

TARTU RIIKLIK ÜLIKOOL

Taimefüsioloogia ja -biokeemia kateeder

Elvi Reitav

ULTRAHELI MÕJUST SACCHAROMYCES CEREVISIAE BIOMASSI  
PRODUKTIIVSUSELE JA VABADE AMINOHAPETE SISALDU-  
SELE

Diplomitöö

Juhendaja:  
biol.-kand. L. Viileberg

Tartu 1966

# SISUKORD

## SISSEJUHATUS

I	KIRJANDUSE ÜLEVAADE	lk.
	1. Ultraheli mõju pärmseente ja bakterite morfoloogiale ja paljunemisele . . . . .	4
	2. Ultraheli mõju orgaanilistele ühenditele in vitro . . . . .	17
	3. Ultraheli mõju mikroobide füsioloogilistele protsessidele ja biokeemilisele koostisele . . . . .	22
II	EKSPERIMENTAALNE OSA	
	1. Katsete metoodika ja töökaitse . . . . .	27
	2. Katsetulemused . . . . .	33
	3. Katsetulemuste arutelu . . . . .	50
III	KOKKUVÕTE JA JÄRELDUSED	53
	Venekeelne resümee . . . . .	55
	Kasutatud kirjandus . . . . .	58

## S I S S E J U H A T U S

Ultraheli bioloogilisele toimele on tähelepanu pööranud väga paljud teadlased. Ultraheli mõjul on täheldatud looma-, taime- ja mikroobirakkude lõhustumise kõrval ka seesmise struktuuri muutusi, mistõttu ultraheli kasutatakse bioloogias, embrüoloogias, füsioloogias, mikrobioloogias ja paljudes teistes teadusharudes.

Ultraheli väljas olevate orgaaniliste ja anorgaaniliste ainete, polümeeride, biomakromolekulide ja biokolloidide muundumise seaduspärasuste täpne tundmine võimaldab sügavamalt mõista ultraheli bioloogilise toime mehhanismi.

Ultraheli teatud doosidega on läinud korda stimuleerida mõnede organismide elutegevust. Sagedusega  $380 \text{ kHz}$  ja võimsusega  $5 \text{ W/cm}^2$  5 minuti vältel helitatud kartulimugulad andsid 25-45 % võrra suuremat saaki kui helitamata mugulad. Helitatud herne ja lupiini seemned idanesid kiiremini ja andsid rikkalikuma saagi kui helitamata seemned (Elpiner, 1964).

Kaasaegne tehnika võimaldab saada kõige erinevama sageduse ja intensiivsusega ultraheli laineid, mida kasutatakse nii teaduslikus uurimistöös kui ka mitmesugustes rahvamajanduse harudes.

Ultraheli laineid rakendatakse nii vee all kui ka õhus sidevahendina, mitmesugustes materjalides seesmiste defektide avastamiseks, metallide sulamistemperatuuri alandamiseks ja tardumise kiirendamiseks, kristallstruktuuri

muutmiseks (Bergman, 1958), kolloid\_süsteemide moodustumiseks, vedelike disperseerimiseks tiksotroofsete geelide veeldamiseks, kõrgmõlekulaarsete ühendite lõhustamiseks ja keemiliste reaktsioonide kiirendamiseks (Elpiner ja Drize, 1956).

Mikrobioloogilises uurimistöös kasutatakse ultraheli desinfitseerimise ja steriliseerimise eesmärgil bakterirakkude purustamiseks (Davidson, 1965 ; Rosett, 1965 ; Falkovskaja, 1956), viiruste inaktiveerimiseks, mikroobide virulentsuse muutmiseks, bakteriaalsete ensüümide ja toksiinide saamiseks (Djätšenko ja Bernasovskaja, 1965).

Ultraheli leiab ulatuslikku kasutamist ka meditsiinis (Baier ja Dörner, 1958).

Senini on ultraheli stimuleeriva agendina leidnud vähest kasutamist tööstuses. Käesoleva töö üheks ülesandeks on kindlaks teha, kas ultraheli, mille sagedus on  $830 \pm 15 \text{ kHz}$  ja  $880 \text{ kHz}$  ning võimsus  $0-2 \text{ w/cm}^2$  avaldab mõju pärmseente

- 1) biomassi produktiivsusele ja
- 2) vabade aminohapete kvaliteedile ja kvantiteedile.

Et ultraheli põhjustab nihkeid biokatalüütilises süsteemis, siis tekkis huvi kindlaks teha, kuidas ultraheli avaldab mõju pärmseentes olevatele vabadele aminohapetele.

Ultraheli toime organismidele ei sõltu ainult tema sagedusest, võimsusest ja helitamise kestusest, vaid oluline osa on ka elusorganismi struktuuril ja funktsionaalsel seisundil. Ultraheli mõju mehhanism bioloogilistele objektidele on keeruline, sest ta avaldub mehhaanilise, termilise ja füüsikalise-keemilise toime kaudu.

Eelnevast selgub, kui keeruline on ultraheli mõju uurimine bioloogilistele objektidele. Selles probleemis on veel palju ebaselget. Ultraheli bioloogilise toimemehhanismi selgitamine nõuab mitme eriala teadlaste ühiseid jõupingutusi.

Töö teostamisel osutatud abi eest avaldan siirast tänu juhendaja bioloogiakandidaad L. Viilebergile ja kogu kateedri kollektiivile.

## Ultraheli mõju pärmseente ja bakterite morfoloogiale ja paljunemisele

Kõige pealt käsitletakse väga lühidalt ultraheli omadusi.

Termin "ultraheli" akustikas on analoogiline mõistega "ultraviolettkiirgus" optikas. Nii nagu ultraviolettkiired ei põhjusta nägemisaistingut, nii ei ole ka ultraheli vastuvõetav inimekõrvale.

Ultraheliks nimetatakse akustilisi laineid, mille sagedus on üle 20 000 hertzi. Ultraheli levib gaasides, vedelikes ja tahketes kehaes.

Ultraheli allikana kasutatakse kvartsi, turmaliini, Seignette'i soola, baariumtitanaati jt. piezoelektriliste omadustega kristalle. Vahelduvvoolu mõjul muudavad kristallid oma kuju, kord kokku tõmbudes, kord paisudes. Kõrge intensiivsusega ultraheli lained tekivad sel juhul, kui vahelduvvoolu sagedus ühtib piezoelektrilise kristalli võnkesagedusega, see tähendab resonantsi korral.

Elpineri (1960. a.) järgi on keemilised reaktsioonid ultraheli väljas tihedalt seotud kavitatsiooni fenomeniga. Seda Elpineri seisukohta ei jaga aga kõik teadlased. Vaieldav on kavitatsiooni põiekestete tekkimine rakus.

Ultraheli avaldab bioloogilistele objektidele mehhaanilist, termilist ja füüsikalise-keemilist ehk fotokeemilist toimet.

Mehhaanilise toime tõttu kasutatakse ultraheli bakteritsiidse vahendina.

Ultraheli termiline toime on hoopis väiksema tähtsusega kui mehhaaniline toime. Termilise toime isoleerimiseks on helitamisel soovitatav teostada jahutamist.

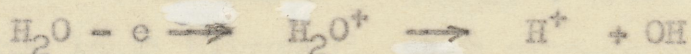
Komolova (1962) ja Levinsoni (1962) järgi omab tähtsust ka helitamisjärgne inkubeerimise temperatuur. Seega temperatuur ei avalda mõju mitte ainult esmastele fotokeemilistele reaktsioonidele, vaid ka pärast helitamist toimuvatele protsessidele. Hursini (1964) järgi avaldab helitamise aegne temperatuur mõju nukleinhapete sisaldusele.

Ultraheli mehhaanilise ja termilise toime kõrval eristatakse veel kavitateerimise sekundaarsetest protsessidest lähtudes füüsikalise-keemilist ehk fotokeemilist toimet.

Helitatud süsteemis tekivad lühiajalised laetud osakesed ja pikema eksisteerimisvõimega vabad radikaalid ning ergastatud molekulid.

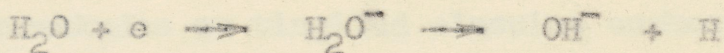
Vee osakeste ionisatsioon ultraheli mõjul ja radioaktiivse kiirguse toimele on sarnane. Erinevus seisab vaid selles, et radioaktiivse kiirguse toimele ioniseeritakse vedelas faasis vee molekulid, ultraheli mõjul aga gaasilises faasis olevad molekulid (Levinson, 1962).

Vee molekuli ionisatsiooni võib ette kujutada järgmiselt. Vee molekulist lüüakse energia mõjul elektron välja, mistõttu vesi ioniseerub.



Ergastatud elektron võib ühineda vee molekuliga või

vesinikiooniga, mille tulemusena moodustub vesinik



On suur tõenäosus vabade radikaalide ja aatomite omavaheliseks reageerimiseks, mille tulemusena võivad moodustuda väga erinevad keemilised ühendid ja vabad radikaalid.



Olenevalt reageerivate ioonide ja molekulide iseärasustest võivad ultraheli väljas leida aset redoksprotsessid.

Hapendus-taandusprotsessidele alluvad glütsiidid, aminohapped, puriin- ja pürimidiinalused ning valgud (Elpiner, 1956) ; (1964).

Kuigi ultraheli mõjul moodustuvad vees mitmesugused ühendid, on hapendava agendi allikaks siiski vesi. Seda tõestasiid oma tööga Levinson ja Kovrov (1959).

Kui varem loeti ultraheli toime aluseks kavitatsioonist lähtuvaid muutusi, siis tänapäevaks on selle kõrvale tekkinud ultraheli mõju kaudne teooria.

Elpiner oma arvukate tööde põhjal väidab, et ultra-

helist tingitud morfoloogilised ja funktsionaalsed muutused elusrakkudes on tingitud elusaine osakeste tasakaalu nihkumisest.

Ultraheli erinev toime mitmesugustele mikroorganismidele on tingitud nende morfoloogilistest iseärasustest ja funktsionaalsest seisundist. Oluline osa on ka mikroobi struktuuril ja rakukesta ehitusel.

Erinevad autorid on oma katsed läbi viinud mitmesugustes tingimustes, kusjuures nad on kasutanud erinevaid ultraheli doose. Et paljud autorid on piirdunud omatöodes ainult ühe eelpoolnimetatud faktori avaldamisega, siis on raske avaldatud andmeid omavahel võrrelda.

Ultraheli suhtes kõige tundlikumad on mikroobide niitjad vormid, vähetundlikud on aga pulgakujulised vormid ning stafülo- ja streptokokid (Elpiner, 1963, 1964).

Medvedjeva ja Elpineri (1955) andmetel kahjustuvad ultraheli väljas kergesti endomütseedid (Endomyces magnusii jt.). Ultraheli toimele suhteliselt vastupidavad on saharomütseedid (Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces ellipsoides, Saccharomyces globosus jt.). Saccharomyces cerevisiae suurt vastupidavust ultraheli toime suhtes on täheldanud ka õpetlased Katsnelson ja Hench (1951).

Arvukatest katsetest võib järeldada, et mida suurem on ultraheli intensiivsus, seda suurem on tema bakteritsiidne toime.

Igal mikroorganismi liigil on kindel ultraheli intensiivsuse lävi, millest allpool mingisuguseid muutusi ei

täheldata.

Ultraheli mõju oleneb ka sellest, kas helitatakse külvimaterjali või inokuleeritud keskkonda. Arvestada tuleb ka keskkonna konsistentsi ja tihedusega. Ultraheli toime on pöördvõrdeline lahuse tihedusega.

Medvedjeva ja Elpiner (1955) helitasid mikroobe sagedusega  $1200 \text{ kHz}$  ja võimsusega  $250 \text{ W/cm}^2$ . Juba pärast 30-sekundilist ekspositsiooniga täheldasid autorid Endomyces magnusii protoplasma vahustumist, 1-minutilise helitamise vältel aga muutus protoplasma želatiini-taoliseks. Helitatud rakkudes täheldati ka opalestsentsi, mis oleneb protoplasma valkude füüsikalise-keemiliste omaduste muutumisest. 5-minutilise ekspositsioonaja puhul esinesid aga rakkudes sügavamad muutused - mehhaanilisest toimest tingitud kahjustused.

Elpiner koos oma kaastöötajatega uuris ka aktinomütseete. Solovjeva, Elpiner ja Fadejeva (1956) valisid katseobjektiks üksteisest erinevate kultuurilis-morfoloogiliste iseärasustega aktinomütseetide kultuurid. Tehti kindlaks, et mitmesugused liigid on erineva tundlikkusega ultraheli toime suhtes. Kõige resistentsemaks osutus Actinomyces violaceus ja Actinomyces lavendulae, millel pärast 20-30 minutilist helitamist oli säilinud täielikult anti-geenne aktiivsus. Mainitud asjaolu lubab kasutada immunoloogilisi reaktsioone aktinomütseetide diagnostikas.

Eriti vastupidavad ultraheli toime suhtes on aktinomütseetide spoorid ja mütseel. Fadejeva jt. (1961) kasutasid ultraheli, mille sagedus oli  $650 \text{ kHz}$  ja intensiivsus  $20 \text{ W/cm}^2$ . Helitatud ja kontrollvariandi spooride ja mütseeli omavahe-

line võrdlemine näitas, et katsevariandis spooride areng oli aeglustunud. Helitatud spooridest ja mütseelist kasvanud kultuuril täheldati esimese 24 tunni vältel külgsi paksenenud harusid, mida kunagi ei esinenud kontrollvariandil. Seejuures helitatud spooridest ja mütseelist kasvanud kultuur paistab silma suurema biomassi poolest ning läheb hiljem autolüüsi staadiumi kui kontroll.

Sidorov (1965) valis katseobjektiks Clostridium chauvoei, mille spoorid on ultraheli toime suhtes vastupidavad. Helitamiseks kasutas ta ultraheli, mille võimsus oli 8-12 w/cm<sup>2</sup>. Seejuures täheldati helitatud kultuuril lag-faasi pikenemist.

Ultraheli mõju käsitlevas kirjanduses kohtame üsna lahkuminevaid andmeid. See on tingitud sellest, et autorid on kasutanud erinevaid ultraheli doose, mitmesuguse kontsentratsiooniga pärmisuspensioone ja helitamist on teostatud kõige erinevamates keskkondades.

Komolova (1962) kasutas ultraheli, mille sagedus oli 0,3 ; 0,8 ; 1 ja 2,4 MHz. Uurimisobjektiks oli Saccharomyces vini, mille veesuspensiooni helitati.

Ultraheli toime hindamisel võeti aluseks suspensioonis ellujäänud rakkude arv. Ellujäänud rakkude arvu määrati Imženetski meetodi järgi värvimisel ja Petri tassidesse tehtud külvidest arenenud kolooniate lugemisega. Erineva vigastusastme määramiseks kasutati mikrokolooniate meetodi. Paljunemist määrati nefelometreerimise teel. Katsetes, kus uuriti ultraheli mõju esmasele pungumisele, määrati eelne-

valt suspensioonis punguvate rakkude arv. Ultraheli, mille sagedus oli 300-800 ja 1000  $\text{kHz}$ , ei põhjustanud rakkude hävimist isegi üle kahe tunni kestnud helitamisel. Kui aga ultraheli võimsust suurendati kavitatsiooni piirini ja üle selle, siis saadi letaalne efekt juba lühiajalisel helitamisel. Pärmide letaalne efekt ultraheli väljas on hästi teada, kuid letaalsete doosidega helitatud pärmide morfoloogiat kirjeldatakse mitmel viisil.

Selle küsimuse selgitamiseks rajas Komolova (1962) spetsiaalsed katsed, kus ta rakendas ultraheli, mille võimsus oli  $7,5 \text{ w/cm}^2$ . Helitamine põhjustas ekspositsiooniaja suurendamisel kuni seitsme minutini letaalse efekti suurenemist. Helitamisaja edasine pikendamine olulist mõju ei avaldanud.

Huvitav on märkida, et lühiajalisel helitamisel ei märgatud väliseid muutusi. Kui suspensiooni helitati aga üle kümne minuti, siis täheldati rakke, millest protoplasma oli nagu kõrvaldatud, mis meenutasid läbipaistvaid "futlereid". Neis oli hästi säilinud metüleensinisega värvuv volutiin. Et rakukestade purunemist ei õnnestunud kindlaks teha, siis võib arvata, et tegemist on rakukestades olevate mikroskoopiliste avadega. Nende avade kaudu protoplasma võis rakust väljuda. Edasisel helitamisel mikroskoopilisi avasid sisaldavate kestadega rakkude arv suurenes.

Järelikult ekspositsiooniaja pikendamisel süvenevad pärmirakkudel kahjustused.

Komolova (1962) poolt teostatud arvukad katsed selgitavad helitamise mõju pärmide paljunemisele. Helitamisel

võimsusega alla kavitatsiooni piiri ei ilmnenud isegi pikaajalisel mõjutamisel mingeid kõrvalekaldeid paljunemises kontrollvariandiga võrreldes.

Niinimetatud kavitatsioonilise võimsuse puhul toimub aga rakkude inaktiveerumine, kusjuures osa neist häbib momentselt. Mikrokolooniate preparaatides ellujäänud rakud annavad kettakujulisi kolooniaid. Momentselt hukkunud rakud jäävad aga üksikuks ja teatud aja pärast autolüüsuvad.

Ultraheli pikemaajalisel helitamisel ilmnes huvitav fakt. Kui kasutati ultraheli, mille võimsus oli  $7,5 \text{ w/cm}^2$  ja ekspositsiooniaeg üle 7 minuti või  $3,9 \text{ w/cm}^2$  üle 30 minuti, siis hukkusid kõik pärmseened, mis varsti autolüüsusid. Seejuures hukkamiseefekt sarnaneb radioaktiivse kiirguse toimel saadud efektiga. Erinevus on selles, et radiatsiooniga kiiritatud rakud andsid 24-tunnilisel inkubeerimisel puhetunud kolooniaid, mis üsna varsti autolüüsusid. Ultraheliga mõjustatud rakkude järglased pole aga puhetunud ja nad autolüüsuvad märksa hiljem.

Ultraheli suurte sageduste korral ( $2,4 \text{ MHz}$ ) ei ilmnenud rakkude hävimist isegi generaatori maksimaalse võimsusega pikemaajalisel helitamisel. Sellest järeldub, et pärmi-rakkudel tekivad morfoloogilised muutused ainult võrdlemisi madala sagedusega ultraheli mõjul.

Gnutenko, Stromberger ja Gumilevskaja (1956) jälgisid ultraheli mõjul toimuvaid muutusi Schizosaccharomyces acidovoratus'el. Et sahharomütseedid on suhteliselt vastupidavad ultraheli toimele, siis autorid kasutasid kõrge sageduse ja võimsusega ( $600 \text{ kHz}$ ,  $1 \text{ MHz}$ ,  $2 \text{ MHz}$ ) ultraheli, millega helitati 9,5 minuti vältel uuritavat kultuuri. Sage-

duse puhul  $600 \text{ kHz}$  jäi ellu  $54,5\%$  rakkudest. Sageduse puhul  $1 \text{ MHz}$  oli ellujäänute protsent  $1,32$  ning sageduse puhul  $2 \text{ MHz}$  oli eluvõimelisi rakke vaid  $0,002\%$ .

Seega kõige efektiivsemaks osutus pärmseentele ultraheli, mille sagedus oli  $2 \text{ MHz}$ , sest sel juhul hukkusid peaaegu kõik rakud. Ellujäänud rakkudel oli ensümaatilise aktiivsuse vaid mõnevõrra langenud.

Komolova (1962) katsetest järeldub, et ultraheli mille võimsus oli  $7,5 \text{ w/cm}^2$ , põhjustas pärmirakkude reproduktsioonivõime langust. Kui kontrollvariandis saabus pungumise maksimum pärast  $2,5$ -tunnilist inkubeerimist, siis helitatud rakkudel saabus maksimum alles  $3,5$  tunni möödumisel. Helitatud rakkude ööpäevased kolooniad olid veidi väiksemad kui kontrollvariandil.

Edasised katsed selgitasid ultraheli erinevate dooside mõju paljunemisele. Ultraheli, mille võimsus oli  $0,6 \text{ w/cm}^2$ , ei põhjustanud isegi kestval helitamisel kõrvalekaldeid kontrollvariandist. Teistsugused tulemused saadi letaalse- te doosidega helitamisel, mispuhul katsesuspensiooni  $3$ -tunnilise inkubeerimise puhul esines  $16\%$  punguvaid rakke  $68\%$  vastu kontrollis. Katsetest selgub, et letaalsete dooside puhul pärmide pungumisperiood pikeneb.

Siiani kirjeldatud muutused esinesid ainult kavitatsiooniprotsesside olemasolu korral. Sellest ei saa aga veel järeldada, et ultraheli bioloogiline toime on seotud kavitatsiooni fenomeniga. Kõrge sagedusega ultraheli kasutamine avab võimaluse helitamist teostada kavitatsiooni puudumisel.

Saccharomyces vini mõjutamisel ultraheliga, mille sagedus oli  $2,4 \text{ MHz}$ , algas katsevariandil pungumine 0,5 kuni 1 tund varem ja pungumise maksimum saabus samuti 1-1,5 tundi varem kui kontrollvariandil.

Candida tropicalise helitamisel 5 sekundi jooksul kõrge sagedusega ultraheli abil saadi pärast 6-tunnilist inkubeerimist biomassi juurdekasv võrreldes kontrolliga  $1,5^{\pm} 1,1 \text{ g/l}$  kohta (Komolova ja Gratsšova, 1964 ; Komolova ja Levinson, 1964). Samade autorite andmetel esines maksimaalne stimulatsioon 30-sekundilise helitamise puhul. Ekspositsiooni aja suurendamisel üle 30 sekundi ultraheli stimuleeriv toime nõrgenes.

Kui Komolova oma esimeste uurimistega tõestas, et ultraheli põhjustab ainult esmase pungumise stimulatsiooni edasisele paljunemisele mõju avaldamata, siis hilisemate katsetega ta näitas, et stimulatsiooni tagajärjel esineb ka biomassi suurenemine.

Mis puutub stimulatsiooni efekti ja helitamise aja omavahelisse sõltuvusse, siis algul stimulatsioon kasvab koos mõjutamise aja pikenemisega. Kestvamal helitamisel stimulatsioon langeb, mis väljendub punguvate rakkude arvu vähenemises.

Kui helitatakse suspensioonis on punguvaid rakke, siis ultraheli mõjul nende protsent langeb.

Õpetlased Katsnelson ja Henoh (1951) ei täheldanud Saccharomyces cerevisiae kultuuril ultraheliga mõjutamisel ( $425 \text{ kHz}$ ) mingeid nähtavaid muutusi.

Selleks, et täielikult mõista ultraheli toime mehhanismi, on vaja tunda kõiki neid faktoreid mis avaldavad n.õ. kõrvalmõju.

Elkõige tuleb tähelepanu pöörata keskkonna viskoossusele. On teada, et viskoossemas meediumis hävib vähem pärmirakke kui vees. Sama sageduse puhul kavitatsioon avaldub kraanivees tugevamini kui viskoosset vedelikus.

Rakkude inaktiveerumine on tihedalt seotud kavitatsiooniprotsessidega, mida kinnitavad ka keskkonna degaseerimise katsed. Degaseeritud keskkonnas on mikroobide hävimise efekt äärmiselt väike. Mikroorganismide inaktivatsiooni täheldatakse ainult mingit gaasi sisaldavas keskkonnas. Kõik, mis takistab kavitatsiooni, vähendab ka ultraheli inaktiveerivat toimet.

Tähelepanu väärivad katsed, mis teostati pärmirakkudega erinevate gaaside - hapniku, argooni, vesiniku ja süsihappegaasi atmosfääris.

Ultraheli avaldab ühesugust mõju nii õhu kui ka hapnikuga küllastatud pärmseente suspensioonile. Argooni ja vesinikuga küllastatud pärmseente suspensioonile avaldas ultraheli suhteliselt nõrka toimet, süsihappegaasiga küllastatud suspensioonile oli mõju tühine (Komolova ja Levinson, 1960).

Kuidas seda seletada?

Hapniku, vesiniku, argooni ja õhu lahustumine vees on väiksem kui seda oleks vaja rõhu moodustumiseks kavitatsioonioõnes, et takistada põiekese kokkusurumist ja koos sellega vähendada kavitatsiooni mehhaanilist jõudu. Elektri-laengute juuresolekul moodustuvad kavitatsioonioõnes keemiliselt aktiivsed ioonid, mis nähtavasti on kahjulikud helitavatavatele mikroorganismidele. Niisugustes tingimustes, kus hapendusproduktide teke on pidurdatud, hävib pärmseoni vähe.

Vesiniku atmosfääris moodustuvad ultraheli mõjul aktiivsed radikaalid, mis taanduvad. Vesinik täidab siinjuures aktseptori osa ja kaitses pärmirakke ultraheli kahjulikku toime eest. Argooniga küllastatud suspensioonis esineb hapniku puudujääk kavitatsioonil vabanenud vesiniku hapendamiseks. Hapendusproduktid ei teki mitte ainult vabanenud atomaarse vesiniku hapendumisel hapnikuga, vaid ka vee molekulide ionisatsiooniproduktide rekombinatsiooniteel. Seepärast ka inertsete gaaside juuresolekul avaldub alati ultraheli hapendav toime, olgugi et palju kõrgemini kui hapniku juuresolekul.

Kuidas aga seletada süsihappegaasi puhul enamiku pärmi-seente ellujäämist?

Tekkihud kavitatsioonitühimikud täituvad otsekohe süsihappegaasiga ja neis moodustunud suur gaasirõhk takistab vee ionisatsiooni. Kui viimane põhjustaks ultraheli inaktiveerivat toimet, siis suspensiooni vesinikuga küllastamisel võiks oletada suurema hulga rakkude kahjustumist kui katses tegelikult ilmes. Järelikult ultraheli inaktiveerivat toimet põhjustab peamiselt mõni teine faktor. Süsihappegaasi suur rõhk põiekeses takistab tema kokkusurumist, mis tõttu rõhkude vahest tingitud mehhaaniline faktor puudub ja inaktiveeriv toime helitatavatele rakkudele ei avaldu.

Ultraheli inaktiveeriv toime väheneb ka kõrge aururõhuga vedelike (eeter, atseton jt.) juuresolekul. Teatavasti eelpoolmainitud ainete lisamine takistab põiekesse kokkusurumist ja loob ebasobivad tingimused löögilaine tekkeks. Ultraheli poolt põhjustatavate muutuste loomuse selgitamisel on oluline teada ioonide ja pH mõju. Komolova ja Levinson

(1964) tõestasid, et ellujäänud mikroobide protsent ei sõltu keskkonnas olevatestioonidest. Keskkonna pH vahemikus 3-11 pärmirakkude hävimisele mõju ei avalda.

Et kahjustuste määr ei sõltu keskkonna pH ega ioonide koostisest, siis puudub võimalus rakkude inaktivatsiooni- mehhanismi seletada Hompesch'i teooriaga, mille järgi ultraheli mõjul kesta mineraalne struktuur lahustub (Komolova jt., 1964).

Et ultraheliga mõjustamisel esinevad keskkonnas ka keemilised muutused, siis on vaja teada nende mõju mikroorganismidele. On teada, et vee helitamisel moodustub kavitatsiooniprotsesside tulemusena vabade radikaalide rekombinatsiooniprodukt  $H_2O_2$  ja õhu lämmastiku hapendusprodukt  $HNO_2$ . Teatud kontsentratsioonini kuhjunud  $H_2O_2$  ja  $HNO_2$  vastastikuse toime tulemusena moodustub  $HNO_3$ , mis alandab meediumi pH.

Erilist huvi pakub  $H_2O_2$  ja  $HNO_2$  kui bakteritsiidsete ainete mõju uurimine pärmirakkudele. Selgitati, et keskkonnas keemiliste ainete kuhjumise tagajärjel suureneb väljasurevate pärmirakkude arv.

Komolova (1962) püüdis selgitada, missugust mõju avaldab ultraheli erinevas füsioloogilises seisundis olevatele pärmirakkudele. Selleks ta hoidis osa rakke 24 tunni vältel termostaadis  $30^\circ C$  juures steriilses vees. Need rakud käitusid nagu "nälginud" rakud. Tund aega enne helitamist üht osa rakke hoiti õllevirdes, teist osa vees. Pärmide tunniajaline õllevirdes hoidmine ei ole piisav, et algaks pungumine. Tunni aja jooksul "nälginud" pärmidel ensüümide aktiivsus taastus ja need rakud käitusid nagu teisedki. Uuritavad rakud suspendeeriti uuesti steriilsesse kraani-

vette ja helitati.

Katsest selgus, et "nälginud" rakud on ultraheli kahjustava toime suhtes vähemtundlikumad kui normaalsed rakud. Rakkude tundlikkuse vähenemine seletub ainevahetusprotsesside nõrgenemisega. Järelikult avaldab rakkude füsioloogiline seisund olulist osa kahjustusastme tekkimisel.

Ultraheli toimemehhanismi seletamisel on veel palju ebaselget.

Elpiner oma arvukate uurimiste põhjal väidab, et morfoloogiliste ja funktsionaalsete muutuste aluseks on rakkudes esinevad tasakaalu nihkumised.

#### Ultraheli mõju orgaanilistele ühenditele in vitro

Ultraheli mõjul orgaanilised ühendid alluvad keemilistele muutustele, mille iseloom sõltub uuritava aine struktuurist, ultraheli intensiivsusest ja juuresoleva gaasi omadustest. Kindlates helitamistingimustes täheldatakse peale hapendus-taandusprotsesside desamiinimist ja dekarboksüleerimist, aga ka uute funktsionaalsete gruppide sisseviimist uuritava aine molekuli. Ultraheli abil on võimalik viia uuritava aine molekuli OH, NH, NH<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> jt. gruppe. Seda kinnitab asjolu, et metioniini vesilahuse helitamisel molekulaarse vesiniku juuresolekul ilmub keskkonda homotsüsteiin (Bronskaja, Smirnova ja Elpiner, 1965).

Ultraheli energia teeldumine mitmesuguse kontsentratsiooniga orgaaniliste ühendite lahustes on erinev. Organi-

liste hapete lahustes kontsentratsiooni tõustes suureneb ka ultraheli energia neeldumine.

Järelikult kontsentratsiooni muutus põhjustab kavitatsiooni esilekutsuva ultraheli energia muutumist (Degrois ja Badillian, 1966).

Ultraheli mõjul orgaanilised ühendid in vitro kalduvad kõige mitmekesisematele muutustele.

Põltsahhariid dekstraan laguneb ultraheli mõjul madalamolekulaarseteks osakesteks (Zorina ja Elpiner, 1963).

Analoogiliste madalamolekulaarsete osakeste teket täheldati ka sahharoosi puhul (Elpiner ja Surova, 1953). ühendid. Elpiner jt. (1951) täheldasid porfüriintuuma lagunemist. Ultraheli mõjul laguneb bensoolirõngas, mis on püsiv tugevate hapendajate suhtes. Lagunemistendents avaldub ka ühe- ja kaheaatomiliste lämmastikku sisaldavate kuuelüliliste tsükliite puhul (Elpiner ja Sokolskaja, 1963).

Eluprotsessides olulist osa etendavad puriin- ja pürimidiinalused erinevad tundlikkuse poolest ultraheli suhtes. Kõige tundlikum on uratsüül, kõige vähem tundlikud adeniin ja guaniin (Elpiner ja Sokolskaja, 1960).

Ultraheli toimel tekkinud muutused sõltuvad juuresoleva gaasi omadustest.

Kavitatsioonipõiekestes tekivad ioniseeruvad radikaalid, millel on kas tugev hapendav või taandav toime. Kui lahusest eemaldati molekulaarne hapnik, siis pidurdusid ka lämmastikaluste hapendusprotsessid.

Lämmastikaluste helitamisel generaatoriga, mille sagedus oli  $560 \text{ kHz}$  ja võimsus  $10-12 \text{ w/cm}^2$ , täheldati fluorestseeruvate ühendite teket (Stekolnikov ja Elpiner, 1965).

Hapniku juuresolekul täheldati lämmastikalustel farmakoloog-

giliste omaduste kadumist. Molekulaarse vesinikuga küllastatud lahuse helitamisel ühendid säilitavad nii bioloogilised kui ka farmakoloogilised omadused.

Ultraheli (600 kHz) mõjul polünukleotiidid depolümeeruvad (Zbarski jt., 1951).

Ultraheli mõjul aminohapped ja valgud teevad läbi sügavaid muutusi.

Helitamisel generaatoriga, mille sagedus oli 550 kHz ja võimsus 8 w/cm<sup>2</sup>, täheldati aminohapete hapendumist. Hapendusprotsesside toimumise eelduseks on kavitatsioonile olemasolu. Mõnede aminohapete vesilahused omandasid helitamisel värvuse. Trüptofaani värvitut vesilahus muutus 1 kuni 1,5-tunnilise ekspositsioonaja vältel roosaks, türosiini lahus punakaspruuniks, histidiini lahus kollaseks. Ultraheli mõjul ei täheldatud värvuse muutusi asparagiin- ja glutamiinhappe,alaniini,seriini, treoniini, lüsiini ja glütsiini lahustel. Kusjuures ultraheli toimel langes türosiini, leutsiini, valiini, metioniini, histidiini ja trüptofaani sisaldus (Elpiner ja Sokolskaja, 1958).

Järelikult sügavatele muutustele kalduvad eelkõige tsüklilise ehitusega aminohapped.

Ultraheli mõjul alitaatsed aminohapped lagunevad (Henoh ja Lapinskaja, 1951, 1958). Haruldane ei ole ka uute ühendite teke aminohapete laguproduktide vastastikuse toime tulemusena (Elpiner ja Sokolskaja, 1958).

Hapendusprotsessid põhjustavad aminohapetes desamiinimise ja N-H sideme lõhustumise (Lapinskaja jt. 1954).

Huvipakkuvad on tööd, mis käsitlevad ultraheli mõjul orgaaniliste hapete muutusi.

Ultraheli toimel moodustuvad lämmastikuga küllastatud orgaaniliste ühendite vesilahustes aminohapped. Seejuures säilib see süsinikskelett, mis oli orgaanilisel happel. Sel teel on saadud merivaikhapest asparagiinhape, glutaarhapest glutamiinhape, äädikhapest glütsiin. Katsetes kasutati ultraheli, mille sagedus oli  $580 \text{ kHz}$ , võimsus  $10-12 \text{ w/cm}^2$  ja ekspositsiooniaeg 8 tundi (Sokolskaja ja Elpiner, 1961; Elpiner ja Sokolskaja, 1961).

Aminohapete süntees oli intensiivsem kui helitatav kekkond rikastati argooniga ja sinna lisati väike kogus sünteesitavat aminohapet.

Kõrgmolekulaarsed üendid alluvad ultraheli toimel sügavatele muutustele. Valgulahuste helitamiseks kasutati ultraheli, mille võimsus oli  $35-40 \text{ w/cm}^2$ . Valgulahustes alluvad muutustele dicoolrühm ja disulfiidsed grupid. Hapendusprotsessid kutsuvad esile valgu makromolekulis tsükli-  
liste aminohapete rõngas desamiinimise ja N-H sideme lõhus-  
tumise (Bronskaja ja Elpiner, 1963).

Valgumolekulide gloobulite vahelised sidemed alluvad kergesti ultraheli lagundavale mõjule. Pikaajalisel ekspositsioonil toimuvad veelgi sügavamad muutused. Kui katsetes kasutati ultraheli, mille sagedus oli  $600 \text{ kHz}$ , võimsus  $8 \text{ w/cm}^2$  ja ekspositsiooniaeg 4 tundi, siis tehti kindlaks, et lagunevad eelkõige tsükli-  
lise ehitusega aminohapped (Elpiner, 1960; Elpiner ja Sokolskaja, 1958).

Valgumolekuli sisesed sidemed katkevad kergesti ultraheli mõjul, polüfosfaat kompleksis valguga osutus aga üllatavalt vastupidavaks (Braginskaja ja Elpiner, 1963). Valgu ja polüfosfaadi omavaheline side ei katkenud isegi pärast 2-tunnilist vees helitamist generaatoriga, mille sagedus oli  $800 \text{ kHz}$  ja võimsus  $20 \text{ w/cm}^2$ .

Samasugust suurt vastupidavust täheldati ka  $\beta$ -globuliini ja polüfosfaadi vahelisel sidemel.

Valkudest - albumiinist ja müosiinist eraldusid juba 20-minutilise helitamise puhul tsükliliste aminohapete jäägid. Ka  $\beta$ -globuliin eraldi on ultraheli kahjustava toime suhtes tundlik (Zorina jt., 1965). Kromatograafiliselt määrati ultraheli toimele tekkinud nelja fraktsiooni koostis. Laguproduktide hulgas täheldati aminohapetest tsüsteiini, asparagiinhapet ja lüsiini. Tähelepanuvääriv on see, et valgu fragmendid säilitasid oma antigeense aktiivuse.

Teadlased ei ole jõudnud lõplikule otsusele ultraheli toimele toimivate muutuste selgitamisel. Pole selge, kas oluline osa on mehhaanilisel toimele või vee ja lahustatud aine osakeste omavahelistel keemilistel protsessidel.

Pikaahelalised molekulid lagunevad mehhaanilisel teel, mis on seletatav sellega, et lahus ja makromolekulid liiguvad suure kiirusega (Elpiner, 1954).

Elpiner ja Surova (1954) väidavad, et valgud ja aminohapped lagunevad ultraheli kaudse toime tulemusena. Seda tuleks pidada tõenäolisemaks kui mehhaanilist toimet, sest valgumolekulid muutuvad ka ultraheli toimele, mille võimsus on allpool kavitatsiooni piiri.

Eksperimentaalselt on tõestatud, et vee laguproduktidega reageerivad ained muutuvad ise radikaalide, aatomite ja ionide allikaks, soodustades edaspidiseid keemilisi protsesse. Selline ettekujutus ultraheli toimemehhanismist on laiendatav ka bioloogilistele objektidele.

Ultraheli mõju mikroobide füsioloogilistele protsessidele ja biokeemilisele koostisele.

Ultraheli mõjul ei täheldata mitte ainult rakkude ja rakustruktuuride lõhustumist, vaid ka rakusisesid biokeemilisi ja funktsionaalseid muutusi. Nimetatud muutused esinevad ka ultraheli suhtes resistentsetes rakkudes. Biokeemiliste ja füsioloogiliste muutuste tee on keeruline, muutused on tingitud biokatalüsaatorite, inhibiitorite ja substraatide, aga ka makromolekulaarsete komplekside vastastikuste seoste tekkimisest. Seejuures ei saa teisejärguliseks pidada ultraheli intensiivsust, ekspositsiooniaega ja mõjustamiskeskonnas oleva gaasi omadusi.

Ultraheli abil tegi õpetlane Kosikov (1954) kindlaks fermentide lokalisatsiooni Saccharomyces globosus'e rakkudes. Varem arvati, et mainitud kultuuril ensüüm invertaas puudub. Saccharomyces globosus'e rakke mõjustati ultraheli-  
ga, mille sagedus oli  $740 \text{ kHz}$  ja võimsus  $10 \text{ W/cm}^2$ , mispuhul õnnestus <sup>neis</sup> siis identifitseerida aktiivne invertaas, mis paiknes raku kestades. Fermendi aktiivsus suurenes seepärast, et ultraheli mõjul kahjustusid ensüümi makromolekulaarsed kompleksid, mis põhjustasid molekulide ruumilises konfiguratsiooni ja orientatsioonis muutusi.

Uurijad Katsnelson ja Henoh (1951) oma arvukate katsete põhjal väidavad, et ultraheli põhjustab pärmseentes käärimisenergia muutumist. Ultraheli, mille sagedus oli  $425 \text{ kHz}$  1-tunnilisel helitamisel põhjustas Saccharomyces cerevisiae rakkudes käärimisenergia tõusu 15% võrra. En-

sümaatilise aktiivsuse suurenemist põhjustasid raku oksüdatsiooniprotsesside muutused.

Vastupidisel seisukohal on uurijad Gnutenko, Stromberger ja Gumilevskaja (1956), kes oma tööde põhjal jõudsid järeldusele, et ultraheli poolt kahjustamata jäänud rakkudel käärimisvõime langeb. Selline seisukoht ultraheli toime suhtes ensümaatilistele protsessidele on seletatav erinevate dooside kasutamisega. Madalate võimsuste puhul ilmneb stimuleerimine, kõrgete puhul aga inaktivatsioon.

Elpiner ja Kriger (1963), viisid läbi huvitavad katsed sahharomütsetidega, kasutades ultraheli (sagedusega  $740 \text{ kHz}$  ja võimsusega  $10 \text{ w/cm}^2$ ), mille toimel ei täheldatud rakkudel väliseid morfoloogilisi muutusi ega paljunemise pidurdumist. Rakus aga vabanõs rida bioloogiliselt aktiivseid aineid (vitamiinid, ferendid jt.), mis intaktsetes rakkudes esinevad seotud kujul.

Meisel jt. (1956) jälgisid ultraheli mõju sahharomütsetide steroidide sisaldusele. Rakkudes on steroidid ergosteroolina. Pärmisuspensiooni helitamisel  $740 \text{ kHz}$  ja võimsusega  $10 \text{ w/cm}^2$  45 minuti vältel tõusis rakkudes ergosterooli sisaldus 30-60% võrra. Ergosterooli sisaldus tõuseb ainult ultraheli toime tulemusena. Teised füüsikalised faktorid ei ole ultraheliga ses suhtes võimelised konkureerima.

Azotobacter chroococcum kaotas ultraheli mõjul limakapslite moodustamise võime. 10-15-minutilisel helitamisel sagedusega  $380 \text{ kHz}$  ja võimsusega  $2-3 \text{ w/cm}^2$ , täheldasid Fadejeva ja Elpiner (1959) asotobakteri arengu aeglustumist ning sügavaid muutusi nende ainevahetusprotsessides. Helitatud kultuurist korduvalt ümberkülvatud asotobakteri rakud

ei erinenud millegi poolest helitamata kultuuri rakkudest. Järelikult ultraheli poolt esile kutsutud muutused olid pöörduva iseloomuga ja juba kolmanda ümberkülvi järgi kadusid.

Ultraheli toime tulemusena tõuseb mikroorganismide tundlikkus penitsilliini ja desinfitseerivate ainete suhtes. Ultraheliga mõjustatud soolekepikesi sisaldava vee steriliseerimiseks kulus vähem kloori, formaliini jt. desinfitseerivaid aineid kui helitamata vee steriliseerimiseks.

Elpiner (1960) seletab ultraheli toimel allunud mikroorganismide suurenenud tundlikkust desinfitseerivate ainete suhtes mikroobi kesta makromolekulaarsete struktuuride vaheliste sidemete katkemisega, mistõttu muutub kesta läbilaskvus.

Analoogilisi andmeid said Elpiner jt. (1961) tuberkuloosikepikesega, kusjuures kõige paremaid tulemusi saadi vahetult peale helitamist kloreerimise puhul.

Joogivee desinfitseerimisel kombineeritud meetodiga on saanud efektiivseid tulemusi uurijad Elpiner (1960), Kantor (1954) ja Falkovskaja (1956).

Järgnevalt tuuakse ultraheli mõjul taim- ja loomarakkudes toimuvate muutuste kohta mõned seisukohad.

Mitmed autorid on täheldanud taimerakkudes ultraheli mõjul fermentide aktiivsuse tõusu. Popov (1963) peab seemnetel hüdrolüütiliste fermentide aktiivsuse suurenemist teisejärguliseks, mis tuleneb protoplasma orgaaniliste ainete depolarisatsioonist.

Elpiner (1964) täheldas helitatud taimerakkudes oksüdaasi, invertaasi ja ektoapiraasi aktiivsuse tõusu. Ensüü-

nide aktiivsus suurenes ultraheli puhul, mille sagedus oli  $380 \text{ kHz}$ , võimsus  $5 \text{ w/cm}^2$  ja ekspositsiooniaeg 5 minutit.

Ultraheli suhtes on väga tundlikud kudede hingamis- ja glükolüüsiprotsessid. Svadkovskaja (1964) saavutas ultraheliga  $0,85 \text{ w/cm}^2$  füsioloogiliste protsesside alanemise. See-eest aga väga nõrga võimsusega ultraheliga ( $0,08 \text{ w/cm}^2$ ) ühekordsel helitamisel stimuleerusid kudedes mainitud protsessid ning teistkordsel helitamisel hingamine ja glükolüüs normaliseerusid.

Paljud õpetlased on täheldanud tsütoloogilisi ja funktsionaalseid muutusi looma- ja taimerakkudes

Šlök ja Baleva (1965) tõestasid, et noored klorofüllirikad rakud on ultraheli suhtes vastupidavamad kui vanad rakud.

Olenevalt kasutatavast ultraheli doosist võivad taimerakkudes toimuda sügavad muutused. Breslavits ja Elpiner (1956) väidavad, et ultraheli toimel väheneb protoplasma viskoossus, struktuuride moodustumisvõime kaob ja tekib tiksootroofia.

Borovjagin ja Elpiner (1964) täheldasid lihasrakkude mitokondrites struktuuri muutusi. Helitamise suhtes olid tundlikumad need mitokondrid, milles olid raku elutegevuse suhtes tähtsad fermentid nagu tsütokroomoksüdaas, suktsiinoksüdaas, adenosüintrifosfataas jt. Samad autorid täheldasid maksa rakkudes dissotsiatsiooni, mille tulemusena kadus rakkudest glükogeen. Munarakkudes täheldas Bernstein (1964) kromosoomi aberratsioone.

Dnitrijeva (1964) helitas kasvajarakke sagedusega  $1500 \text{ kHz}$  ja võimsusega  $150 \text{ w/cm}^2$ . Juba 1,3 sekundilise

helitamise tulemusena toimusid kasvajaraku mitokondrites struktuuri muutused. Pikemaajalisel ekspositsioonil mitokondrid kaotasid oma seesmise organiseerituse ja lõpuks lahustusid kasvajarakkude plasmas.

Elpiner jt. (1958 ; 1963) jälgisid ultraheli mõjul erütrotsüütides toimuvaid muutusi. <sup>Väikese</sup> (võimsusega ultraheli puhul ilmnesid erütrotsüütide rakumembraanides füüsikaliskemilised muutused. Suurema võimsusega ultraheli põhjustas sügavamaid muutusi. Algul toimub puhetumine ja seesmine struktuur muutub teralisemaks, järgmise etapina tekivad stroomas kämbud. Juba 1-minutilise ekspositsiooni puhul (sagedus  $380 \text{ kHz}$  ja võimsus  $6 \text{ w/cm}^2$ ) tekkis erütrotsüütide aglutinatsioon.

Ultraheli toimemehhanismi kohta makroorganismidele pole veel ühtset arvamust. Detailsemalt on uuritud mikroorganismides toimuvaid muutusi.

Arvukatest töödest selgub, et submikroskoopiliste struktuuride makromolekulide vahelised sidemed alluvad kergesti ultraheli toimele. Seejuures võib aset leida molekulikomplekside keeruline lahutamine, millega kaasneb fermentatiivse aktiivsuse langus. Konfiguratsiooni ruumilised ümberpaiknemised teatud juhtudel võivad viia ensümaatilise aktiivsuse tõusule. Siiani pole veel õnnestunud selgitada missuguste raku submikroskoopiliste struktuuride osavõtul nimetatud muutused toimuvad.

## Katsemetoodika ja töökaitse

Diplomitöö raames teostatud katsete eesmärgiks oli kindlaks teha ultraheli mõju pärmseente paljunemisele ja nende vabade aminohapete sisaldusele.

Katsetega püüti kindlaks teha, missuguse võimsuse ja ekspositsiooniaja juures ultraheli stimuleerib pärmirakkude paljunemist. Töö eesmärk tuleneb rahvamajanduse vajadustest saada lühema ajaga rohkem pärmimassi.

Töö teises osas jälgitakse ultraheli toimele allutatud pärmirakkudes vabade aminohapete kvantitatiivseid ja kvalitatiivseid muutusi.

Katseobjektiks oli tööstuslikku tähtsust omav Saccharomycetaceae perekonda kuuluv pärm - Saccharomyces cerevisiae. Selle liigi rakud on ovaalsed või kerakujulised, hästi differentseerunud tuumaga, nende tsütoplasma on homogeenne. Pärmiraku mõõtmed on tavaliselt  $5-8 \times 7-10 \mu$ . Paljunemine toimub neil pungumise, sporulatsiooni ja ka sugulisel teel.

Spoorid moodustuvad toitainete vaeses keskkonnas, kusjuures tekkinud endospoorid on 2-, 4-, 6-, 8-, 16-jne. kaupa.

Helitamiseks kasutati 2 ultraheli generaatorit

- 1)  $YTP - 1$ , mille võimsus oli  $0-2 \text{ W/cm}^2$  ja sagedus  $830 \pm 15 \text{ kHz}$  ja
- 2)  $YTP - 1$ , mille sagedus on  $880 \text{ kHz}$  ja võimsus samuti  $0-2 \text{ W/cm}^2$ .

Katsete teostamisel peeti kinni töökaitse seadustest. Helitamine viidi läbi vee keskkonnas ja välditi kiirguse levimist ümbritsevasse keskkonda.

Mikrobioloogilisteks analüüsideks vajalike vahendite ja söötmete steriliseerimine toimus autoklaavis. Enne tööleasumist tutvuti autoklaavi kasutamise eeskirjaga ja laboratooriumis töötamise ohutustehnika ning töökaitse nõuetega, mille kohta sooritati juhendavale õppejõule arvestus.

Pärmseente biomassi produktsiooni uurimise katsed teostati järgmiselt. Helitav pärmisuspensioon valmistati 4-ööpäeva vanusest pärmikultuurist 6° õllevirdesse. Suspensiooni koksutati 1 tunni vältel rakkude üksteisest eraldamiseks. Suspensioon valati väikestes klaaspudelitesse. Helitamiseks asetati korgitud pudelid bidestilleeritud vette. Üht suspensiooniga pudelit helitati võimsuse juures  $0,4 \text{ W/cm}^2$ , teist -  $1,2 \text{ W/cm}^2$ . Ekspositsioonigaeg oli 5 minutit. Kolmandat pudelit, mis jäeti kontrolliks, hoiti 5 minuti vältel samasuguse temperatuuriga vees nagu see esines helitatavatel variantidel. Igast katsevariantist teostati külvi (5 ml) 500 ml 6° õllevirdesse 2 korduses. Pärmirakkude arv inokulumis oli 1,5-3 miljonit /ml-s. Pärmirakkude arv katsekolbides määrati pärast külvi Gorjajevi kambris lugemise teel ja paralleelselt ka fotoelektronefelomeetriliselt. Katsekolbe inkubeeriti 28° C juures ühtlase aeratsiooni tingimustes. Biomassi produktsiooni määrati kindlate

ajavahemikude järel kuni 30 tunnini pärast katse ülessead-  
mist nefelometreerilisel teel. Pärmirakkude arv leiti ne-  
felomeetri kaliiberköveralt.

Kirjeldatud meetodika järgi viidi läbi 4 katseseeriat.  
Et kahe ülesande täitmine - biomassi produktiivsuse ja va-  
bade aminohapete kvantitatiivne määramine - kujunes ühele  
üliõpilasele ülejökäivaks, siis hilisemas töös määrati  
ainult vabade aminohapete sisaldust. Biomassi produktiiv-  
suse määramist hakkasid läbi viima V kursuse üliõpilased  
T. Kraam, M. Kruusmann ja R. Tallo.

Nimetatud 4 katseseeria tulemused omavad ainult orien-  
teeruvat iseloomu, sest biomassi juurdekasvu määrati pikka-  
de ajavahemikkude järele, siis ei peetud vajalikuks palju-  
nemise kohta saadud andmete statistilist läbi töötamist.

Tehnilise baasi paranemise tõttu (kateeder sai ultra-  
heli generaatori), tehti massi kasvatamise meetodikas mõ-  
ningaid täiendusi. Inokulum valmistati 0,9% füsioloogilis-  
se lahusesse. Helitamisel andur sukeldati pärmisuspensi-  
oni ja ekspositsiooniga pikendati 15 minutini, võimsus  
jäi aga endiseks. Helitamiseks kasutati ultraheli generaa-  
torit УТН - 1. Toitekeskkonnaks oli 1,2° melassööde,  
mille pH viidi 5-ni ja rikastati toitesooladega. Õllevir-  
re asendati melassiga seepärast, et taheti katsetingimusi  
lähendada tootmingimustele. Inkubeerimine toimus 1 öö-  
päeva vältel ühtlase õhustamise tingimustes.

Pärmirakkude vabade aminohapete sisaldus määrati  
esimeste katseseeriade puhul 3-ööpäevase termostateerimise

järel (7 seeriat) ja hilisemates katsetes 1-ööpäevase termostateerimise järel pärast helitamist (4 katse - seeriat).

Käesolevas töös määrati kõigis katsevariantides vabade aminohapete sisaldus nii kvantitatiivselt kui ka kvalitatiivselt.

Vabade aminohapete määramine toimus paberkromatograafilisel meetodil. Kromatografeerimiseks kasutatavad ekstraktid valmistati järgmiselt.

Pärnirakud eraldati teitekeskkonnast tsentrifugimise teel. Saadud rakumass pesti 2 korda atsetoni- ga ja 2 korda eetri- ga. Iga pesemise järel rakumass eraldati tsentrifugimise teel. Pärast viimast pesemist rakumass kuivatati 37° C juures.

Aminohapete määramiseks võeti 0,5 g õhukuiva pärnimas- si ja pandi umr- isse, kus purustati 30 minuti jooksul koos klaasipuruga (vahet- korras 1:2). Purustatud rakumassile lisati vabade aminohapete ekstraheerimiseks 5 ml 82% etanooli ja jäeti paariks tunniks seisma, kusjuures aeg- ajalt loksutati. Purustamist ja ekstraheerimist korrati 2,5 ml 50° destilleeritud vee- ga. Supernatandid ühendati ja selgitati tsentrifugimise teel.

Saadud ekstraktist sadestati valgud 10% Pb- atsetaadiga, mille liig kõrvaldati küllastatud  $(NH_4)_2 CO_3$ .

Määratavate aminohapete kontsentratsiooni suurendamiseks aurutati ekstrakte veevannil (55° C juures) võrdse mahuni (5 ml).

Saadud ekstraktid kanti mitmesuguses koguses kro-

matografeerimispaaberile, optimaalseks osutus 0,1 ml.

Voolutamine toimus n - butanoolist, äädikhappest (98%) ja destilleeritud veest valmistatud voolutis. Nimetatud ainetest valmistati kaks voolutit, esimeses neist oli komponentide vaheline suhe 4:1:5, teises 40:15:5 (Pashina, 1964). Kummaski neist voolutati kromatogramme 2 korda.

Et n - butanool on mürgine ja mõjub eriti kahjustavalt limaskestadele, siis voolutite valmistamine ja kromatogrammide kuivatamine toimus tõmbekapis.

Pärast neljakordset voolutamist kromatogrammid kuivatati ja ilmutati ninhüdriinilmutiga. Ilmuti valmistati järgmiselt:

75 mg  $\text{CdCl}_2$   
2 g ninhüdriini  
5,4 ml destilleeritud vett  
0,3 ml 98% äädikhapet  
100 ml atsetooni.

Aminohapete laikude ilmumise kiirendamiseks asetati tõmbekapis kuivanud kromatogrammid 20 minutiks termostaati (80 - 90° C).

Aminohapped identifitseeriti märklahustest valmistatud kromatogrammide abil, mille kromatografeerimine toimus samades tingimustes.

Ilmutatud laigud löigati välja ja elueeriti 6 ml

50% metanooliga 1 tunni jooksul pimedas. Kvantitatiivne määramine viidi läbi fotoelektrokolorimeetri-  
liselt.

Aminohapete kvantitatiivseks määramiseks valmistati igale aminohappele kaliiberkõver, mis oli väga palju aega nõudev töö. Selleks kaaluti 50 mg aminohapet, mis lahustati 50 mg metanoolis, välja arvatud tsüsteiin ja türosiin, mis lahustati maksimaalse lahustuvuse saavutamiseks vees. Valmistatud alglahuseid, mille kontsentratsioon oli 1 mg milliliitris, lahjendati lahustiga järgmiste kontsentratsioonideni: 0,9 , 0,8 , 0,7 , 0,6 , 0,5 , 0,4 , 0,3 , 0,2 , 0,1 , 0,05 , 0,025 , 0,0125 ja 0,00625 mg / ml.

Lahjendustele lisati kindel hulk (2 ml) ninühüdrin-ilmu-  
ilmu- ning määrati lahuste värvuse intensiivsus foto-  
elektrokolorimeetri-  
liselt. Kolorimeetri näidud ja neile vastavad kontsentratsioonid ( $\mu$  g / ml ) kanti tabelisse ning teostati ümberarvutused ka  $\mu$  M-des milliliitri kohta.

Saadud andmete põhjal koostati aminohapete kaliiberkõverad, mille alusel leiti kolorimeetri näidule vastav aminohappe sisaldus  $\mu$  g-des milliliitri kohta. Kontsentratsioon  $\mu$  g-des milliliitri kohta arvutati ümber  $\mu$  M / ml-s.

Katseandmed töötati läbi ka statistiliselt.

### Katsetulemused

Esimeste katsete puhul, millal ultraheliga YTT-1 mõjustati 5 minuti jooksul pudelitesse paigutatud pärmi-  
liigi Saccharomyces cerevisiae suspensiooni, on produk-  
tiivsuse andmed paigutatud tabelitesse 1 ja 2, vabade  
aminohapete osas aga tabelitesse 3 kuni 5.

Töö teisel perioodil, millal kasutati ultraheli  
generaatoril sagedusega  $880 \text{ kHz}$  (helitamise aeg 15 min.,  
andur mõjustamise ajal suspensiooni sees), vabade amino-  
hapete kohta saadud andmed on toodud järgmistes tabelites.  
Pärmirakkude aminohapete keskmisi ( $\mu \text{M}$ ) ja keskmiste  
vigu väljendab tabel 6. Tabelid 7 ja 8 iseloomustavad  
katsevariantide aminohapete efekti nii absoluutsetes  
arvudes kui ka protsentides.

Pärmirakkude arvu aritmeetiline keskmine ja keskmiste vead.

T a b e l 1

Katse-variant	Rakkude arv milj-tes pärast külvi	Rakkude arv miljonites								
		Inkubatsiooniaeg tundi pärast külvi								
		2	3	5	15	18	20	22	24	30
K	0,20 ± 0,07	0,30 ± 0,11	0,46 ± 0,18	1,6 ± 0,40	21,7 ± 1,6	30,3 ± 5,1	41,8 ± 8,3	62,9 ± 10,4	102,8 ± 30,6	160,2 ± 28,7
0,4	0,19 ± 0,09	0,22 ± 0,12	0,59 ± 0,21	1,5 ± 0,29	22,3 ± 2,3	28,1 ± 4,9	40,0 ± 10,9	57,3 ± 11,3	84,8 ± 32,5	151,4 ± 31,0
1,2	0,25 ± 0,05	0,42 ± 0,15	0,57 ± 0,18	1,7 ± 0,30	23,3 ± 1,8	33,0 ± 3,5	49,1 ± 12,5	59,0 ± 14,2	93,6 ± 27,1	156,8 ± 24,9

— 34 —

Ultraheli mõju pärmirakkude paljunemisele

T a b e l 2

Katse-variant	Rakkude arv milj-tes pärast külvi	Rakkude arvu suurenemine inkubatsioonaja vältel korda								
		2	3	5	15	18	20	22	24	30
K	0,20	1,5	2,3	8,5	108,3	151,4	209,3	314,3	464,1	801,0
0,4	0,19	1,9	3,1	8,0	117,3	148,0	210,7	301,6	446,6	796,6
1,2	0,25	1,7	2,3	6,8	103,5	132,3	196,5	236,0	374,5	627,0

135-

Ultraheli mõju pärmirakkude aminohapete sisaldusele  
(keskmised  $\mu$ M-des ja keskmiste vead)

T a b e l 3

Aminohape	Kontroll	Võimsus W/cm <sup>2</sup>	
		0,4	0,2
leutsiin	0,73 ± 0,29	0,89 ± 0,15	0,90 ± 0,19
fenüülalaniin	1,35 ± 0,43	1,42 ± 0,35	1,30 ± 0,20
valiin	0,97 ± 0,34	0,88 ± 0,30	0,95 ± 0,37
metioniin	0,25 ± 0,08	0,28 ± 0,05	0,30 ± 0,12
-aminobutüraat	0,53 ± 0,20	0,50 ± 0,14	0,50 ± 0,23
türosiin	0,48 ± 0,16	0,56 ± 0,20	0,64 ± 0,17
proliin	0,21 ± 0,05	0,20 ± 0,03	0,18 ± 0,02
-alaniin	2,13 ± 0,51	2,48 ± 0,43	2,39 ± 0,49
treoniin	0,32 ± 0,12	0,25 ± 0,09	0,28 ± 0,11
glutamiinhape	0,75 ± 0,26	0,80 ± 0,16	0,69 ± 0,19
glütsiin	0,83 ± 0,32	0,71 ± 0,27	0,75 ± 0,25
seriin	1,53 ± 0,39	1,62 ± 0,42	1,60 ± 0,21
histidiin	0,69 ± 0,19	0,60 ± 0,20	0,65 ± 0,29
lüsiin	1,01 ± 0,27	1,18 ± 0,30	1,15 ± 0,33

-36-

Katsevariantide aminohapete sisalduse efektid (absoluutsed andmed)

T a b e l 4

Aminohape	0,4 W/cm <sup>2</sup>	Efekti tõenäo- sus	1,2 W/cm <sup>2</sup>	Efekti tõenäo- sus %
leutsiin	+0,46 ± 0,45	75	+0,17 ± 0,19	-
fenüülalaniin	+0,07 ± 0,35	-	-0,05 ± 0,20	-
valiin	-0,09 ± 0,30	-	-0,02 ± 0,37	-
metioniin	+0,03 ± 0,05	-	+0,05 ± 0,12	-
α-aminobutüraat	-0,03 ± 0,14	-	+0,03 ± 0,23	-
türosiin	+0,08 ± 0,20	-	+0,16 ± 0,17	-
proliin	-0,01 ± 0,03	-	-0,03 ± 0,02	-
α-alaniin	+0,35 ± 0,43	-	+0,26 ± 0,49	75
treoniin	-0,07 ± 0,09	-	-0,02 ± 0,11	-
glutamihape	+0,05 ± 0,16	-	-0,06 ± 0,19	-
glütsiin	-0,12 ± 0,27	-	-0,07 ± 0,25	-
seriin	+0,09 ± 0,42	-	+0,07 ± 0,21	-
histidiin	-0,09 ± 0,20	-	-0,04 ± 0,29	-
lüsiin	+0,17 ± 0,30	-	+0,14 ± 0,33	-

-37-

T a b e l 5

Katsevariantide aminohapete sisalduse  
efektid %-des

Aminohape	0,4 W/cm <sup>2</sup>	1,2 W/cm <sup>2</sup>
leutsiin	121	123
fenüülalaniin	105	96
valiin	111	98
metioniin	112	120
α-aminobutüraat	94	94
türosiin	116	133
proliin	95	85
α-alaniin	107	112
treoniin	78	87
glutamiinhape	106	92
glütsiin	85	90
seriin	106	98
histidiin	86	94
lüsiin	116	113

Ultraheli mõju pärmirakkude aminohapete sisaldusele

(keskmised  $\mu$  M-des ja keskmiste vead)

T a b e l 6

Aminohape	Kontroll		Ultraheli võimsus W/cm <sup>2</sup>			
			0,4		1,2	
leutsiin	0,85 ±	0,02	0,88 ±	0,03	0,98 ±	0,03
fenüülalaniin	0,93 ±	0,13	0,94 ±	0,02	1,07 ±	0,02
norvaliin	1,23 ±	0,09	1,31 ±	0,08	1,48 ±	0,11
metioniin	0,19 ±	0,04	0,27 ±	0,06	0,30 ±	0,09
türosiin	0,09 ±	0,03	0,11 ±	0,03	0,12 ±	0,02
proliin	0,34 ±	0,09	0,34 ±	0,07	0,35 ±	0,01
α-alaniin	2,81 ±	0,18	3,17 ±	0,31	3,25 ±	0,27
treoniin	0,63 ±	0,17	0,72 ±	0,20	0,73 ±	0,26
asparagiinhape	0,84 ±	0,02	0,82 ±	0,09	0,80 ±	0,07
seriin	1,62 ±	0,09	1,54 ±	0,10	1,90 ±	0,12
histidiin	1,09 ±	0,15	1,06 ±	0,15	1,18 ±	0,12
lüsiin	1,55 ±	0,31	1,71 ±	0,26	1,82 ±	0,20

-39-

Katsevariantide aminohapete sisalduse efektid  
(absoluutsed andmed)

T a b e l 7

Aminohape	0,4 W/cm <sup>2</sup>	Efekti tõenäosus %	1,2 W/cm <sup>2</sup>	Efekti tõenäosus %
leutsiin	+ 0,03 ± 0,02	-	+ 0,13 ± 0,03	95
fenüülalaniin	+ 0,01 ± 0,02	-	+ 0,14 ± 0,02	90
norvaliin	+ 0,08 ± 0,08	-	+ 0,25 ± 0,11	99
metioniin	+ 0,08 ± 0,06	90	+ 0,11 ± 0,09	90
türosiin	+ 0,02 ± 0,03	-	+ 0,03 ± 0,02	75
proliin	0	-	+ 0,01 ± 0,01	-
alaniin	+ 0,36 ± 0,31	75	+ 0,41 ± 0,27	95
treoniin	+ 0,09 ± 0,20	-	+ 0,10 ± 0,26	-
asparagiinhape	- 0,02 ± 0,09	-	- 0,04 ± 0,07	-
seriin	+ 0,08 ± 0,10	-	+ 0,28 ± 0,12	90
histidiin	- 0,03 ± 0,15	-	+ 0,09 ± 0,12	-
lüsiin	+ 0,16 ± 0,26	-	+ 0,27 ± 0,20	75

40-

Tabel 8

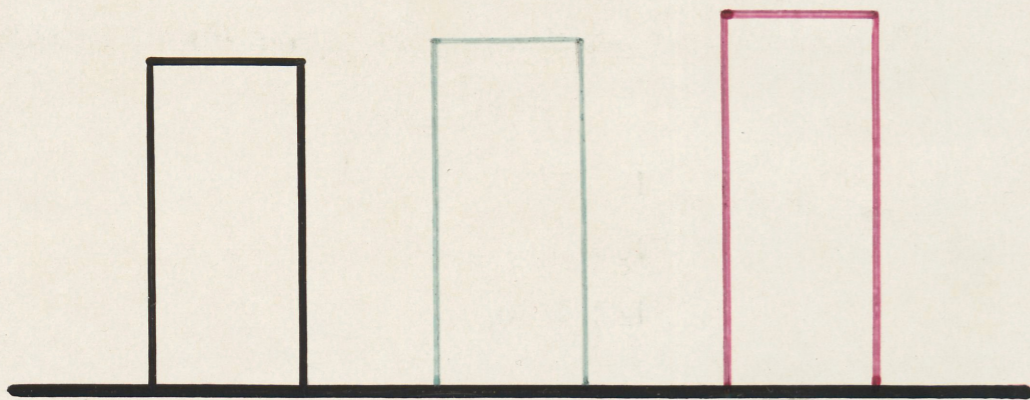
Katsevariantide aminohapete  
efektid %-des.

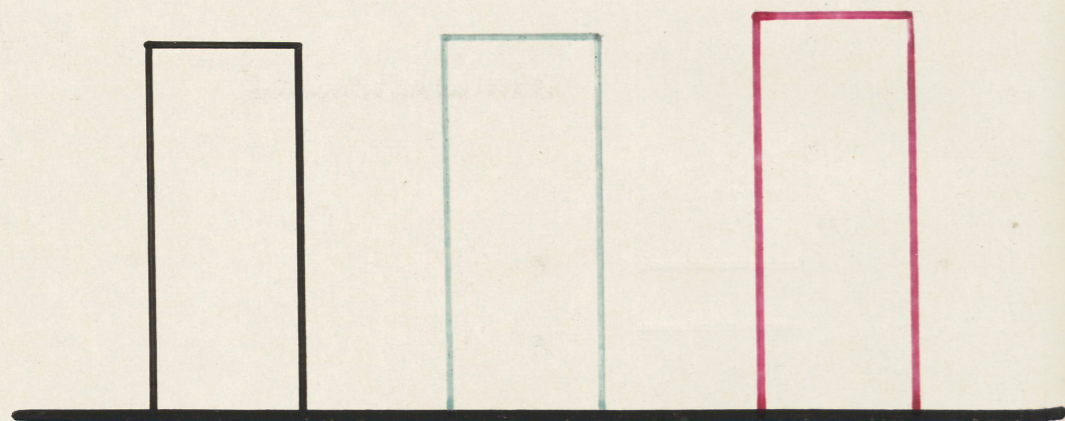
Aminohape	Variant 0,4 w/cm <sup>2</sup>	Variant 1,2 w/cm <sup>2</sup>
leutsiin	102	115
fenüülalaniin	101	114
norvaliin	106	120
metioniin	142	157
türosiin	122	133
proliin	100	103
alaniin	112	115
treoniin	114	115
asparagiinhape	97	95
seriin	95	117
histidiin	99	108
lüsiin	113	117

Joon. 1

Ultraheli mõju Saccharomyces cerevisiae leutsiini  
sisaldusele

- K
- 0.4 W/cm<sup>2</sup>
- 1.2 W/cm<sup>2</sup>

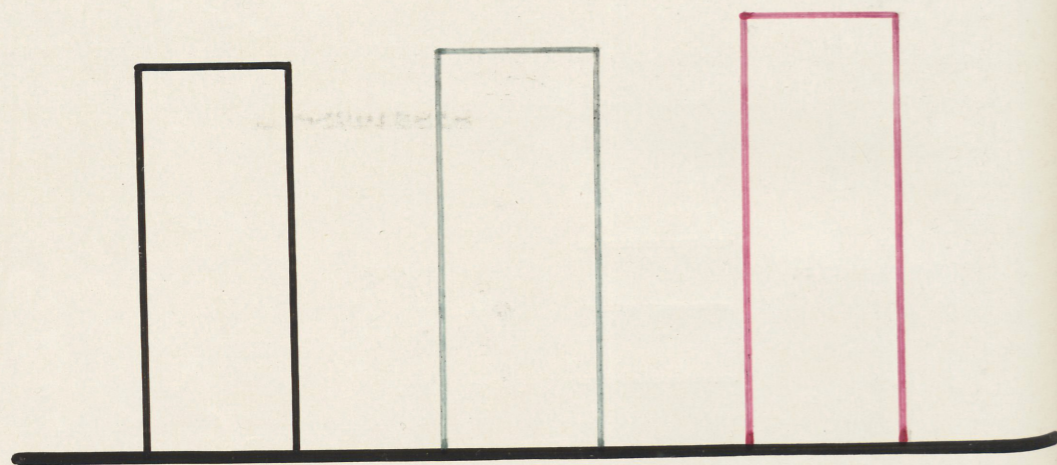




Joon. 2

Ultraheli mõju Saccharomyces cerevisiae fenüülala-  
niin sisaldusele

- K
- 0.4 W/cm<sup>2</sup>
- 1.2 W/cm<sup>2</sup>



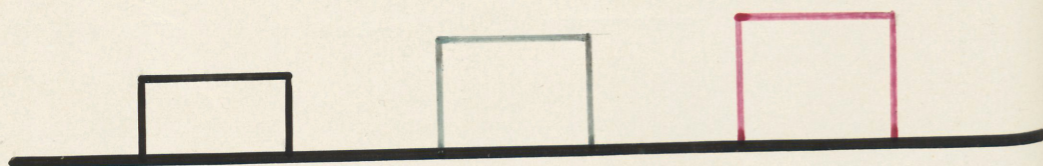
Joon. 3

Ultraheli mõju Saccharomyces cerevisiae norvaliini  
sisaldusele

- K
- 0,4 W/cm<sup>2</sup>
- 1,2 W/cm<sup>2</sup>

Joon. 4

Ultraheli mõju Saccharomyces cerevisiae metioniini  
sisaldusele

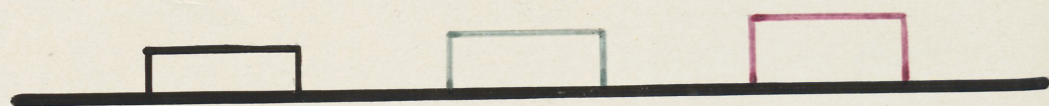


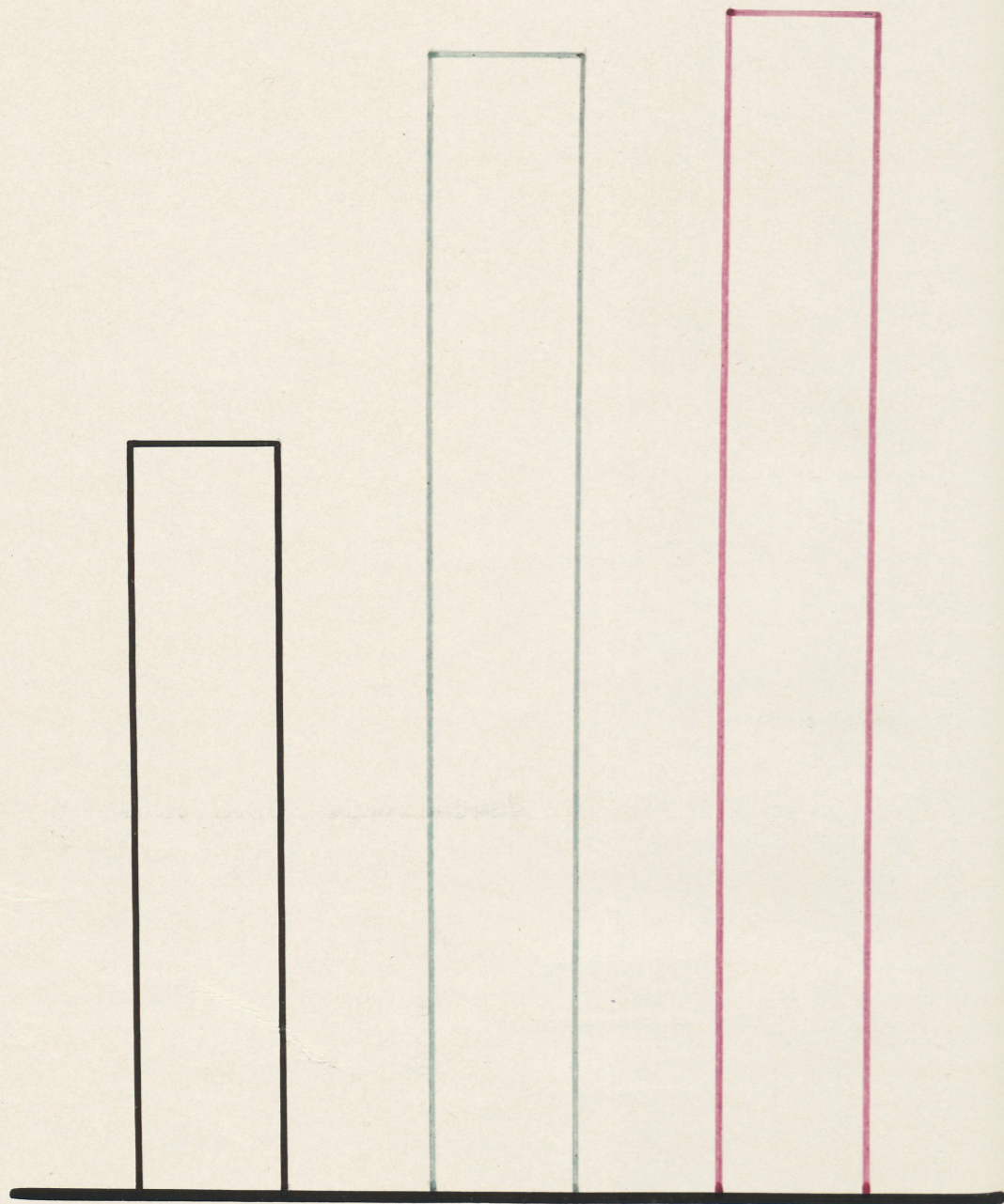
— K  
— 0.4  $W/cm^2$   
— 1.2  $W/cm^2$

Joon. 5

Ultraheli mõju Saccharomyces cerevisiae türosiini  
sisaldusele

- K
- 0.4 W/cm<sup>2</sup>
- 1.2 W/cm<sup>2</sup>





Joon. 6

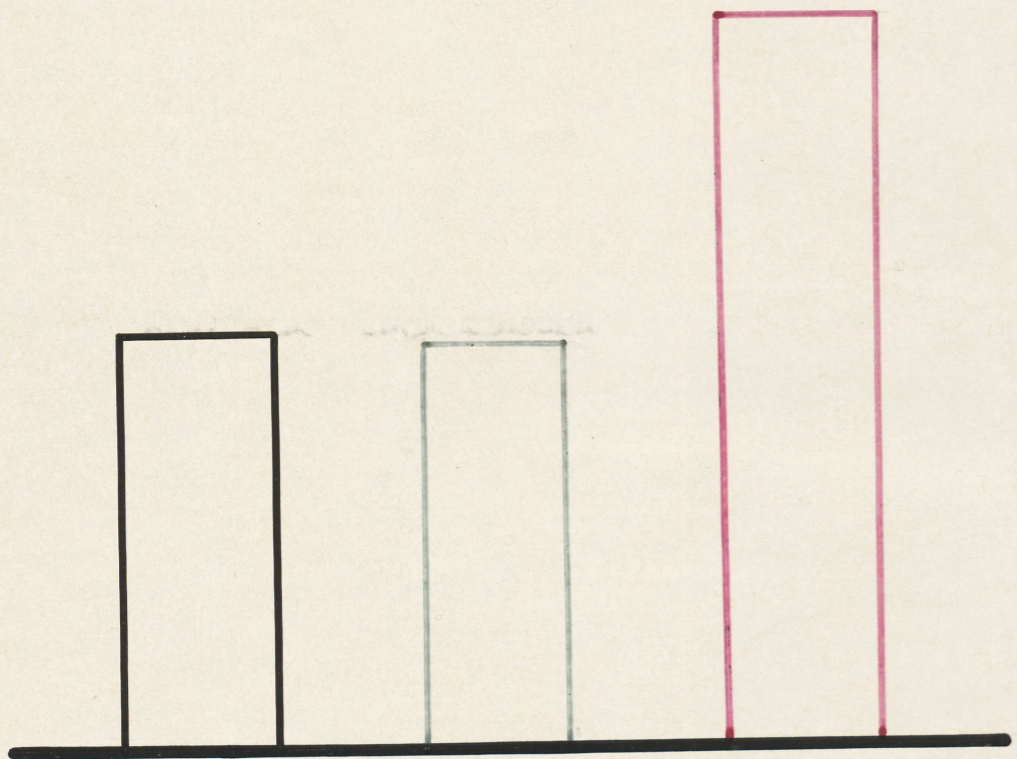
Ultraheli mõju Saccharomyces cerevisiae alanini  
sisaldusele

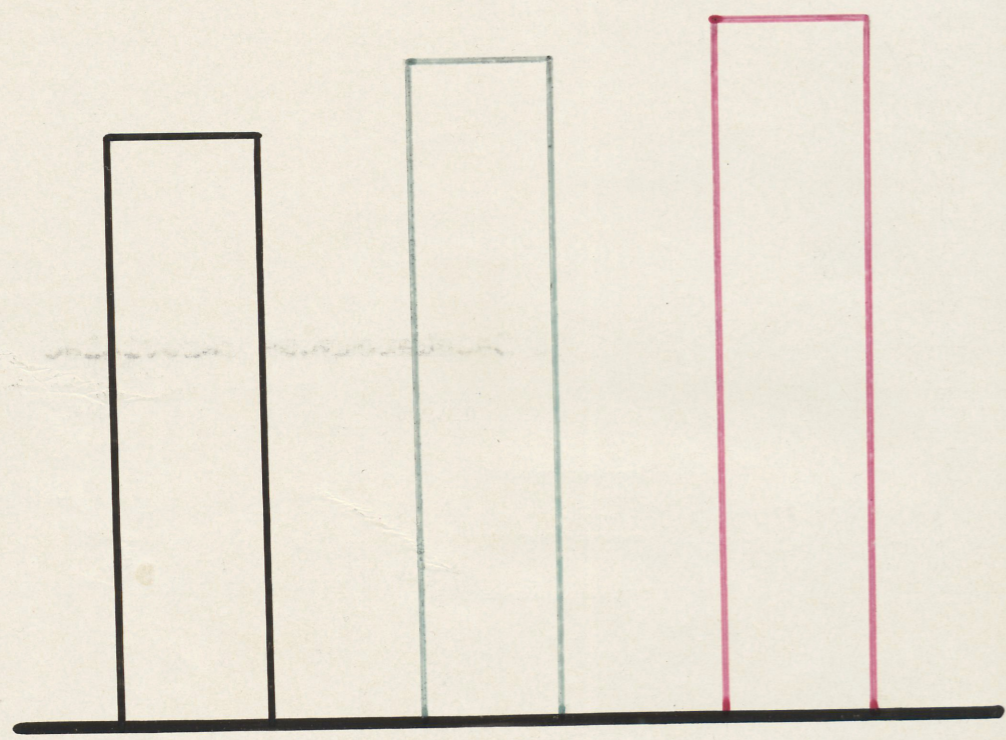
- K
- 0.4 W/cm<sup>2</sup>
- 1.2 W/cm<sup>2</sup>

Joon. 7

Ultraheli mõju Saccharomyces cerevisiae seriini  
sisaldusele

- K
- 0.4 W/cm<sup>2</sup>
- 1.2 W/cm<sup>2</sup>





Joon. 8

Ultraheli mõju Saccharomyces cerevisiae lüsiini  
sisaldusele

- K
- 0.4 W/cm<sup>2</sup>
- 1.2 W/cm<sup>2</sup>

### Katsetulemuste arutelu

Pärmirakkude biomassi produktiivsuse kohta saadud katseandmed näitavad, et aritmeetiliste keskmiste vead on lubamatult suured.

Kuigi pärmirakkude biomassi produktsiooni katsetesse tuleb suhtuda kui orienteeruva iseloomuga katsetesse, tuuakse välja mõningad seisukohad. Rakkude juurdekasv väljendub ilmekalt siis, kui vaatame, mitu korda on nende arv suurenenud võrreldes inkubatsiooniaja alguses olnud rakkude arvuga. Tabelites 1 ja 2 toodud andmete põhjal võib väita, et ultraheli doos  $0,4 \text{ W/cm}^2 / 5$  minuti jooksul stimuleerib pärmseente biomassi moodustumist kolme esimese tunni jooksul, viiendaks tunniks erinevus kontrollvariandi suhtes kaob. Samal ajal täheldati, et ultraheli doosi puhul  $1,2 \text{ W/cm}^2 / 5$  minuti jooksul biomassi moodustumine pidurdub võrreldes kontrollvariandiga.

Suuremat tähelepanu pöördati sellele, missugust mõju avaldab ultraheli pärmirakkude vabade aminohapete sisaldusele.

Aminohapete identifitseerimisel tehti kindlaks  
12 - 15 aminohapet :

leutsiin (leu),  
fenüülalaniin (phe),  
valiin (val),  
metioniin (met),  
     $\alpha$ -aminobutüraat ( $\alpha$  - abu),  
türosiin (tyr),  
proliin (pro),  
     $\alpha$ -alaniin (    -ala),  
glutamiinhape (glt),  
treoniin (thr),  
glütsiin (gly),  
asparagiinhape (asa),  
seriin (ser),  
histidiin (his),  
lüsiin (lys).

Aminohapete identifitseerimine oli hõlpsam, kui samale kromatografeerimislehele kanti uuritavate proovide kõrvale ka märklahused.

Klaaspudelites helitamise korral katses olnud ultraheli doosid pärmsente aminohapete sisaldusele mõju ei avaldanud.

Teistsugune on ultraheli mõju aminohapetele, kui helitati otseselt pärmisuspensiooni 15 minuti jooksul.

Helitamisel võimsusega  $0,4 \text{ W/cm}^2$  suurenes met  $0,08$  ja ala sisaldus  $0,36 \mu \text{ M}$  võrra. Efektiivsemaks osutus võimsus  $1,2 \text{ W/cm}^2$ , mille mõjul suurenes leu

0,13 , phe 0,25 , nov 0,14 , met 0,11 , tyr 0,03 ,  
ala 0,41 , ser 0,28 ja lys 0,27  $\mu$  M võrra. Amino-  
hapete suurenemist ultraheli mõjul kajastavad jooni-  
sed 1 kuni 8 .

Ülejäänud aminohapetele ultraheli märkimisväär-  
set mõju ei avaldanud.

Seostades aminohapete <sup>ehitust</sup> (ultraheli mõjul toimunud  
muutustega võib väita järgmist. Ultraheli toime suhtes  
tundlikumad on alifaatsed monoaminomonokarboon-  
happed (ala, ser, nov, leu ja met) ja diaminomonokar-  
boonhapetest lys. Tsüklilistest aminohapetest tähel-  
dati ultraheli mõjul kvantitatiivseid muutusi phe ja  
tyr. Seega tsüklilised aromaatsed aminohapped on  
tundlikumad ultraheli toime suhtes kui heterotsüklili-  
se ehitusega aminohapped.

Millega aga põhjendada ultraheli mõjul täheldata-  
vaid vabade aminohapete kvantitatiivseid muutusi?

Et vabad aminohapped on valgu biosünteesi ehitus-  
kivideks, siis võib arvata, et ultraheli põhjustab  
valgu sünteesi mehhanismi mõnes lülis pidurdavaid muu-  
tusi, mille tagajärjel vabade aminohapete hulk suureneb.  
Teiseltpoolt on teada, et aminohapete sünteesi puhul  
toimub esmalt süsinikskeleti teke, mis seejärel amii-  
nitakse. Aminohapete hulga suurenemine võib olla tingitud  
sellest, et ultraheli stimuleerib aminohapete  
sünteesi teist etappi.

## Kokkuvõte ja järeldused

Käesolevas töös püüti selgitada, missugust toimet avaldavad ultraheli mitmesugused doosid (0,4 ja 1,2 W/cm<sup>2</sup> /5 min., 0,4 ja 1,2 W/cm<sup>2</sup> /15 min.) pärmi-liigi Sacccharomyces cerevisiae paljunemisele ja vabade aminohapete sisaldusele.

Teostatud katseid võib vaadelda kui sissejuhatust kateedris jätkuvale ultraheli toime mitmekülgssele selgitamisele.

Kasutatud ultraheli doosid avaldavad paljunemisele erinevat toimet. Kui võimsus 0,4 W/cm<sup>2</sup> ekspositsiooniajaga 5 minutit esimestel tundidel stimuleerib paljunemist, siis võimsus 1,2 W/cm<sup>2</sup> pidurdab paljunemist võrreldes kontrollvariandi pärmseente paljunemisega.

Nimetatud dooside puhul vabade aminohapete sisaldus ei muutunud. Ultraheli toime puudumine vabade aminohapete sisaldusele võib olla tingitud liiga lühikesest ekspositsiooniajast, madalast võimsusest, sest läbi klaasi helitamisel osa ultraheli lainetest hajub aga ka sellest, et peale helitamist kasvatati massi 3 ööpäeva vältel.

УТТ - 1 tüüpi ultraheli generaatori puhul mõlemad kasutatud doosid (0,4 W/cm<sup>2</sup> /15 min. ja 1,2 W/cm<sup>2</sup> /15 min. suurendasid mõnede aminohapete (leutsiini, fe-

nüülalaniini, norvaliini, metioniini, türosiini, alaniini, seriini ja lüsiini) sisaldust 0,01 kuni 0,41  $\mu$  M võrra. Kõige rohkem suurenes võimsuse 0,4 W/cm<sup>2</sup> puhul metioniini (0,08  $\mu$  M) ja alaniini (0,36  $\mu$  M) sisaldus. Võimsuse puhul 1,2 W/cm<sup>2</sup> suurenes pärmseentes fenüülalaniini (0,25  $\mu$  M), leutsiini (0,13  $\mu$  M) ja alaniini (0,41  $\mu$  M) sisaldus.

Kahest uuritud ultraheli doosist osutus mõnede vabade aminohapete sisalduse suhtes efektiivsemaks suurem doos (1,2 W/cm<sup>2</sup> /15 min.).

Silmas tuleb pidada seda, et ultrahelist tingitud muutused paljunemises ja vabade aminohapete sisalduses on kõrvalekalded pärmseente normaalsest ainevahetusest.

Teostatud katsetest võib järeldada.

1. Ultraheli, mille doos on 0,4 W/cm<sup>2</sup> /15 minuti jooksul stimuleerib Saccharomyces cerevisiae paljunemist, ultraheli võimsus 1,2 W/cm<sup>2</sup> sama aja jooksul aga pidurdab nende paljunemist.

2. Ultraheli võimsusega 0,4 ja 1,2 W/cm<sup>2</sup> 5 minuti vältel ei avalda mõju vabade aminohapete sisaldusele.

3. Ultraheli võimsusega 1,2 W/cm<sup>2</sup> 15 minuti jooksul tõstab mõnede aminohapete (leutsiin, fenüülalaniin, norvaliin, metioniin, türosiin, alaniin, seriin ja lüsiin) sisaldust.

Влияние ультразвука на продуктивность биомассы  
и состав свободных аминокислот у Saccharomyces  
cerevisiae

Резюме

В настоящей работе старались выяснить, какое влияние оказывают полученные при помощи аппарата УТН-1 разные ультразвуковые дозы на размножение и состав свободных аминокислот у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Проведенные опыты можно рассматривать как введение к проводимой на кафедре физиологии и биохимии растений ТГУ работе по изучению разнообразного влияния ультразвука на микроорганизмы.

Использованные дозы ультразвука оказывают на размножение дрожжей различное влияние.

По сравнению с контрольными дрожжевыми грибами мощность ультразвука  $0,4 \text{ вт/см}^2$  при 5 минутах экспозиции в первые часы стимулирует размножение дрожжей, а мощность ультразвука  $1,2 \text{ вт/см}^2$  при том же времени экспозиции задерживает их размножение.

Содержание свободных аминокислот в дрожжах при указанных дозах ультразвука не изменяется. Отсутствие влияния ультразвука на содержание свободных аминокислот отмечается при короткой экспозиции или при низкой мощности.

ультразвука, потому что при озвучивании через стекло часть ультразвуковых волн рассеивается. С случае использования ультразвукового генератора типа УТГ-1, обе использованные дозы (  $0,4 \text{ вт/см}^2/15 \text{ мин.}$  и  $1,2 \text{ вт/см}^2/15 \text{ мин.}$  ) увеличивали содержание некоторых аминокислот (лейцин, тирозин, фенилаланин, норвалин, метионин, аланин, серин и лизин) от  $0,01$  до  $0,41 \mu\text{М}$ . При мощности ультразвука  $0,4 \text{ вт/см}^2$  наиболее увеличивалось содержание метионина (  $0,08 \mu\text{М}$  ) и аланина (  $0,36 \mu\text{М}$  ), а при мощности ультразвука  $1,2 \text{ вт/см}^2$  увеличивалось содержание фенилаланина (  $0,25 \mu\text{М}$  ), лейцина (  $0,13 \mu\text{М}$  ) и аланина (  $0,41 \mu\text{М}$  ).

Из двух изученных доз ультразвука наиболее эффективной оказалась доза  $1,2 \text{ вт/см}^2/15 \text{ мин.}$

Следует отметить, что вызванные ультразвуком изменения в размножении и содержании свободных аминокислот у дрожжей является отклонением от нормального метаболизма.

Из проведенных опытов можно сделать следующие выводы:

1. Доза ультразвука  $0,4 \text{ вт/см}^2/5 \text{ мин.}$  стимулирует размножение дрожжей Saccharomyces cerevisiae, в первые часы, а мощность  $1,2 \text{ вт/см}^2$  в течение того же времени - задерживает их размножение.

2. Ультразвуковые волны при мощности  $0,4 \text{ вт/см}^2$  и  $1,2 \text{ вт/см}^2$  при экспозиции в течение 5 минут не влияют на содержание свободных аминокислот.

3. Ультразвук мощностью  $1,2 \text{ вт/см}^2$  в течение 15 минут экспозиции повышает содержание некоторых аминокислот ( лейцин, тирозин, фенилаланин, норвалин, метионин, аланин, серин и лизин ).

Kasutatud kirjandus

- Davidson, E. A. 1965. Biological applications of ultrasonics.  
Lab. Pract., 14, No-4, pg. 443-447.
- Degreis, M., Badilian, B. 1966.  
Variation de l'adsorption de l'énergie ultrasonore dans quelques solutions en cavitation en fonction de la concentration.  
C.r. Acad. sci., 261, No-22, Ref.  
Žurn. Füsika, 5 Z 591.
- Rosett, T. 1965. Cooling devise for use with a sonic oscillator.  
Appl. Microbiol., 13, No-2, Ref.  
Žurn. Biologia, 19 B 113.
- Байер, В., Дернер, Е. 1958. Ультразвук в биологии и медицине. Перевод с немецкого. Л., изд-во "Медгиз".
- Бергман, Л. 1957. Ультразвук и его применение в науке и технике. Перевод с немецкого. М., изд-во иностр.лит.
- Бернштейн, С.А. 1964. Морфологические изменения внутренних органов в коже при локальном воздействии ультразвука. Реф.ж. Биология, II П 410.
- Боровягин, В.Л., Эльпинер, И.Е. 1964.

Действие ультразвуковых волн на субмикроскопические структуры мышечной ткани.

Биофизика, Т.9, № 3, стр. 312-314.

Брагинская, Ф.И., Эльпинер, И.Е. 1963.

Комплексы белковых молекул с полианионами и влияние на них ультразвуковых волн. Биофизика, Т.8, № 1, стр. 34-39.

Бреславец, Л.П., Эльпинер, И.Е. 1956.

Действие ультразвуковых волн на растительные клетки. Биофизика, Т.1, № 5, стр. 448-451.

Бронская, Л.М., Эльпинер, И.Е. 1963.

Полярнографические исследования белков, подвергающихся действию ультразвуковых волн. Биофизика, Т.8, № 3, стр. 344-348.

Бронская, Л.М., Смирнова, С.А., Эльпинер, И.Е. 1965. О полярнографии

чистидина, подвергшегося действию ультразвуковых волн. Биофизика. Т.10, № 6, стр.974-978.

Гнутенко, М.П., Штромберггер, Л.В.,

Гумилевская, Л.Г. 1956.

Влияние ультразвука на *Schizosaccharomyces acidodivoratus*

Микробиология, Т.25, № 5, стр.566-568.

Дмитриева, Н.П. 1964. Электронномикроскопическое изучение изменений структуры митохондрии в клетках опухоли после воз-

действия ультразвуком. Биофизика,  
Т.9, № 5, стр.571-579.

Дяченко, С.С., Бернасовська, Е.П.

1965. Дальнейшие исследования по применению ультразвуковых колебаний в Микробиологии. Реф.журнал Биология № 14, 14 Б 282.

Збарский, И.Б., Эльпинер, И.Е., Харламова, В.Н. 1951. Деполимеризация десоксирибонуклейната натрия под действием ультразвуковых волн. Докл. АН СССР, Т.77, № 3, стр. 439-441.

Зорина, О.М., Эльпинер, И.Е. 1963. Физико-химические изменения декстрана, вызванные ультразвуковыми волнами. Биохимия, Т.28, № 5, стр.781-785.

Зорина, О.М., Стекольников, Л.И., Эльпинер, И.Е. 1965. О физико-химических особенностях и антицеллюлозной активности отдельных фрагментов Н-глобулина, полученных под действием ультразвуковых волн. Биофизика, Т.10, № 6, стр.961-965.

Кантор, Д.И., 1954. Об эффективности ультразвуковых волн как обеззараживающего средства. Гигиена и санитария, № 4, стр.10-15.

Кацнельсон, Р.С., Хемох, М.А. 1951.

Влияние ультразвука на дрожжи. Доклады АН СССР, Т.76, № I, стр. 133-135.

Комолова, Г.С., Левинсон, М.С. 1960.

Действие ультразвука на дрожжевые клетки в зависимости от характера присутствующего газа. Изв.Сибирского отделения АН СССР, № II, стр. 130-133.

Комолова, Г.С. 1962. Реакции дрожжевых клеток на ультразвуковое воздействие. О химическом и биологическом действии ультразвука. Красноярск, стр.83-166.

Комолова, Г.С., Грачева, Н.П. 1964. Стимулирующее действие ультразвука высоких частот на размножение дрожжевых клеток. Известия Сибирского отделения АН СССР, № 4, стр.56-58.

Комолова, Г.С., Левинсон, М.С., 1964.

К вопросу о механизме действия ультразвука на микробную клетку. Вопросы биофизики и механизма действия ионизирующей радиации. Киев, стр.139-142.

Косиков, К.В. 1954. Генетика дрожжей и методы селекции дрожжевых культур. Изд-во АН СССР.

Лапинская, Е.М., Миронова, А.Н.,

Хенох, М.А. 1954. Воздействие  
ультразвука на белки и аминокислоты.  
Доклады АН СССР, Т.94, № I, стр.109-  
112.

Левинсон, М.С., Ковров, Б.Г. 1959.

Действие ультразвука на дистиллирован-  
ную воду. Биохимия, Т.24, № 3, стр.  
535-538.

Левинсон, М.С. 1962. О реакциях химического

действия ультразвука на воду и раст-  
воренные в ней вещества. О химическом  
и биологическом действии ультразвука.  
Красноярск, стр.3-83.

Медведева, Г.А., Эльпинер, И.Е. 1955.

Действие ультразвуковых волн на дрож-  
жевые клетки. <sup>Ж.</sup>общ.биологии, Т.16, № 4,  
стр.315-320.

Мейсель, М.Н., Гальцова, Р.Д., Эльпи-

нер, И.Е., Вакина, И.П. 1956.

Влияние ультразвуковых волн на содер-  
жание стерина в дрожжевых организмах.  
Ж.общ.биологии, Т.17, № 4, стр.317-  
320.

Басхина, Г.С. 1964. Количественное определение

аминокислот при помощи хроматографии  
на бумаге. Сов.методы в биохимии. М.

- П о п о в, И.Д. 1963. Опыты за изъясняване биохимичното действие на ултразвука. Реф. *ЖС*. Биология. 1 г 24.
- С в а д к о в с к а я, Н.Ф. 1964. Новые экспериментальные данные по изучению механизма действия ультразвуковых колебаний. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры, № I, стр. 49-54.
- С и д о р о в, М.А. 1965. Действие ультразвуковых волн на некоторые биологические свойства *Clostridium Chauvoei* Труды Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии, № 31, стр. 116-126.
- С о к о л ь с к а я, А.В., Э л ь п и н е р, И.Е. 1961. Синтез аминокислот под действием ультразвуковых волн. Труды У Междунар. биохим. конгр. Изд-во АН СССР, 121
- С о л о в ь е в а, Н.И., Э л ь п и н е р, И.Е., Ф а д е е в а, Н.П. 1956. Применение серологических реакций при идентификации актиномицетов с использованием озвученных антигенов. Микробиология, Т. 25, № 6, стр. 684-689.
- С т е к о л ь н и к о в, Л.И., Э л ь п и н е р, И.Е. 1965. Физико-химические превращения и

изменение фармакологических свойств  
пуриновых производных под действием  
ультразвуковых волн. Биофизика,  
Т.10, № 2, стр.232-235.

Фадеева, Н.П., Эльпинер, И.Е. 1959.

Действие ультразвуковых волн на

*Azotobacter chroococcum*

Микробиология, № 28, стр.488-492.

Фадеева, Н.П., Эльпинер, И.Е., Рау-  
тенштейн, Я.И. 1961.

О влиянии ультразвуковых волн на  
развитие актиномицетов. Микробиоло-  
гия, Т.30, № 5, стр.849-854.

Фальковская, Л.И. 1956. Обеззараживание  
питьевой воды ультразвуковыми коле-  
баниями. Гигиена и санитария № 1,  
стр.11-14.

Хенوخ, М.Н., Лапинская, Е.М. 1951.

Воздействие ультразвуковых колебаний  
на растворы желатины и аминокислоты  
в присутствии воздуха. Докл. АН СССР,  
Т.80, № 6, стр.921-924.

Хенوخ, М.Н., Лапинская, Е.М. 1958.

Изменение белков и аминокислот под  
действием ультразвуковых колебаний.  
Ж.общ.биологии, Т.28, № 3, стр.704-  
710.

- Х у р с и н, Н.Е. 1964. О тепловом действии ультразвука на нуклеиновые кислоты. Вопросы биофизики и механизма действия ионизирующей радиации. Киев, стр.135-138.
- Ш л ы к, А.А., Б а л е в а, Е.Ф. 1965. Повышенная лабильность молодых молекул хлорофилла к воздействию ультразвука. Биофизика, Т.10, № 4, стр.578-585.
- Э л ь п и н е р, И.Е., З б а р с к и й, И.Б., Х а р л а м о в а, В.Н. 1950. Действие ультразвуковых волн на аминокислоты. Докл. АН СССР, Т.73, № 6, стр.1255-1258.
- Э л ь п и н е р, И.Е. 1951. О биологических химических процессах в поле ультразвуковых волн. Ж.техн.физики, Т.21, № 10, стр.1204-1212.
- Э л ь п и н е р, И.Е., Б л ю м е н ф е л ь д, Л.А., К р а с о в и ц к а я, С.Э. 1951. Распад порфиринового ядра под действием ультразвуковых волн. Докл. АН СССР, Т.79, № 3, стр.495-498.
- Э л ь п и н е р, И.Е., С у р о в а, М.Д. 1953. Влияние четыреххлористого углерода на распад сахарозы в поле ультразвуковых волн. Докл. АН СССР, Т.90, № 6, стр.1083-1086.

Эльпинер, И.Е., Сурова, М.Д. 1954.

Ускорение процессов распада белка в поле ультразвуковых волн. Докл. АН СССР, Т.99, № 2, стр.243-246.

Эльпинер, И.Е. 1955. О механизме действия

ультраульковых волн на микроорганизмы. Микробиология, Т.24, № 3, стр.371-381.

Эльпинер, И.Е. 1956. Современное состояние вопроса о биологическом действии ультразвуковых волн. Биофизика, Т.1, №6, стр.513-524.

Эльпинер, И.Е., Дризе, И.М. 1956.

О явлениях отражения ультразвуковых волн в биологических средах. Биофизика, Т.1, № 1, стр.30-35.

Эльпинер, И.Е., Дворкин, Г.А. 1958.

Влияние ультразвуковых волн на электрокинетический потенциал клеток. Биофизика, Т.3, № 6, стр.641-647.

Эльпинер, И.Е., Сокольская, А.В. 1958. <sup>a</sup>

О действии ультразвуковых волн на алифатические аминокислоты. Биофизика, Т.3, № 2, стр.190-196.

Эльпинер, И.Е., Сокольская, А.В. 1958. <sup>b</sup>

Действие ультразвука на некоторые белки и аминокислоты. Докл. АН СССР, Т.123, № 4, стр.659-662.

- Эльпинер, И.Е. 1960. Ультразвук в биологии. Биохимия и медицина, серия VIII, № 7, Изд-во "Знание".
- Эльпинер, И.Е. 1960 б. О химическом действии ультразвуковых волн на макромолекулы. Успехи химии, Т.29, № I, стр.3-22.
- Эльпинер, И.Е., Сокольская, А.В. 1960. О процессах окисления биологически активных веществ в поле ультразвуковых волн. Биофизика, Т.5, № I, стр.21-27.
- Эльпинер, И.Е., Сокольская, А.В. 1961. Инертные газы и синтез аминокислот в поле ультразвуковых волн. Докл. АН СССР, Т.140, № 2, стр.496-498.
- Эльпинер, И.Е., Кригер, Ю.А., Добрина, С.З. 1963. О механизме гемолизирующего действия ультразвуковых волн. Биофизика, Т-8, № 6, стр. 677-680.
- Эльпинер, И.Е., Сокольская, А.В. 1963. О физико-химических превращениях пиримидиновых и пуриновых оснований в поле ультразвуковых волн с образованием ряда флуоресцирующих веществ. Докл. АН СССР, Т.153, № I, стр.200-203.
- Эльпинер, И.Е. 1963. Ультразвук физико-химическое и биологическое действие. М. Изд-во Физико-матем.литер.

Эльпинер, И.Е. 1964. В мире неслышимых звуков. Биохимия и её союзники, VIII серия, № 17-18, стр.49-69.

Эльпинер, И.Е. 1964. О действии ультразвуковых волн на растительные клетки. Биологические основы повышения семян сельскохозяйственных растений. М.Изд.-во "Наука".

Эльпинер, И.Е. 1964 б. Ультразвук в молекулярной биофизике. Успехи современной биологии, Т.57, № 2, стр.211-231.

Эльпинер, Л.И. 1960. Новые материалы по обеззараживанию воды ультразвуком. Гигиена и санитария, № 11, стр.8-15.

Эльпинер, Л.И., Яковлева, Г.П. 1961. Экспериментальные исследования по обеззараживанию воды, зараженной туберкулезными бактериями, ультразвуком в сочетании с хлорированием. Гигиена и санитария, № 6, стр.8-11.