (1949).