

TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI TOIMETISED
УЧЕННЫЕ ЗАПИСКИ
ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА



ALUSTATUD 1893. a.

VIHK 243

ВЫПУСК

ОСНОВАНЫ в 1893 г

MIKROBIOLOOGIA-ALASEID TÖID
ТРУДЫ ПО МИКРОБИОЛОГИИ

I

PARMIDE FÜSIOLOOGIA JA BIOKEEMIA KÜSIMUSI
ВОПРОСЫ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ ДРОЖЖЕЙ



TARTU 1970

TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI TOIMETISED

УЧЕННЫЕ ЗАПИСКИ

ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

ALUSTATUD 1893. a.

VIHK 243 ВЫПУСК

ОСНОВАН в 1893 г.

**MIKROBIOLOOGIA-ALASEID TÖID
ТРУДЫ ПО МИКРОБИОЛОГИИ**

I

**PÄRMIDE FÜSIOLOOGIA JA BIOKEEMIA KÜSIMUSI
ВОПРОСЫ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ ДРОЖЖЕЙ**

TARTU 1970

Предисловие

В настоящем сборнике изложены результаты экспериментальных исследований сотрудников-микробиологов кафедры физиологии и биохимии растений Тартуского государственного университета. Данные эксперименты по изучению влияния низких и средних, с биологической точки зрения, интенсивностей высокочастотного 880 кГц ультразвука на физиологию и биохимию пекарских дрожжей *S. cerevisiae* и кормовых дрожжей *C. utilis* проводились в 1966—1968 гг. Как видно из приведенных в настоящем сборнике данных, результаты исследования привели к общему выводу, что полоса стимуляции в спектре интенсивностей ультразвука с данными параметрами очень узка и лежит в границах очень низких интенсивностей. Часто эта полоса вообще не обнаруживается, т. е. стимуляционные эффекты являются неустойчивыми. Зато, начиная со средних интенсивностей (1,5—2,4 Вт/см²), закономерно наблюдается отрицательное влияние ультразвука на различные физиологические и биологические процессы испытанных дрожжей. Тем не менее, изучение тонких изменений в клеточных процессах под влиянием таких доз ультразвука, которые еще не вызывают механического разрушения клеток, но причиняют «мягкие», легко-обратимые отрицательные эффекты, представляет интерес, так как позволяет лучше понимать физиолого-биохимические механизмы воздействия данного фактора на микробную клетку. Если статьи, приведенные в настоящем сборнике, кое-что прибавляют к пониманию этих механизмов, то сборник в целом выполняет свои задачи.

В. Тохвер.
Заведующий кафедрой физиологии
и биологии растений ТГУ.

TARTU ÜLIKOOLI
RAAMATUKOGU

О ВЛИЯНИИ УЛЬТРАЗВУКА НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ДРОЖЖЕЙ

В. Тохвер, В. Лийас,

Т. Крамм, Р. Рандла

Воздействие ультразвука на биологические объекты известно начиная с 20-х—30-тых годов нашего столетия [1, 2, 3]. В частности, в этот период вышла в свет и первая работа по влиянию УЗ на дрожжи [4], но обстоятельное исследование данного вопроса началось лишь в середине 40-вых годов, когда впервые применялись специальные аппараты, позволяющие точно установить и варьировать параметры фактора.

В настоящее время в биологии применяются генераторы в широком диапазоне мощностей. По Байеру и Дернеру [5] их можно разделить по выходной интенсивности УЗ на низко-, средне- и высокоинтенсивные (соответственно 0—1,5, 1,5—3 и 3—10 вт/см²). Следует отметить, однако, что в биологии невозможно применение интенсивностей около 10 вт/см² так как они обязательно воздействуют на клетки разрушительно [6]. При интенсивностях около 10 вт/см² разрушаются в особенности клетки микроорганизмов [7]. При низких же дозах действие УЗ не сводится только к механическим разрушениям [8]. Кроме механических эффектов наблюдаются тонкие физико-химические, морфологические и цитологические изменения [9, 10, 11, 12]. Особый интерес представляют данные, свидетельствующие о возможности получения под влиянием умеренных доз УЗ функциональных изменений обратимого характера, которые, следовательно, не обязательно приводят к гибели микробов [13, 14].

Существующие в литературе данные показывают, что эффект от применения УЗ зависит не только от интенсивности фактора, но и от частоты колебания УЗ и от продолжительности экспозиции [15, 16, 17]. Можно, однако, считать установленным, что повышение интенсивности УЗ является нам-

ного более эффективным мероприятием, чем удлинение продолжительности экспозиции в потоке фактора. Комолова, например, показывает, что в пределах частоты 300—1000 кгц мощности, лежащие ниже границы кавитации, не оказывают на дрожжевые клетки летального воздействия даже при экспозиции выше двух часов [16]. При использовании же интенсивностей выше 3 Вт/см² отмечалось начало гибели дрожжей, несмотря на более короткое время воздействия.

Начиная с определенной интенсивности УЗ, все организмы подчиняются разрушительному воздействию фактора, но летальная доза у различных микроорганизмов резко различается [18, 19]. Относительно устойчивыми к влиянию УЗ являются дрожжи, в особенности сахаромицеты [10, 15, 20, 21, 22, 23]. Эта особенность позволяет использовать дрожжи в качестве подходящих объектов для изучения «физиологического» воздействия УЗ.

В литературе имеются некоторые указания, свидетельствующие о том, что в определенных условиях можно при помощи УЗ стимулировать размножение дрожжей [24], повышать продукцию биомассы [25] и усиливать процессы брожения [26, 27, 28]. Имеются, однако, и противоположные указания, отрицающие возможность стимуляции физиологических процессов дрожжей посредством УЗ [2, 29]. Дело, по-видимому, в различиях условий эксперимента, а вопрос в целом нельзя считать обстоятельно изученным.

Учитывая все сказанное, для нас представляло интерес изучение влияния низких и средних доз УЗ при высокой частоте колебания на некоторые физиологические процессы дрожжей, в частности на рост и размножение дрожжевых клеток. В связи с ростовыми процессами изучались, кроме того, способность клеток к утилизации источников углерода, расход энергетического материала на 1 г прироста биомассы и бродильная способность культур. Результаты соответствующих исследований излагаются в настоящей статье.

Материал и методика

Объектами исследований служили пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, Томский штамм 107 и кормовые дрожжи *Candida utilis*, штамм 4.

Опыты проводились в 5-литровых сосудах с 3,8 л жидкой питательной среды, глубинным способом, при 27,5°C в шести- (*S. cerevisiae*) или семикратной (*C. utilis*) повторности. Сосуды, среды и принадлежности стерилизовались в автоклаве. За время инкубации (24 часа для *S. cerevisiae* и 36 часов для

S. utilis) культуры всех аэробных вариантов продувались стерильным воздухом с интенсивностью 3 объема в минуту через распылители из стеклянного фильтра № 2. Анаэробные же культуры инкубировались без аэрации в 5-литровых плоскодонных колбах, наполненных средой до узкого горла и снабженных стеклянными затворами для предотвращения доступа воздуха. Продолжительность инкубации анаэробных культур — 5 суток.

Использовались следующие среды, при составлении которых руководствовались литературными указаниями для аэробных и анаэробных культур [30, 31, 32, 33, 34, 35]:

Мелассовая № 1 для аэробных культур

Меласса сахарной промышленности, разбавленная до концентрации 10%	
по содержанию сахаров	— 1000 мл
Ca ₃ (PO ₄) ₂	— 1,0 г
(NH ₄) ₂ HPO ₄	— 1,0 г
Биотин	— 0,29 мг
Пантотенат кальция	— 0,50 мг
Конц. серная кислота до реакции рН	— 5,0

Мелассовая № 2 для анаэробных культур

По сравнению с предыдущей средой содержание сахаров повышено до концентрации 10%

Синтетическая № 3 для аэробных культур

Водопроводная вода	— 1000 мл
Сахароза	— 12 г или 25 г*)
(NH ₄) ₂ HPO ₄	— 1 г
MgSO ₄	— 0,3 г
KH ₂ PO ₄	— 1 г
CaCl ₂	— 0,1 г
Смесь микроэлементов	— 1 мл
Биотин	— 0,29 мг
Пантотенат кальция	— 0,50 мг
Конц. серная кислота до реакции рН	— 5,0

Смесь микроэлементов составлялась по рецепту М. В. Федорова (36).

Для получения инокулята проводились пересевы из музейных культур на агаровую среду (мелассовая среда № 1 с прибавлением 1,5% агара). После 24-часовой инкубации при

*) Для *S. cerevisiae* — 12 г, для *S. utilis* — 25 г

27,5°C выросший материал собирали и суспензировали на качалке в стерильной водопроводной воде до титра 10^7 . Для заражения опытных сред брали в качестве инокулума по 50 мл суспензии клеток на каждый сосуд. Озвучивание проводилось в соответствии с планом опытных вариантов в инокулуме при условии непосредственного контакта с датчиком (37). Использовали генератор УЗ типа УТС-1, который позволял модулировать интенсивность фактора в пределах 0,2—2,4 Вт/см², при частоте колебания 880 кгц.

Применялись следующие дозы УЗ:

Выходная интенсивность УЗ, Вт/см ²	Продолжительность экспозиции, мин.	Общая доза УЗ, кдж/см ²	Квалификация доз
0,4	15	0,36) низкие
0,4	30	0,72	
1,2	15	1,08	
1,2	30	2,16) средние
2,0	30	3,60	

В опытных условиях выращивались параллельно незвученная контрольная и озвученные различными дозами УЗ культуры дрожжей. Опыты с одним и тем же составом вариантов повторялись 6 раз для *S. cerevisiae* и 7 раз для *C. utilis*. На основе полученных данных вычислялись средние. Такие серии проводились отдельно для обоих видов испытанных дрожжей в различных условиях питательной среды и аэрируемости (*S. cerevisiae* — на средах № 1 и 2, *C. utilis* — на средах № 1 и 3). Кроме того, для установления динамики прироста биомассы, титра клеток и содержания в среде сахаров у *C. utilis* проводились отдельные опыты в четырехкратной повторности как для незвученного, так и озвученного 3,60 кдж/см² варианта.

В ходе опытов проводились следующие анализы:

а) Определение динамики и продукции биомассы. Дрожжевые клетки, после предусмотренного промежутка времени (24 часа для *S. cerevisiae* и 36 ч. для *C. utilis*), отцентрифугировали и подвергали определению сырого и сухого веса. При динамических анализах у *C. utilis* определения проводились через 6, 12, 18, 28 и 36 часов с начала опыта.

б) Определение динамики численности дрожжевых клеток в культурах проводили подсчетом клеток под микроскопом в камерах Горяева. На основе данных о титре и биомассе вычисляли средний вес 10^6 клеток.

в) Определение содержания сахаров в культуральной жидкости. Использовалась надосадочная жидкость после центрифугирования при $5000 \times g$. Данный супернатант профильтровывался и в полученном растворе определялись по Бертрану восстанавливающие моносахариды, сахароза и олигосахариды мальтозного типа.

г) Определение этанола проводилось по реакции окисления бихроматом калия в присутствии избыточной серной кислоты. Пробы, взятые для анализа, предварительно дважды перегонялись, сначала из кислой, а затем из щелочной среды для устранения органических кислот. Сернокислый раствор бихромата калия (бихром. калия — 20 г/л + равный объем серной кислоты, уд. вес 1,94) прибавлялся в пробу при нагревании, вместе с маленькой порцией добавочной серной кислоты, до исчерпывания восстанавливающей способности взятой пробы, т. е. до появления в смеси постоянного желто-оранжевого оттенка. Интенсивность же основной зеленой окраски, полученной в результате восстановления бихромата калия этанолом, определялась в спектрофотометре СФ-4 при $\lambda = 565 \text{ нм}$ против исходного раствора бихромата калия. Количество этилового спирта было найдено по эталонной кривой.

По данным отдельных повторностей вычислялись арифметически средние показатели. Их уровень значимости, а также достоверность имеющихся разниц оценивались при помощи t -теста.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 и 2 приведены данные о влиянии УЗ на процессы роста дрожжей. Видно, что примененные дозы УЗ, хотя и не являются сильнодействующим фактором, все же оказывают заметное влияние на интенсивность размножения и накопления биомассы как у *S. cerevisiae*, так и у *C. utilis*. В частности, сказанное относится к максимальной из числа примененных доз УЗ ($3,60 \text{ кдж/см}^2$, при интенсивности фактора $2,0 \text{ вт/см}$). Под влиянием такой дозы, в аэробных условиях, на мелассовой среде, продукция биомассы снижалась на $22\text{—}23\%$ у обоих видов испытанных дрожжей. Приблизительно такие же эффекты отмечались на мелассовой среде в анаэробных условиях (снижение продуктивности на 25%).

На синтетической среде (*C. utilis*) отрицательный эффект средних доз УЗ ($2,16\text{—}3,60 \text{ кдж/см}^2$) значительно сильнее (снижение интенсивности роста до 48%). Следовательно, повреждения, вызванные такими дозами УЗ, проявляются более отчетливо на неполноценной питательной среде. Это свидетельствует о том, что происходили расстройства систем

Таблица 1

Влияние ультразвука на рост
Saccharomyces cerevisiae

Режим опыта	Среда	Варианты по озвучиванию, доза в кдж/см ²	Продукция биомассы, сухой вес, г/л	Титр клеток х 10 ⁹ /мл	Сухой вес 10 ⁶ клеток, мкг
Аэробный	Мелассовая № 1	Неозвуч. контроль	1,32 ± 0,08	104 ± 10	12,7
		0,36	1,46 ± 0,06	108 ± 8	13,5
		0,72	1,60 ± 0,14	122 ± 13	13,1
		1,08	1,28 ± 0,07	100 ± 8	12,8
		2,16	1,10 ± 0,07	83 ± 15	13,2
		3,60	1,02 ± 0,06	85 ± 14	11,4
Анаэробный	Мелассовая № 2	Неозвуч. контроль	0,66 ± 0,12	51 ± 6	12,9
		0,72	0,66 ± 0,07	45 ± 12	14,7
		2,16	0,49 ± 0,07	43 ± 9	11,4
		3,60	0,49 ± 0,04	43 ± 9	11,4

Таблица 2

Влияние ультразвука на рост
Candida utilis

Режим — аэробный

Среда	Варианты по озвучиванию, доза в кдж/см ²	Продукция биомассы, сухой вес, г/л	Титр клеток, х·10 ⁸ /мл	Сухой вес 10 ⁶ клеток, мкг
Мелассовая № 1	Неозвуч. контроль	1,79 ± 0,17	115 ± 6	15,6
	0,72	1,44 ± 0,22	126 ± 7	12,7
	2,16	1,49 ± 0,05	103 ± 8	14,5
	3,60	1,38 ± 0,13	100 ± 8	13,3
Синтетическая № 3	Неозвуч. контроль	2,11 ± 0,38	131 ± 7	16,1
		2,18 ± 0,20	148 ± 6	14,7
	0,72	1,94 ± 0,28	134 ± 7	14,5
	2,16	1,08 ± 0,24	106 ± 5	10,2
	3,60			

синтеза неких нужных для жизнедеятельности клеток соединений, которыми клетки могут снабдиться за счет веществ, имеющихся в натуральной мелассовой среде.

Интересно отметить, что в результате озвучивания дрожжей средними дозами УЗ снижение титра клеток несколько меньше, чем снижение продукции биомассы (снижение титра клеток на 13—19%, вместо 22—23% снижения биомассы). Это значит, что вес 10^6 клеток в озвученном варианте на 10—12% (на синтетической среде даже на 37%) меньше, чем в контроле. Из этого следует, что одним эффектом средних доз УЗ, кроме вышеуказанных, является деление клеток до достижения «нормальных» размеров.

Выше отмеченные эффекты не всегда достигают значений, которые на уровне значимости 0,95 по *t*-тесту можно признать достоверными. Следует однако отметить, что при данных (средних) дозах УЗ отрицательный эффект наблюдался во всех отдельных случаях без исключения. Это позволяет, то тесту Кемельерика [38], отмеченное направление эффектов признать реальным, независимо от результатов *t*-теста.

Низкие дозы УЗ в пределах 0,36—1,08 кДж/см² (см. методу) оказались неэффективными или же, в некоторых опытах, они вызвали небольшую стимуляцию процессов роста. Такой положительный эффект, является очень ненадежным и не вызывает практического интереса.

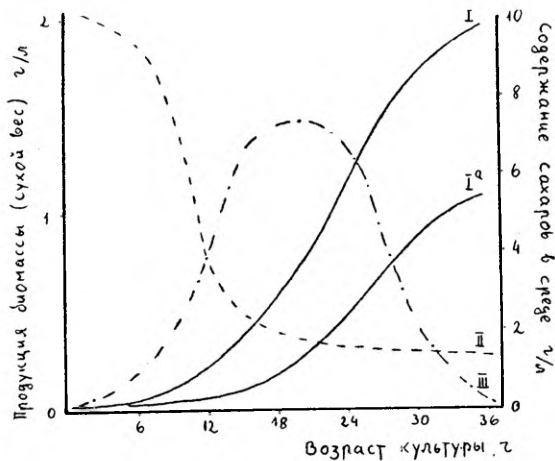


Рис. 1. Динамика биомассы и сахаров в культуре *C. utilis*. Синтетическая среда с 1% сахарозы. I — Ia — сухой вес биомассы, г/л, в контроле и озвученном 3,60 кДж/см² варианте, II — сахароза, г/л, III — редуцирующие моносахариды, г/л.

На рис. 1 кривой 1 указана динамика накопления биомассы в неозвученных культурах *S. utilis*. Полученная кривая свидетельствует о незначительной лаг-фазе продолжительностью 1—2 часа. Значительное отставание от этого наблюдается в культуре, озвученной дозы УЗ в 3,60 кдж/см². Разница между неозвученной и озвученной культурами значительно уменьшается уже при первом, а практически исчезает при втором или третьем пересеве озвученных культур. Следовательно, под влиянием примененных доз УЗ не происходило необратимых глубоких изменений в аппаратуре наследственности. Наблюдаемые повреждения, очевидно, носят характер временных расстройств «физиологических» механизмов.

В табл. 3 и 4 изложены данные, характеризующие способность дрожжей к использованию сахаров, находящихся в питательной среде. Как видно по этому показателю, испытанные дрожжи мало различаются между собой. Почти одинаковой является и реакция на различные дозы УЗ. Низкие по нашему квалифицированию дозы УЗ на указанную способность практически не оказывают влияния. При дозе же 3,60 кдж/см² отмечается снижение уровня использования сахаров на 9—17% (в суммарном выражении). Как правило, при этом снижается и экономность использования энергетического материала, так как расходы на 1 г прироста биомассы увеличиваются на 8—18%, в зависимости от состава среды.

На рис. 1 (кривые 2 и 3) видно, что в аэробных культурах *S. utilis* разложение сахарозы начинается довольно активно почти с самого начала культуры. Уже к 12-ому—18-ому часу процесс идет почти до максимума — концентрация сахарозы приобретает определенное минимальное значение (около 1,5 г/л), при котором дальнейшее разложение данного дисахарида в данной культуре становится невозможным.

В то же время, в первую половину культивации, когда рост дрожжей еще довольно неактивен, продукты разложения сахарозы не полностью находят дальнейшее использование. В результате этого, в культуральной жидкости накапливаются редуцирующие моносахариды. Их содержание начинает падать лишь с 19-го—20-го часа культивации и идет до значительно меньшей концентрации, чем отмечено у сахарозы (остаточное содержание моносахаридов около 0,4—0,6 г/л).

Суммарно к 12-ому часу использовалось $0,41 \pm 0,10$ г/л сахаров (начальное содержание 12 г/л), к 18-ому — $1,08 \pm 0,22$ г/л, к 28-ому — $7,92 \pm 0,10$ г/л и к 36-ому часу — $10,2 \pm 0,11$ г/л. При этом, в соответствующие периоды для прироста 1 г биомассы израсходовалось соответственно 1,87, 1,93, 4,74 и 5,21 г сахаров. Следовательно, экономия использования сахаров в

Таблица 3

Влияние ультразвука на использование сахаров культурами

*Saccharomyces cerevisiae*Средняя погрешность приведенных данных $\pm 5,0\%$

Режим опыта	Среда	Варианты по озвучиванию, доза в кдж/см ²	Изменение содержания сахаров за время опытов								Израсходовано сахаров на 1 г прироста биомассы, г
			Сахароза и др. олигосахариды данного типа		Дисахариды мальтозного типа		Редуцирующие моносахариды		Сумма сахаров		
			г/л	%	г/л	%	г/л	%	г/л	%	
Аэробный	Меласовая № 1	До опыта:	8,74		1,07		0,98		10,79		
		Неозвуч. контроль	-8,00	-92	-1,00	-93	-0,25	-26	-9,25	-86	7,00
		0,72	-8,01	-92	-1,00	-93	-0,42	-43	-9,43	-87	6,45
		2,16	-7,01	-87	-1,03	-96	-0,13	-13	-8,77	-81	7,96
		3,60	-7,55	-86	-0,93	-87	-0,13	-13	-8,71	-81	8,53
Анаэробный	Меласовая № 2	До опыта:	76,8		3,84		9,86		90,50		
		Неозвуч. контроль	-65,5	-86	-3,84	-100	+1,44	+15	-67,90	-75	103
		0,72	-65,1	-85	-3,84	-100	-0,15	-1,5	-69,09	-76	104
		2,16	-64,3	-85	-2,89	-75	+5,35	-54	-61,84	-68	113
		3,60	-65,2	-85	-2,89	-75	+6,54	-63	-61,54	-68	113

Влияние ультразвука на использование сахаров культурами

*Candida utilis*Средняя погрешность приведенных данных $\pm 4,8\%$

Режим опыта — аэробный

Среда	Варианты по озвучиванию, доза в кдж/см ²	Изменение содержания сахаров за время опытов								Израсходовано сахаров на 1 г прироста биомассы, г
		Сахароза и др. олигосахариды данного типа		Дисахариды мальтозного типа		Редуцирующие моносахариды		Сумма сахаров		
		г/л	%	г/л	%	г/л	%	г/л	%	
Мелас- совая № 1	До опыта:	6,80		0,72		3,08		10,60		
	Неозвуч. контроль	-6,27	-92	0,11	-15	-2,55	-83	-8,93	-84	5,00
	0,72	6,49	-95	-0,14	-19	-2,43	-79	-9,06	-85	6,30
	2,16	-6,61	97	0,07	-10	-2,03	-68	-8,76	-83	5,88
	3,60	-6,66	-98	+1,16	+161	-1,92	-62	-7,42	-70	5,38
Синтети- ческая № 3	До опыта:	12,0		0		0		12,0		
	Неозвуч. контроль	-10,6	-88	0	—	+0,42	+ ~	-10,2	-85	4,83
	0,72	-10,8	90	0	—	+0,43	+ ~	-10,4	-87	4,77
	2,16	-10,7	-89	0	—	+0,74	+ ~	-10,0	-83	5,15
	3,60	-10,7	-89	0	—	+1,43	+ ~	-9,27	-77	8,58

молодых культурах в 2—2,7 раза выше, чем в культурах, приближающихся к концу фазы экспоненциального роста.

В анаэробных культурах (*S. cerevisiae*) сахара используются, как и следовало ожидать, с многократно меньшей экономностью, чем в аэробнозе (табл. 3). Увеличиваются и недостижимые для использования количества сахаров.

Таблица 5

Влияние ультразвука на продукцию этанола в культурах

Sacch. cerevisiae

Режим опыта	Среда	Варианты по озвучиванию, доза в кдж/см ²	Накопление этанола, г/л
Аэробный	Мелассовая № 1	Неозвученный контроль	0,50 ± 0,12
		0,72	0,48 ± 0,11
		2,16	0,50 ± 0,10
		3,60	0,45 ± 0,14
Анаэробный	Мелассовая № 2	Неозвученный контроль	16,2 ± 2,12
		0,72	18,5 ± 2,33
		2,16	14,4 ± 2,12
		3,60	13,3 ± 1,77

Наконец, в табл. 5 изложены данные о бродильной способности *S. cerevisiae*. В аэробных условиях она незначительна, но все же существует. Это показывает, что «отрицательная индукция» филогенетически старой биохимической системы нелегкая вещь. Наряду с общими с дыханием реакциями гликолиза в аэробнозе постоянно продолжают некоторую работу и этапы, прямо приводящие к образованию этанола, т. е. истинного алкогольного брожения. Такой вывод подтверждается и некоторыми литературными данными [39].

В анаэробнозе продукция этанола в 30—40 раз выше, чем в аэробных условиях. Показатели накопления этанола достигали в наших опытах за 120 часов 16—19 г/л. Не получено статистически достоверного изменения данного показателя под влиянием примененных доз УЗ, отмечена лишь тенденция к повышению бродильной способности при низких и к снижению при средних дозах этого фактора.

Выводы

Изучалось влияние ультразвука 880 кГц в дозах 0,36—3,60 кдж/см² при интенсивностях 0,4—2,0 вт/см² на некоторые физиологические процессы *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida utilis*. Выяснилось следующее:

1. Под влиянием УЗ в дозах 2,16—3,60 кдж/см² обнаружено снижение накопления биомассы и размножения клеток дрожжей на 13—48%. Дозы УЗ ниже указанных не вызывали заметного эффекта, или же наблюдалась небольшая стимуляция процессов роста.

2. Минимальные дозы УЗ не вызывали существенных изменений в коэффициенте утилизации сахаров дрожжами. Дозы же 2,16—3,60 кдж/см² у *S. cerevisiae* и 3,60 кдж/см² у *C. utilis* приводили к снижению данного коэффициента от 86 до 81% и от 85 до 70% соответственно.

3. Клетки *S. cerevisiae* израсходовали в аэробных условиях около 7 г сахаров на 1 г прироста биомассы, а клетки *C. utilis* в таких же условиях — около 5 г. Под влиянием УЗ расход сахаров на 1 г прироста биомассы повышался на 10—80% в зависимости от дозы фактора. В анаэробных условиях (*S. cerevisiae*) экономность использования сахаров в 15—18 раз ниже данного показателя в аэробнозе.

4. Примененные дозы УЗ не вызывали статистически достоверных эффектов в накоплении этанола в анаэробных культурах *S. cerevisiae*. Отмечена, однако, тенденция к повышению данного показателя при низших (0,72 кдж/см²) и к снижению при высших (2,16—3,60 кдж/см²) дозах УЗ.

5. Под влиянием примененных доз УЗ не обнаружено необратимых глубоких изменений в физиологических процессах дрожжей. В пределах мощностей, квалифицируемых по Байеру и Дернеру среднеинтенсивными (1,5—3 вт/см²), наблюдались повреждения физиологических процессов, носящие характер временных расстройств и легко исчезающие при последующих пересевах.

ЛИТЕРАТУРА

1. E. N. Harvey, A. L. Loomis. Nature, 1928, 121, 622.
2. M. Paic, V. Deutsch, L. Bercille. Compt. r. Soc. Biol., 1935, 119, 1063.
3. T. D. Beckwith, C. E. Weaver. J. Bacteriology, 1936, 32, 361.
4. T. D. Beckwith, A. R. Olson. Proc. Soc. Expt. Biol. Med., 1931, 29, 362.
5. В. Байер, Э. Дернер. Ультразвук в биологии и медицине. Ленинград, Гос. изд-во мед. литературы, 1953, стр. 81.
6. L. Herforth, H. M. Winter. Ultraschall. Leipzig. B. G. Treubner Verlagsgesellschaft, 1958, S. 138—173.

7. И. Е. Эльпинер. Ж. технической физики, 1951, 21, 10, 1204.
8. М. Н. Мейсель, Р. Д. Гальцова, И. Е. Эльпинер. Ж. общ. биологии, 1956, 17, 4, 317.
9. K. Zarf. Zbl. Bakt., В. 1953, 159, 449.
10. Г. А. Медведева, И. Е. Эльпинер. Ж. общей биологии, 1955, 16, 4, 315.
11. А. С. Шаркова, И. Е. Эльпинер. Биофизика, 1957, 2, 3, 351.
12. Н. П. Фадеева, И. Е. Эльпинер, Я. И. Раутенштейн. Микробиология, 1961, 30, 5, 849.
13. Н. П. Фадеева, И. Е. Эльпинер. Микробиология, 1959, 28, 4, 488.
14. И. Е. Эльпинер. Успехи совр. биологии, 1966, 61, 2, 213.
15. М. П. Гнутенко, А. В. Штромбергер, Л. Г. Гумилевская. Микробиология, 1956, 25, 5, 556.
16. Г. С. Комолова. В сб. «О химическом и биологическом действии ультразвука». Красноярск, 1962, стр. 84—107.
17. R. O. Prudhomme, T. Constantine, Compt. r. Soc. Biol., 1963, 157, 489.
18. Н. К. Соловьева, И. Е. Эльпинер, Н. П. Фадеева. Микробиология, 1956, 25, 6, 684.
19. И. Е. Эльпинер. Ультразвук. Физико-химическое и биологическое действие. М., Гос. изд-во физико-математической лит., 1963, стр. 279—340.
20. О. И. Крячкова. Умерщвление дрожжевой клетки ультразвуком. М., «Пищевая промышленность», 1964, стр. 3—4.
21. Р. С. Кацнельсон, М. А. Хенох. Доклады АН СССР 1951, 76, 1, 133.
22. H. Kinsloe, E. Askerman, J. Bacteriology, 1954, 68, 3, 373.
23. Г. С. Комолова, М. С. Левинсон. Сб. «Вопросы биофизики и механизма действия ионизирующих радиаций». Киев, изд-во «Здоровье», 1964, стр. 139—142.
24. Г. С. Комолова, Н. П. Грачева. Изв. Сиб. отд. АН СССР, серия биол. мед. наук, 1964, 1, 4, 56.
25. М. Г. Левинсон. В сб. «О химическом и биологическом действии ультразвука». Красноярск, 1962, стр. 3—83.
26. А. Г. Бесчастнов, О. И. Гулис, Л. В. Петровская. Инф. бюлл. хлебопекарной и конд. пром-сти, 1964, 8, 19.
27. А. Д. Беззубов, Е. К. Гарлинская. Ультразвук и его применение в пищевой промышленности. М., Пищепромиздат, 1964, стр. 137.
28. М. П. Гнутенко, Л. В. Штромбергер. Микробиология, 1956, 25, 5, 566.
29. H. Fink, H. Rücker, W. Fink. Bioch. Zeitschr. 1953, 234, 1, 36.
30. С. Перскот, О. Дэн. Техническая микробиология. Перевод с английского. М., Изд-во иностр. лит., 1952, стр. 94—120.
31. З. Н. Шапошников. Техническая микробиология. М., Изд-во «Высшая школа», 1947, стр. 80.
32. М. Фробишер. Основы микробиологии. Перевод с английского. М., Изд-во «Мир», 1965, стр. 44—54.
33. М. Бекер, У. Виестурс. Изв. АН Латв. ССР, 1963, 5, 95.
34. Дж. Уайт. Технология дрожжей. М., Пищепромиздат, 1957, стр. 95—96.
35. М. В. Федоров. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Третье издание. М., Госиздат. С.-х. лит., 1957, стр. 133.

36. H. Hompesch. Über d. Mechanismus d. bakteriziden Wirkung v. Ultraschall. Kongr.-Ber. d. Erlanger Ultraschalltagung. 1949. Реф. по (6), стр. 160.

37. A. Van der Waarden. Matematische Statistik. Berlin. 1957.

38. Ю. Г. Попов. Изв. АН Арм. ССР, 1958, 11, 7.

ON THE INFLUENCE OF ULTRASONIC WAVES UPON THE PHYSIOLOGICAL ACTIVITIES IN YEASTS

V. Tohver, V. Liias, T. Kraam, R. Randla

S u m m a r y

Ultrasonic waves in doses 0.36 — 1.08 kJ/cm² (freq 880 kHz, int 0.4 — 1.2 W/cm²) show only a weak influence upon the physiological activities (the rate of multiplication, the ability for fermentation, the rate and effectiveness of the utilisation of sugars) in *S. cerevisiae* and *C. utilis*. The doses of UW of 2.16 — 3.60 kJ/cm² (int. 1.2 — 2.0 W/cm²), however, cause decline in the level of the above-mentioned processes by 10--80 per cent, respectively, the effect being more prominent in the conditions of synthetic media. The observed damages in the physiological processes were in all cases readily reversible in the course of 2—3 subsequent passages of the yeasts.

НЕКОТОРЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ О ВЛИЯНИИ НЕВЫСОКИХ ДОЗ УЛЬТРАЗВУКА НА СОДЕРЖАНИЕ И ПЕРЕВАРИМОСТЬ ДРОЖЖЕВЫХ БЕЛКОВ

В. Тохвер, А. Калде

Общеизвестно, что различные дрожжи являются хорошим источником белкового азота для человека (пекарские дрожжи) и животных (кормовые дрожжи). Дрожжи отличаются не только высоким содержанием белков, но и богатством незаменимых аминокислот и хорошей усвояемостью [1, 2]. В связи с этим дрожжи находят широкое использование в народном хозяйстве. При этом предприняты различные попытки для дальнейшего повышения количества и качества белковой продукции дрожжей. В качестве одной из попыток в литературе выдвинут ультразвук невысоких интенсивностей [3, 4]. Имеются, однако и противоположные данные, указывающие на подавление белкового синтеза под влиянием уже умеренных доз УЗ [5]. Из такой противоречивости видно, что вопрос о влиянии небольших доз УЗ на продукцию белка дрожжей нельзя считать решенным. Исходя из этого, нами изучалось влияние умеренных доз УЗ на примере пекарских дрожжей *Sacch. cerevisiae* (Томский штамм 107) и кормовых дрожжей *S. utilis* (штамм 4). Результаты этих исследований излагаем в настоящем сообщении.

Методика

Для выращивания дрожжей использовали украинскую сахарно-свекловую мелассу. Мелассу разбавляли водой до концентрации 1,2% по сахару при выращивании *Sacch. cerevisiae* и до 2,5% при выращивании *S. utilis*, исходя из литературных данных по обеспечению максимальной интенсивности ростовых процессов [6]. В разбавленную мелассовую среду добавляли Ca_3PO_4 и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ по 1 г/л, биотин — 0,29 мг/л и пантотенат кальция — 0,50 мг/л. Кислотность среды регулировали прибавлением конц. H_2SO_4 на pH 5,0. Для зараже-

ния использовали 24-часовые маточные культуры, выращенные на агаре и суспендированные в физиологическом растворе до концентрации $0,2 \cdot 10^8$ клеток/мл, в количестве 50 мл суспензии на банке с 3,5 л среды. Инкубация проводилась при $27,5^\circ$ в течение 24 часов (*S. utilis*) и 36 часов (*Sacch. cerevisiae*). За это время культуры продували стерильным воздухом с интенсивностью 3 объема в минуту (см. рис. 1 о культивационном устройстве).

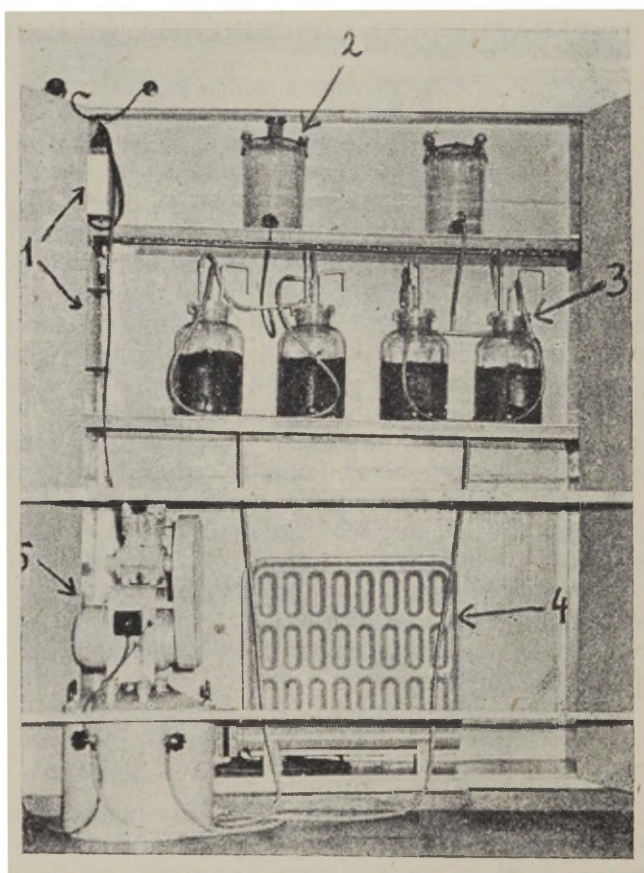


Рис. 1. Шкаф для выращивания дрожжей (с открытыми дверями). 1 — терморегулятор с датчиком — контактным термометром, 2 — сосуды для подачи свежей среды, 3 — культивационные сосуды, 4 — масляной электрорадиатор, 5 — компрессор и фильтр воздуха.

После инкубации биомассу отделяли центрифугированием, промывали и высушивали до воздушно-сухого состояния при 37—40° после чего клетки разрушались в мельнице и дополнительно в ступке при добавлении стеклянного порошка № 10. Липиды удаляли экстрагированием диэтиловым эфиром в аппарате Сокслета. В остатке определяли т. н. сырой протеин, т. е. смесь истинных белков, пептидов, аминокислот и других азотсодержащих веществ, по данным определения общего азота по модифицированному нами методу Кьельдаля (титрование заменено колориметрированием), чистый белок по Барнштейну, т. е. после мягкого осаждения при помощи $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, из слабощелочного раствора. Переваримость белков определяли *in vitro* пепсином в солянокислой среде по Сьеллеме и Ведемейеру (все методы определения выполнялись по описанию, приведенному в руководстве О. Халлика [7]. Контрольные определения белка проводили по Лоури [8].

Для воздействия ультразвуком применялся генератор УТС-1, дающий УЗ с частотой 880 кгц. Озвучивание проводили в суспензиях до заражения опытных сред (т. е. озвучивался инокулум) при интенсивностях фактора 0,4, 1,2 и 2,0 вт/см² в течение 30 минут. Это значит, что применялись общие дозы УЗ 0,72, 2,16 и 3,60 кдж/см² которые по классификации Байера и Дернара [9] принадлежат к низкоинтенсивным (два первых) и среднеинтенсивным (последнее) воздействиям данного фактора.

Повторность опытов по определению контрольного состояния одиннадцати- (*Sacch. cerevisiae*) или десятикратна (*C. utilis*). Повторность же определения эффектов от различных доз УЗ семикратна. На основе полученных данных вычисляли арифметические средние, а также средние разницы между отдельными вариантами, вместе с их средними погрешностями. При определении уровня значимости эффектов от воздействия УЗ применялись *t*-тест [10] и тест Кемельрыка [11]. Последний, как известно, позволяет установить достоверность наблюдаемых тенденций при суммарном истолковании ряда аналогичных случаев (повторностей опыта) даже тогда, когда учитываемые случаи в отдельности не показывают статистической существенности эффекта.

Результаты

Данные, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о высоком содержании белка в клетках *Sacch. cerevisiae* и *C. utilis*. Особенно высоким значением данного показателя отличаются

изученные кормовые дрожжи (51,8% чистого белка от сухого вещества). Кроме белка в прямом смысле в дрожжах довольно много и небелковых азотистых веществ (пептидов, аминокислот и др.). По нашим данным, в клетках *Sacch. cerevisiae* таких веществ 8,2%, а в клетках *C. utilis* — 7,8% (от сухого вещества).

Таблица 1

Содержание и переваримость дрожжевых белков

Показатели	Вид дрожжей <i>Sacch. cerevisiae</i> (N=11)	<i>C. utilis</i> (N=10)
Сырой белок, в % от сух. в-ва	53,0±1,85	59,6±1,74
Чистый белок:		
а) в % от сухого вещества	44,8±2,53	51,8±2,90
б) в % от сырого белка	84,5	85,9
Переваримый сырой белок:		
а) в % от сухого вещества	44,5±1,10	48,0±1,28
б) переваримость, в %	84,0	80,6
Переваримый чистый белок:		
а) в % от сухого вещества	36,6±0,97	40,3±2,24
б) переваримость, в %	81,7	77,9
Небелковые азотистые вещества:		
а) в % от сухого вещества	8,2±2,80	7,8±2,92
б) переваримость, в %	96,8	97,1

Судя по данным усвояемости, белки изученных штаммов дрожжей высококачественные. Так, 81,7% от чистого белка *Sacch. cerevisiae* и 77,9% от чистого белка *C. utilis* переваримо. На основе приведенных в табл. 1 данных видно также, что небелковые азотистые вещества дрожжей (вычисленные по разнице между сырым и чистым белками) переваримы даже в размере около 97%.

Сравнивая результаты, приведенные в настоящем сообщении, с данными о фракционном составе дрожжевых белков, изложенными на стр. 27 настоящего сборника, можно заметить, что высокой переваримости дрожжевых белков отвечают высокое содержание и хорошая подвижность их альбуминовой фракции. По-видимому, хорошая переваримость белков связана с их структурно-конформационными свойствами, которые, как известно, определяют доступность белковых молекул ферментам.

Влияние ультразвука на содержание и переваримость белков *Sacch. cerevisiae*

(в % от неозвученного контроля)

Варианты по дозам УЗ (в кдж/см ²)	Неозвуч. контроль	0,72	2,16	3,60
Показатели				
Сырой белок	100	97,1±2,3	105,2±2,1	108,2±2,7
Чистый белок	100	98,0±2,1	103,3±2,2	103,9±2,8
Переваримость:				
а) сырого белка	100	99,3±2,6	104,9±1,7	105,8±2,3
б) чистого белка	100	98,1±2,8	106,6±2,0	106,3±2,1

Таблица 3

Влияние ультразвука на содержание и переваримость белков *S. utilis*

(в % от неозвученного контроля)

Варианты по дозам УЗ (в кдж/см ²)	Неозвуч. контроль	0,72	2,16	3,60
Показатели				
Сырой белок	100	96,4±2,5	102,1±2,6	104,0±3,4
Чистый белок	100	98,5±3,3	94,2±3,8	101,4±3,2
Переваримость:				
а) сырого белка	100	100,4±2,7	100,3±2,7	105,6±2,7
б) чистого белка	100	100,9±3,4	98,9±3,6	106,4±3,3

В табл. 2 и 3 изложены результаты воздействия УЗ на содержание белка в клетках *Sacch. cerevisiae* и *S. utilis*, а также изменения переваримости белков под влиянием этого фактора.

По анализу приведенных данных t-тестом нами не обнаружено статистически существенных эффектов от воздействия примененных доз УЗ. Тем не менее, по тесту Кемельерика установлено, что тенденцию к повышению переваримости дрожжевых белков под влиянием более высоких доз УЗ мож-

но все же считать реальной (при всех повторностях опыта изменения отмечены в одном направлении при небольшом значении эффекта).

Содержание белка в клетках *Sacch. cerevisiae* и *C. utilis* под влиянием примененных доз УЗ практически не изменяется. Не по *t*-тесту, не по тесту Кемельерика не обнаружено реальных тенденций изменения.

Что касается валовой продукции белка, то, учитывая наши данные, приведенные на стр. 8 настоящего сборника, видно, что одновременно с небольшим повышением содержания белка в клетках *Sacch. cerevisiae* при дозах УЗ 2,16—3,60 кдж/см² (на 5,2—8,2⁰/₀ для сырого белка и 3,3—3,9⁰/₀ для чистого белка) общая продуктивность биомассы при таких условиях выращивания и дозах УЗ снижается на 16,6 и 22,6⁰/₀ соответственно. Следовательно, в суммарном счете встречаются весьма значительные потери в белковой продукции в размерах около 8—17⁰/₀ для сырого и 12—19⁰/₀ для чистого протеина.

Выводы

1. Ультразвук (880 кгц) в дозах 0,72—3,60 кдж/см² не оказывает существенного влияния на содержание белков в клетках *Sacch. cerevisiae* и *C. utilis*. Установлена тенденция к повышению переваримости белков в озвученных дозами 2,16—3,60 кдж/см² клетках.

2. Применение средних интенсивностей ультразвука (2,0 вт/см², при вышеуказанных общих дозах) приводит к снижению белковой продукции дрожжей на 8—19⁰/₀.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Смирнов Технология гидролизного производства. М., «Пищепромиздат», 1948, стр. 258—275.
2. В. И. Тохвер, Л. И. Вийлеберг. Тезисы докладов 3-ей биохим. конф. Белорусск., Латв., Лит. и Эст. ССР, Том 1. Биохимия растений и микроорганизмов. Минск, 1968, стр. 305—306.
3. И. Е. Эльпинер. Ультразвук. М., Изд-во физико-матем. лит., 1963, стр. 280—340.
4. Г. С. Комолова, Н. П. Грачева. Изв. Сиб. отд. АН СССР, серия биол.-мед. наук, 1964, 4, 1, 56—57.
5. V. Burns. Science, 1964, 146, 3642, 1056—1058.
6. A. H. Rose. Industrial microbiology. London. Butterworths' 1961, p. 211—230.
7. O. Hallik. Mullateaduse ja agrokeemia praktikum. Tartu. RK «Teaduslik kirjandus», 1948, lk. 288—291 ja 313—316.
8. O. H. Lowry, N. F. Rosebrough, A. L. Farr, R. I. Randall J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.

9. В. Байер, Э. Дернер. Ультразвук в биологии и медицине. Л., Гос. изд-во мед. лит., 1953, стр. 81.

10. N. T. J. Bailey. Statistical methods in biology. London. The English Universities Press, 1959, p. 43—51.

11. V. der Waarden. Matematische Statistik. Berlin. 1957. S. 1 u. w.

SOME NOTES CONCERNING THE INFLUENCE OF LOW DOSES OF ULTRASONIC WAVES UPON THE CONTENT AND DIGESTIBILITY OF YEAST PROTEINS

V. Tohver, A. Kalde

Summary

Ultrasonic waves in doses $0.72 - 3.60 \text{ kJ/cm}^2$ (freq. 880 kHz, int. $0.4 - 2.0 \text{ W/cm}^2$) revealed only statistically nonsignificant effects upon the content and digestibility of proteins of *Sacch. cerevisiae* and *C. utilis*, the tendency of an increase in digestibility being, however real if judged by the Kemelrjik-test. The total productivity of proteins in yeasts decreases by 8—19 per cent if the above-mentioned doses of UW are applied.

ОПЫТЫ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДРОЖЖЕВЫХ БЕЛКОВ НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКОМ

В. Тохвер, С. Отт, А. Калде

Как известно, электрофорез, представляющий собой транспорт коллоидов в электрическом поле, является крайне мягким методом характеристики белковых макромолекул [1]. В настоящее время этот метод широко применяется как в теоретических исследованиях белковой биохимии, так и в практических целях, в частности, в медицине. При этом главная часть появившихся до сих пор работ затрагивает сывороточные белки. Вместе с ними представляют интерес как те исследования, в которых приводят общую характеристику фракционного состава микробных белков, так и те, в которых сделана попытка дать диагностику состояния клеток на основе электрофореза белков. В частности, большое значение имеют данные, свидетельствующие об изменениях в качественном и количественном составе отдельных белковых фракций под влиянием различных внешних воздействий [2, 3, 4, 5]. Сказанное относится и к влиянию ультразвука (УЗ).

В потоке УЗ-энергии белковые молекулы сыворотки могут деполимеризоваться [6, 7], в частности, при молекулярном весе выше 25000 [8]. Возможно разрушение не только вторичной, третичной и четвертичной, но и первичной структуры белковых молекул [9]. Это, естественно, сказывается в изменениях электрических свойств белковых фракций [10, 11]. Может изменяться и количественное соотношение между отдельными фракциями [12].

В настоящей статье излагаем результаты исследований по электрофоретическому изучению белков дрожжей *Sacch. cerevisiae*, Томского штамма 107, с применением УЗ с частотой колебания 880 кгц в невысоких, т. н. физиологических дозах воздействия.

Методика

Дрожжи выращивались в 5-литровых колбах, которые содержали по 3,5 л питательной среды. В качестве последней применялась разбавленная водой до 1,2⁰/₀ по содержанию сахаров меласса, обогащенная Са₃РО₄ (1 г/л), (NH₄)₂НРО₄ (1 г/л), биотином (0,29 мг/л) и пантотеновой кислотой (0,50 мг/л). Реакцию среды регулировали на рН 5,0 прибавлением конц. серной кислоты. Инкубация продолжалась 24 часа при температуре 27,5°С. За время инкубации культуры продувались стерильным воздухом с интенсивностью 3 объема в минуту. Дрожжевую массу отделяли центрифугированием, промывали и после легкой сушки клетки разрушали в ступке при добавлении стеклянного порошка № 10 в соотношении 1:1. Из полученного гомогената (микроскопический контроль показывал разрушение 90—95⁰/₀ всех клеток) белки экстрагировали в 0,05-м фосфатном буфере рН 7,38. При данной ионной силе и рН уже при однократной операции извлекается 90—94⁰/₀ суммарного белка. Как предыдущие операции, так и извлечение белков проводили при +2°С. Экстракция продолжалась 12 часов с взбалтыванием на качалке с интенсивностью 100 шагов в минуту. Механические примеси (стекло), осколки клеточных стенок и другие форменные элементы отцентрифугировались, а надосадочный белковый раствор подвергался очищению от низкомолекулярных примесей методом диализа против указанного буферного раствора.

Электрофорез проводили в аппарате «Elektrophoresegerät 35» (ф-мы Карл Цейсс, ГДР) по методу т. н. свободного электрофореза по Тизелиусу. Использовали разбавленный до содержания 1,5⁰/₀ белковый раствор. Для разбавления и проведения электрофореза в качестве среды использовали тот же буфер, который применяли для извлечения белков. Электрический режим при электрофорезе — напряжение 165 в, сила тока 6,5 ма. Продолжительность разделения 40 минут. За ходом электрофореза можно было наблюдать визуально и фиксировать фотографически. Всего получено 1260 двойных снимков, изображающих кривые градиента по преломлению света, а также интерференционные полосы. Анализ снимков проводили по методике, указанной в заводской инструкции, приложенной к прибору. Простым вычитанием интерференционных полос между точками пересечения кривых гауссова распределения устанавливали относительное распределение анализируемого белка по отдельным фракциям, а подвижность изучаемой фракции вычисляли по формуле:

$$u = \frac{S}{E \cdot t} \quad ,$$

где \bar{u} — подвижность в $\text{см}^2/\text{в-сек}$, S — передвижение фракции в см, E — напряжение в вольтах, l — длина электрофоретического канала в см и t — время в секундах. Измеряли подвижность наиболее быстро передвигающейся первой (альбуминовой) фракции.

Для озвучивания использовали УЗ с частотой колебания 880 кгц (генератор УТС-1), при условии прямого контакта озвучиваемого раствора или суспензии клеток с датчиком. Применялись интенсивности 0,4 и 1,2 $\text{вт}/\text{см}^2$. Продолжительность экспозиции в потоке УЗ — 15 минут. Следовательно, использовали общие дозы в 0,36 и 1,08 $\text{кдж}/\text{см}^2$ соответственно.

Воздействию УЗ подвергали в отдельных опытах как инокулум дрожжей для выращивания биомассы, так и извлеченный и очищенный белковый раствор непосредственно перед электрофорезом.

Повторность отдельных опытов (число опытов по вариантам озвучивания) 4—12-кратна. На основе этих данных вычисляли арифметические средние и их погрешности. Уровень значимости эффектов УЗ оценивался для данных подвижности белка по t -тесту, а для данных фракционного состава белка — по χ^2 -тесту.

Результаты и обсуждение

Данные о фракционном составе рН 7,38 белков *Sacch. cerevisiae* приведены в табл. 1. Стабильно различалось шесть белковых фракций, которые по многим признакам, приведенным Диттмером [1], отвечают альбуминам, α_1 -, α_2 -, β - γ - и δ -глобулинам (в порядке убывающей подвижности в электрическом поле). Явно преобладают при этом белки альбуминного типа (около 60% от суммарного белка). Фракции α_1 -, α_2 - и β -глобулинов занимают около 30—32%, а остальные фракции лишь 8—10% от суммарного белка. По фракционному составу дрожжевые белки, следовательно, не похожи на растительные или бактериальные белки. С высоким содержанием фракции альбуминного типа можно связывать, по-видимому, хорошую перевариваемость дрожжевых белков. Высокой является и подвижность этих белков (табл. 2). В неозвученном препарате этот показатель достигает $60 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{в-сек}$.

Что касается влияния УЗ на подвижность белков в электрическом поле, то уровень значимости наблюдаемых эффектов является высоким как при озвучивании инокулума, так и при прямом озвучивании препарата белка. При данных условиях подвижность белков значительно снижается (табл. 2), причем размеры снижения находятся в зависимости от при-

Таблица 1

**Фракционный состав рН 7,38 белка *S. cerevisiae*
и его изменения под влиянием ультразвука**

Частота УЗ — 880 кГц

Условия озвучивания		Число опытов	Содержание в белке отдельных фракций, %						χ ² -тест (по сравнению с контролем)	
Объект	Доза УЗ, кдж/см ²		Глобулины						χ ₂	Уровень значимости эффекта от УЗ, %
			Альбумины	α ₁	α ₂	β ₂	γ	δ		
Неозвученный контроль		12	59,0±1,71	11,3±1,10	10,3±0,84	11,0±0,75	4,9±0,67	3,5±0,44	—	—
Инокулум	0,36	7	49,6±3,95	13,5±1,72	16,2±2,63	10,0±2,06	6,7±1,59	4,5±1,37	6,54	83
	1,08	9	45,9±3,94	13,5±2,25	14,4±1,50	12,3±1,86	8,2±1,62	5,6±1,28	9,49	95
Преп. белка	0,36	4	61,5±1,33	12,5±1,71	8,3±0,83	8,6±2,40	6,4±0,78	2,8±0,99	1,04	10
	1,08	4	60,8±3,18	14,5±2,30	10,6±1,27	8,1±2,08	4,1±0,67	2,0±0,62	2,31	32

Прим.: χ²-тест проводили с учетом целочисленных мест показателей; число степ. св. во всех случаях — 4

**Подвижность дрожжевого белка в электрическом поле
(альбуминная фракция)**

Условия озвучивания		Число опытов	Подвижность А-фракции, $10^{-6}\text{см}^2/\text{в-сек}$	Разность от контроля, $\pm 10^{-6}\text{см}^2/\text{в-сек}$	Уровень значимости эффекта, %
Объект	Доза УЗ, кдж/см ²				
Неозвученный контроль		17	60,2 ± 1,09	—	—
Иноку- лум	0,36	7	50,0 ± 3,76	—10,2 ± 4,85	95
	1,08	9	41,3 ± 2,01	—18,9 ± 3,10	99,9
Препарат белка	0,36	4	53,7 ± 2,22	— 6,5 ± 3,31	94
	1,08	4	46,7 ± 2,75	— 13,5 ± 3,86	99,7

мененной дозы УЗ, будучи большими при более высоких дозах указанного фактора (снижение на 10—17% при дозе УЗ 0,36 кдж/см² и на 22—31% при дозе 1,08 кдж/см²).

В относительном содержании отдельных белковых фракций под влиянием примененных доз УЗ обнаружены более или менее существенные изменения лишь при озвучивании инокулума. При озвучивании же извлеченного белка наблюдаемые незначительные разницы находятся в пределах погрешностей. В первом случае бросается в глаза значительное снижение относительной доли альбуминов (табл. 1).

Что касается фракционного состава дрожжевых белков в суммарном виде, то, судя по данным χ^2 -теста, под влиянием примененных доз УЗ статистически существенные изменения, уровень значимости которых превышает предвзятое критическое 95%, наблюдаются только при озвучивании инокулума дозой 1,08 кдж/см² (табл. 1). В остальных же случаях можно говорить лишь о более или менее вероятных тенденциях к изменению фракционного состава белков.

Следовательно, в результате прямого воздействия на извлеченные белковые препараты небольшими дозами УЗ изменяется подвижность отдельных белковых фракций, но не их относительное содержание. Это позволяет предполагать, что при таких условиях в белковых макромолекулах могут разрушаться связи, обеспечивающие структуру молекул высших порядков (т. е. могут происходить изменения конформации белковых молекул). В результате этого изменяется (понижа-

ется) подвижность белковых частиц. Пептидные же связи и первичная структура белков под влиянием примененных небольших доз УЗ еще не разрушаются. Если бы это случалось, то относительная часть более подвижных фракций (т. е. белков с меньшим молекулярным весом) должна была увеличиваться за счет фракций с большим молекулярным весом. В действительности же этого не наблюдали.

Довольно значительные изменения во фракционном составе дрожжевых белков при озвучивании инокулума свидетельствуют, по нашему мнению, о влиянии на аппаратуру регулирования синтеза белков на фенотипическом уровне вегетативно размножающихся клеток. Возможно и то, что находит место явление, доказанное Маурером [13] и Вурманном [14] в опытах на крысах — под влиянием определенных внешних воздействий может иметь место перестройка альбуминов в глобулины. Это тем более вероятно, что общее содержание белков в клетках *Sacch. cerevisiae* под влиянием примененных в данной работе небольших доз УЗ существенно не снижается, в некоторых случаях даже повышается.

Приведенные в настоящей статье данные находятся в согласии с нашими прежними высказываниями [15].

Выводы

1. В белках *Sacch. cerevisiae* обнаружено методом т. н. свободного электрофореза шесть фракций, среди которых явно преобладает первая, наиболее подвижная фракция белков альбуминного типа (около 60% от суммарного белка).

2. Под влиянием ультразвука 880 кгц, примененного в дозах 0,36 и 1,08 кдж/см², при воздействии на белковый раствор подвижность белков в электрическом поле снижается. Изменений фракционного состава белков при таких условиях не отмечено.

3. При воздействии указанных доз ультразвука на живые дрожжевые клетки наблюдается снижение относительной доли белков альбуминного типа и увеличение части глобулинов, вместе с уменьшением их подвижности.

4. Сопоставление полученных данных позволяет считать, что под влиянием небольших доз ультразвука *in vitro* могут произойти изменения конформации белков, а при воздействии *in vivo* следует прежде всего учесть эффекты, осуществляемые через системы регуляции синтеза белков.

ЛИТЕРАТУРА

1. A. Dittmer. Plasmaeiweiß und Elektrophorese. Jena. VEB Gustav Fischer Verlag, 1965, S. 1—3, 28—29, 43—54.
2. М. М. Воробьева. Докл. АН СССР, 1957, 115, 385.

3. S. D. Rodenberg. J. Bacteriol., 1958, 76, 84.
4. J. Wagman, E. Pollock, E. Weneck. Arch. Biochem. and Biophys., 1958, 73, 161.
5. Г. Н. Зайцева, И. Я. Веденина. Микробиология, 1965, 34, 6, 945—951.
6. И. Е. Эльпинер. Ультразвуковые волны в биологии. М., изд-во «Знание», 1957, стр. 13.
7. В. М. Фридман. Ультразвук. М., изд-во «Знание», 1960, стр. 528.
8. О. Н. Зорина, И. Е. Эльпинер. Биохимия, 1963, 28, 5, 781—785.
9. И. Е. Эльпинер. Усп. совр. биол., 1964, 5, 2, 211—230.
10. А. В. Сокольская, И. Е. Эльпинер. Биофизика, 1957, 2, 286.
11. И. Е. Эльпинер, Л. Н. Стекольников, О. Н. Зорина. Докл. АН СССР, 1967, 172, 2, 471—474.
12. М. С. Левинсон, В. М. Федин. Изв. Сиб. отд. АН СССР, серия биол.-мед., 1963, 3, 12, 143—145.
13. W. Maurer. Verh. dtsh. Ges. Kreislaufforsch., 1957, 21, 107.
14. F. Wührmann, H. Märkl. Dysproteinämien und Paraproteinämien. Base Stuttgart, Schwabe u. Co, 1963, S. 1—100.
15. В. И. Тохвер, С. А. Отт. Тезисы докладов 3-тней биохим. конф. Белорусск., Латв., Лит. и Эст. ССР Том 1. Биохимия растений и микроорганизмов. Минск, 1968, стр. 306—307.

EXPERIMENTS IN ELECTROPHORETIC INVESTIGATION OF YEAST PROTEINS AGAINST THE BACKGROUND OF ULTRASONIC WAVE ACTION

V Tohver, S. Ott, A. Kalde.

Summary

In *Sacch. cerevisiae* six fractions of proteins were found by means of free electrophoresis (165 V 6.5 mA, 0.005 M phosphate buffer pH 7.38). Among these the most motile first fraction of proteins of the albuminous type absolutely predominates (about 60 per hundred of the sum protein). Under the influence of UW 880 kHz (0.36 and 1.08 kJ/cm²), if applied directly in protein solution, the electrophoretic motility of the proteins decreases. Changes in the fractional composition of the proteins were noticed, however if living cells were subjected to the action of UW. The authors of this paper suppose that under the influence of low UW *in vitro* changes in the conformation of the protein molecules take place without any destruction of the primary structure of the proteins. *In vivo* the effect of UW is realized, presumably, through the regulatory apparatus of protein synthesis.

ОБ АМИНОКИСЛОТНОМ СОСТАВЕ БЕЛКА И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ФОНДА *S. utilis* НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКОМ

В. Тохвер, Х. Пыльд, К. Паллон

Изучение аминокислотного состава различных дрожжей интенсифицировалось в 40—50-ых годах нашего столетия в связи с внедрением методов хроматографии. Изучается прежде всего суммарный аминокислотный состав дрожжевых клеток, но в литературе появились и данные, характеризующие состав белка и фонда свободных аминокислот в отдельности. Что касается последних, часто указанных как «экстрагируемые АК», то отмечено варьирование их количества в зависимости от свойств выращиваемого штамма, состава среды, физических условий культивации и возраста культуры [1]. Наоборот, уже в 1943—1945 годах [2, 3, 4] показано, что аминокислотный состав дрожжевого белка не зависит от условий роста. Колебания суммарного состава обнаруживаются, главным образом, благодаря изменениям в составе метаболического фонда [5]. В белке дрожжей найдены все незаменимые аминокислоты [6], хотя и не в соотношении, отвечающем АК-составу белков высших животных. При этом у пекарских дрожжей в суммарном белке преобладают моноаминомонокарбоновые кислоты [7]. Заслуживает внимания высокое содержание в дрожжевых белках аминокислоты пролина.

Следует отметить, что до сих пор отсутствуют подробные данные об аминокислотном составе кормовых дрожжей *S. utilis*.

Данные о влиянии ультразвука (УЗ) на аминокислотный состав дрожжей немногочисленны. Некоторыми авторами отмечены изменения в содержании аминокислот в суммарном белке дрожжей [8, 9], если УЗ использовался при интенсивностях, относящихся по Байеру и Дернеру [10] к числу высоких значений данного фактора. Приведены и данные, свидетельствующие о различных изменениях аминокислот под

воздействием определенных доз УЗ [11, 12]. В частности отмечено, что некоторые аминокислоты (прежде всего циклические) под влиянием УЗ показывают склонность к разрушению [13].

Имеющиеся в литературе данные оправдывают дальнейшее изучение аминокислотного состава определенных штаммов дрожжей, а также изучение эффекта от воздействия УЗ. В настоящей статье мы излагаем результаты по изучению аминокислотного состава штамма 14 кормовых дрожжей *S. utilis* на фоне воздействия УЗ-ом низких и средних интенсивностей, т. е. при условиях, не вызывающих необратимых процессов разрушения.

Методика

Дрожжи выращивали на мелассовой среде, разбавленной до концентрации 2,5% по содержанию сахаров и обогащенной Са-фосфатом и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ в количестве 1 г/л. По литературным данным такая концентрация является оптимальной для роста кормовых дрожжей [14]. Реакцию среды устанавливали прибавлением серной кислоты на рН 5,0. Инкубацию проводили при 28° в 5-л колбах с 3 л среды. Во время инкубации колбы продувались стерильным воздухом с интенсивностью 2 объема в мин. Инкубация продолжалась 36 часов, т. е. до конца экспоненциальной фазы роста.

В качестве инокулума применяли клеточные суспензии *S. utilis* в физиологическом растворе, с густотой $1 \div 2 \times 10^8$ клеток/мл, в количестве 50 мл на колбу. В данной суспензии проводили и озвучивание клеток УЗ-ом, применяя для этого УЗ с частотой 880 кгц при интенсивностях 0,4, 1,2 и 2,0 Вт/см² в условиях непосредственного контакта с датчиком (генератор — УТС-1). Так как время воздействия фактором во всех случаях было 30 мин., то общие примененные дозы УЗ были соответственно 0,72, 2,16 и 3,60 кдж/см². Параллельно с озвученными клеточными суспензиями применяли и неозвученный инокулум, служащий в качестве контроля.

Повторность всех вариантов была пятикратна.

Выращенную клеточную массу выделяли из среды центрифугированием ($3000 \times g$). Клетки промывали физиологическим раствором и водой и высушивали в вакууме при 37° за 1 1/2 часа. Сухую массу разрушали в мельнице, промывали диэтиловым эфиром и дополнительно разрушали в ступке в присутствии стеклянного порошка. Белки экстрагировали в 0,05М фосфатном буфере рН 7, 38. Как показало определение

белков (по Лоури и по определению азота), при данных условиях извлекается около 95% суммарного белка дрожжей.

Остатки клеточных фрагментов отделяли центрифугированием (6000×g). Супернатант диализовали в течение 4 часов против вышеуказанного буферного раствора. Определяли объем диализата и концентрацию белка по Лоури [15]. По общепризнанной методике [16] проводили как кислотный, так и щелочной гидролиз (последний — для определения триптофана и проверки результатов кислотного гидролиза по определению цистеина, тирозина, треонина и серина) для хроматографического определения аминокислот.

Несвязанные в белках «свободные» аминокислоты извлекали из разрушенной клеточной массы 82%-ным этанолом. Белки осаждали из полученного раствора 10%-ным раствором уксуснокислого свинца. Осадок отделяли в центрифуге, а избыток свинца в супернатанте последующим центрифугированием после осаждения насыщенным раствором углекислого аммония.

Как белковые, так и свободные аминокислоты определяли количественно хроматографически на бумаге Ватман № 3 мм. Соблюдалась методика, описанная Т. С. Пасхиной (17). Различие состоит лишь в том, что растворители пропускали не три, а четыре раза (I: н-бутанол-98% уксусная кислота-дист. вода в объемных отношениях 8:3:1, II: растворитель, состоящий из таких же компонентов в отношениях 4:1:5, III: снова первый растворитель; IV: н-бутанол — муравьиная кислота — дист. вода в отношениях 75:15:15).

Все полученные данные выражали в микромолях на 1 г сухого вещества клеточной массы (молярные единицы позволяют количества отдельных аминокислот в составе белка сравнивать лучше, чем весовые единицы).

Для оценки эффектов от воздействия УЗ на аминокислотный состав белка или метаболического фонда применялся χ^2 -тест. Корреляционный анализ для установления согласия между аминокислотными составами белка и метаболического фонда проводился по Бэйли (18). Для сравнения степени корреляции между указанными показателями в неозвученном контроле и в озвученных вариантах переходили от значений g на z и оценивали достоверность разниц по значениям z (по t-таблице), учитывая, что

$$m_{d_z} \equiv \sqrt{\frac{1}{N_1-3} + \frac{1}{N_2-3}}$$

При статистической обработке экспериментальных данных применяли таблицы Фишера и Йейтса [19].

Результаты и обсуждение

Полученные экспериментальные данные приведены в таблицах 1 и 2.

Что касается аминокислотного состава рН 7,38 белка *C. utilis*, то нам удалось определить содержание 15 аминокислот. Содержание в белке аминокислоты пролина (а также в составе метаболического фонда) количественно не приводится, так как по примененной методике проявления нингидрином она не пригодна для количественного определения [20]. Можно только отметить, что пролин, по приближительной визуальной оценке, в белках кормовых дрожжей *C. utilis* представлен довольно богато.

Таблица 1

Содержание аминокислот в белке

(в мкМ на 1 г сухого вещества клетки)

Средняя погрешность данных $\pm 10\%$

Дозы УЗ, кдж/см ²	Контроль (неозвученый)	0,72	2,16	3,60
Аминокислоты				
Глицин	56	53	53	50
Аланин	159	153	156	150
Серин	79	68	80	33
Валин	112	110	120	95
Треонин	61	72	61	69
Цистеин	16	18	17	12
Лейцин	220	210	220	220
Лизин	51	51	46	26
Аргинин	110	102	108	122
Аспарагиновая к-та	76	80	100	95
Глютаминовая к-та	39	25	50	41
Фенилаланин	77	60	30	73
Тирозин	14	15	18	16
Гистидин	84	79	84	78
Триптофан	3	2	2	1
Пролин	+++	+++	+++	+++

Содержание свободных аминокислот в клетках

S. utilis

(в мкМ на 1 г сухого вещества клетки)

Средняя погрешность данных $\pm 10\%$

Дозы УЗ, кдж/см ²	Контроль (неозвученый)	Аминокислоты		
		0,72	2,16	3,60
Глицин	7	9	11	11
Аланин	39	35	31	31
Серин	9	6	6	4
Валин	16	15	11	15
Треонин	7	9	10	11
Цистеин	4	1	2	3
Лейцин	28	24	21	17
Лизин	8	8	10	12
Аргинин	14	16	10	8
Аспарагиновая к-та	8	7	7	4
Аспарагин	2	2	1	0
Глютаминовая к-та	3	2	2	7
Глютамин	2	2	0	4
Фенилаланин	6	7	6	3
Тирозин	4	4	8	5
Гистидин	10	9	9	6
Триптофан	2	1	2	5
Пролин	++	++	++	+-

При математической обработке не учитывали и показатели содержания триптофана, так как эти показатели получали по методике, отличающейся от методики определения других аминокислот, т. е. не на одних и тех же листах хроматографической бумаги (щелочной гидролиз вместо кислотного).

Среди определяемых аминокислот, характеризующих состав белка, явно преобладают моноаминомонокарбоновые алифатические кислоты. Их 705 мкМ/г против 161 мкМ/г диаминомонокарбоновых, 136 мкМ/г моноаминодикарбоновых и 178 мкМ/г циклических кислот. В частности, следует отметить высокое содержание в дрожжевых белках аланина, лейцина и валина, а также аргинина.

Привлекает внимание соответствие относительного содержания отдельных аминокислот и их групп в белке и в метаболическом фонде, видное при сравнении данных, приведен-

ных в табл. 1 и 2. Для количественной оценки такой связи нами применен, как уже указано, корреляционный анализ, результаты которого изложены в табл. 3. В анализ не входили при этом аминокислоты, играющие первостепенную роль посредника в процессах переаминирования (аспарагиновая и глутаминовая кислоты и их амиды, аланин) или в C_1 -обмене (метионин), а также глицин как аминокислота, выполняющая в метаболизме клетки очень многогранную роль и являющаяся исходным веществом для синтеза различных соединений (пуринов, глюкозы, глутатиона, гема, формиата для C_1 -обмена и др.). При корреляционном анализе учтено содержание в белках и в метаболическом фонде серина, валина, треонина, цистеина, лейцина, лизина, аргинина, фенилаланина, тирозина и гистидина, т. е. 10 аминокислот, преобладающим путем в метаболической судьбе которых является включение их в состав белков. Вычисление корреляционного коэффициента проводили на основе данных отдельных определений, т. е. в учет принято всего $10 \times 5 = 50$ пар параллельных определений аминокислот в белке и в метаболическом фонде. Результаты анализа свидетельствуют о высоком значении корреляции между обоими рядами показателей, следовательно, и о соответствии относительного содержания данных аминокислот в белке и в метаболическом фонде. На этой основе можно заключить, что в экспоненциальной фазе роста аминокислоты, преимущественной ролью которых является роль предшественников белка, синтезируются в дрожжевых клетках в отношениях, соответствующих составу синтезируемых белков. Такой вывод является дополнительным доказательством в пользу положения о координированности и согласованности клеточных биохимических процессов. Нормальная здоровая клетка излишнего не синтезирует. При повреждениях же клеток картина может изменяться и согласованность между отдельными процессами значительно ослабляется. Такие повреждения обнаружены и в результате воздействия на дрожжевые клетки УЗ-ом, начиная с определенных интенсивностей. В наших опытах при дозах УЗ 0,72 и 2,16 кдж/см² корреляция между аминокислотными составами белка и метаболического фонда не претерпевала статистически существенных изменений (табл. 3). В результате же озвучивания дозой 3,60 кдж/см², при интенсивности 2,0 вт/см² корреляция между этими показателями ослаблялась уже совершенно достоверно. Следует отметить, что при такой дозе отрицательное воздействие УЗ проявляется и по различным другим показателям, в частности по показателям роста и биосинтеза клеточной массы (см. стр. 8 в настоящем сборнике). Потеря согласованности биохимически связанных процессов

является, по нашему мнению, основой для физиологической поврежденности.

Таблица 3

Результаты статистической обработки экспериментальных данных

Показатели	Дозы УЗ, кдж/см ²	Конт- роль (неозву- ченный)	0,72	2,16	3,60

А. Результаты χ^2 -теста по эффектам от воздействия УЗ

Аа. Влияние УЗ на аминокислотный состав белка

1. Число степеней свободы, ν	—	10	10	10
2. Значение χ^2 эксп.	—	0,70	0,52	0,74
3. Критич. χ^2 $p=0,05$, $\nu=10$	—	18,3	18,3	18,3

Аб. Влияние УЗ на состав фонда свободных аминокислот

1. Число степеней свободы, ν	—	11	11	11
2. Значение χ^2 эксп.	—	2,51	10,09	27,49
3. Критич. χ^2 $p=0,05$, $\nu=11$	—	19,7	19,7	19,7

Б. Корреляция между АК-составами белка и метаболического фонда

1. Число степеней свободы, ν	48	48	48	48
2. Значение r	0,80	0,77	0,69	0,56
3. Уровень значимости r , %	»99,9	»99,9	»99,9	»99,9
4. Значение z	1,10	1,02	0,85	0,63
5. Значение d_z (по контролю)	—	0,08	0,25	0,47
6. Значение md_z	—	$\pm 0,161$	$\pm 0,161$	$\pm 0,161$
7. Уровень значимости d_z , %	—	<50	≈ 85	99,9

Результаты χ^2 -теста по составу белка с учетом всех анализированных аминокислот показывают, что в границах примененных интенсивностей и общих доз УЗ не приводит к изменениям аминокислотного состава дрожжевых белков, т. е. генотип популяции уловимо не изменяется под влиянием низких и средних интенсивностей УЗ. По современным представлениям это значит, что генетическая информация, заключенная в ДНК, остается незатронутой. Такой вывод подтверждается данными о легкой обратимости отмеченных эффектов от воздействия УЗ (см. стр. 10 и 14 в настоящем сборнике).

То обстоятельство, что под воздействием дозы УЗ 3,60 кдж/см² происходят статистически существенные изменения в аминокислотном составе метаболического фонда, означает, по нашему мнению, что такая доза может вызвать некие расстройства в системах количественного регулирования синтеза отдельных аминокислот, т. е. в системах реализации наследственной информации.

Выводы

1. Выявлена высокая корреляция между содержанием десяти аминокислот, преобладающе выполняющих в микробной клетке прямых предшественников белка, в составе суммарных белков дрожжей *S. utilis* и в свободном виде в метаболическом фонде этих же дрожжей.

2. Корреляция между аминокислотными составами белка и метаболического фонда *S. utilis* значительно ослабляется в результате воздействия ультразвуком в дозе 3,60 кдж/см². Более низкие дозы не оказывали существенного влияния на эту корреляцию.

3. Ультразвук с частотой 880 кгц в пределах интенсивностей 0,4—2,0 вт/см² неспособен к изменению аминокислотного состава суммарного белка *S. utilis*.

ЛИТЕРАТУРА

1. S. K. Taylor. J. Gen. Microbiol., 1949, 3, 211.
2. R. J. Block, D. Bolling. Arch. Biochem., 1943, 3, 217.
3. R. J. Block, D. Bolling. Arch. Biochem., 1943, 6, 277.
4. R. J. Block, D. Bolling. Arch. Biochem., 1945, 7, 313.
5. E. C. Barton-Wright. European Brewery Conv. Proc., 1949, 1, 19.
6. O. Lindau. E. Work. Biochem. J. (London), 1951, 48, 337.
7. В. И. Тохвер, Л. И. Вийлеберг. Третья биохим. конф. Белорусск., Латв., Лит. и Эст. ССР Тезисы докладов. Том 1. Биохимия растений и микроорганизмов. Минск, 1966, 306.
8. И. Е. Эльпинер. Ультразвук. М., изд-во физ.-мат. лит., 1963, 280—340.
9. О. М. Зорина, Л. Н. Стрельников, И. Е. Эльпинер. Биофизика, 1965, 10, 6, 961.
10. В. Байер, Э. Дернер. Ультразвук в биохимии и медицине. Л., Гос. изд-во мед. литературы, 1958, 81.
11. Л. М. Бронская, И. Е. Эльпинер. Биофизика, 1963, 8, 3, 344—348.
12. Л. Н. Бронская, С. А. Смирнова, И. Е. Эльпинер. Биофизика, 1965, 10, 6, 974—978.
13. И. Е. Эльпинер, И. Б. Забарский, В. Н. Харламова. Докл. АН СССР, 1950, 73, 6, 1255—1258.
14. A. H. Rose. Industrial Microbiology. London. Butterworths, 1961, 38—39.

15. O. H. Lowry, N. F. Rosebrough, A. L. Farr, R. I. Randall. *J. Biol. Chem.*, 1951, **193**, 265.
16. B. Keil, Z. Sormov á. *Laboratoriumstechnik für Biochemiker*. Leipzig. Akad. Verlagsges. Geest u. Portig, 1965, 525–528.
17. Т. С. Пасхина. *Современные методы в биохимии*. М., «Медицина», 1964, 162–180.
18. N. T. J. Bailey. *Statistical Methods in Biology*. London. The English Universities Press, 1959, 67–77, 78–90.
19. R. A. Fisher, F. Yates. *Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research*. Edinburgh, 1948, 49.
20. H. Keerberg, O. Keerberg, S. Veimer, J. Viil. *Eesti NSV TA Toimetised. Bioloogia*, 1967, **16**, 2, 157–162.

ON THE AMINO ACID COMPOSITION OF PROTEINS AND METABOLIC FUND OF *C. UTILIS* AGAINST THE BACKGROUND OF ULTRASONIC WAVE ACTION

V. Tohver, H. Põld, K. Pallon

Summary

The relative amino acid composition of the proteins and metabolic pool was investigated in the cells of *C. utilis*. If only those amino acids the main metabolic fate of which is to be incorporated into proteins were taken into account, a high-level correlation was ascertained between their relative content in the sum protein, and in the metabolic fund of the cells. The correlation rate, however, decreases if ultrasonic waves 880 kHz (2.0 W/cm² of intensity) are applied in general doses of 3.6 kJ/cm² the decrease being a result of the changes in the composition of the metabolic fund. Lower doses of UW did not reveal any substantial influence upon the correlation between the indicators under investigation. None of the applied intensities (0.4 + 2.0 W/cm² was able to evoke statistically authentic changes in the amino acid composition of the proteins.

О РЕАКЦИОННОСПОСОБНОСТИ НЕКОТОРЫХ ГИДРОЛАЗ ДРОЖЖЕЙ С ИХ СУБСТРАТАМИ

Л. Вийлеберг, М. Элламаа, Л. Острат, П. Рятсен

Ультрафиолетовые лучи (УФ) и ультразвук (УЗ), в зависимости от их дозы, вызывают в живой клетке морфологические изменения.

В связи с тем, что УФ и УЗ оказывают общее действие на белки [1, 2, 3, 4, 5], вполне понятно и их влияние на ферменты, среди них и на сахаридгидролазы, имеющие большое значение как в живых клетках дрожжей, так и в основывающихся на культивировании дрожжей отраслях промышленности (производство пекарских и кормовых дрожжей). Если речь идет об ферментах, то влияние УФ и УЗ исследовалось, в основном, с точки зрения изменения активности [3, 6, 7, 8].

Понятно, что показатели активности не позволяют судить о том, до какой остаточной концентрации субстрата реакция может пойти. Поэтому, по нашему мнению, в некоторых случаях надо выяснять кроме активности и то, что можно обозначить терминами «остаточная» или же «пороговая» концентрация. Следует подчеркнуть, что такое понятие не связано с понятием активности фермента, последнее официально принято и в СССР (19). Под термином «остаточная концентрация» подразумевают ту концентрацию субстрата, при которой приостанавливается ферментатическое разложение субстрата. Значение этой концентрации характеризует средство фермента с субстратом (в данном случае сахарозы и мальтозы). С ним связывается много практически важных моментов, в первую очередь вопрос о возможно более полном использовании питательных веществ.

Исходя из вышеизложенного, нами изучено изменение «реакционноспособности» («средство с субстратом») α -глюкозидазы (ЭК.3.2.1.20) и β -фруктофуранозидазы (ЭК.3.2.1.26) (мальтозы и сахарозы) *S. cerevisiae* и *C. utilis* под влиянием физиологических, не вызывающих летального эффекта доз ультразвука и ультрафиолетовых лучей.

Методика

В настоящей статье рассматривается влияние УФ на сродство с субстратом (сахарозой) β -фруктофуранозидазы пекарских дрожжей *S. cerevisiae* (штамм Томский 107) и влияние УЗ на сродство с субстратом (с мальтозой) α -глюкозидазы кормовых дрожжей *C. utilis* (штамм 4). Подопытные культуры выращивали на мелассовой среде, причем мелассу разбавляли в случае пекарских дрожжей водой до 1,2% содержания сахаров, а в случае кормовых дрожжей — до 2,5% содержания сахаров. К разбавленной мелассе прибавляли на 1 литр 1 г фосфата кальция и 1 г фосфата аммония. Культуры выращивали в условиях продувания (2 объема в минуту) в течение суток при температуре 28°C.

Интактные клетки выделяли из питательной среды центрифугированием (2500g) и сушили в вакуум-шкафу при 30°C. Брели по 1 г сухой массы и измельчали в ступке (20 мин.) стеклянным песком № 10. Из измельченной массы β -фруктофуранозидазу экстрагировали ацетатным буфером (рН 4, 5; 0,5 М), а α -глюкозидазу — фосфатным буфером 6, 8; 0,05 М) в течение двух часов при температуре от 0 до +2°C. Предварительные опыты показывали, что практически вся β -фруктофуранозидазная и β -глюкозидазная активность, переходит в этот экстракт, который может рассматриваться как неочищенный сырой препарат данных энзимов.

Из экстракта центрофугированием выделили остатки клеточных стенок и другие форменные элементы (5000g). Полученный супернатант разделяли на разные части, на которые воздействовали различными дозами (варианты) УФ или УЗ.

В качестве источника ультрафиолетовых лучей использовали лампу ПРК-74 (248—577 нм), суммарная мощность которой 1000 Вт/см² и которая при экспозиции находилась от объекта на расстоянии 30 см (действующая мощность 5 Вт/см²). По Франку [9] и по Данцигу [10] подопытный объект остается при этом расстоянии в зоне, которая не влечет за собой существенного поглощения активности в воздухе. Исходящее от лампы излучение пропускали через световой фильтр, пропускная способность которого в спектре 136—400 нм. Следовательно, в опыте воздействовали на сырые препараты УФ-излучением, спектр которого был равен 248—400 нм, с максимумом при 365 нм, по данным характеристики лампы.

Для воздействия УЗ-ом использовали генераторы, которые дают УЗ с частотой 880 и 2950 кгц (УТС-1 и УТП-3). Фактор применялся при условии непосредственного контакта с датчиком.

Использованные в опытах дозы УФ и УЗ приводятся в таблице 1.

Таблица 1

Использованные для воздействия в опытах дозы УФ и УЗ
(в опыте использовался также контрольный вариант, т. е. вариант без воздействия)

Продолжительность воздействия, мин.	УФ		Интенсивность вт/см ²	УЗ	
	Доза кдж/см ²	Частота кгц		Продолжительность воздействия в мин.	Доза кдж/см ²
1/3	0,1	880	0,4	30	0,72
5	1,5		1,2	30	2,16
30	9,0		2,0	30	3,60
		2950	0,4	30	0,72
			1,2	30	2,16
			3,0	60	10,80

Определение остаточной концентрации проводили в 21,8 мМ растворе сахарозы (β -фруктофуранозидаза) или в 35,0 мМ растворе мальтозы (α -глюкозидаза) с прибавлением указанного супернатанта («сырого препарата энзимов») в количестве 3 мл. Экспозиция продолжалась от 10 минут до 3-х часов при температуре 29°C. Через каждые десять минут определяли оставшуюся в среде сахарозу или мальтозу, а также образовавшиеся монозы по методу Бертрана. На основании полученных данных составляли кинетические кривые, по которым определяли высоту плато и время его наступления, т. е. находили концентрацию (мМ) субстрата, при которой дальнейший процесс останавливается.

Повторность опытов — 6-кратна. На основании опытов находили среднее арифметическое и вычисляли его ошибку.

Результаты опытов

Результаты опытов, отражающие влияние УФ на сродство с субстратом сырого препарата β -фруктофуранозидазы *S. cerevisiae* в отношении сахарозы, приводятся в таблице 2.

Таблица 2

Влияние УФ (248—400 нм) на свойства β -фруктофуранозидазы *S. cerevisiae* (концентрации сахарозы, при которых прекращается энзиматический распад, мМ)

Объект опыта	Доза УФ, кдж/см ²	Остаточная концентрация сахарозы, мМ
<i>Sacch. cerevisiae</i>	Контроль	15,9±0,10
неочищенный	0,1	17,3±0,21
сырой препарат	1,5	17,7±0,14
β -фруктофуранозидазы	9,0	17,9±0,22

Полученные данные показывают, что при воздействии дозами УФ в 0,1, 1,5 и 9,0 кдж/см² на препарат β -фруктофуранозидазы остаточная концентрация сахарозы наблюдается между 17,3—17,9 мМ, в то время как у контрольного варианта остаточная концентрация — 15,9 мМ. В зависимости от дозы УФ остаточная концентрация сахарозы остается, следовательно, на 1,4 (8⁰/о) до 2,0 мМ (11⁰/о) выше, чем у контрольного варианта.

Приведенные данные означают, что неочищенный сырой препарат β -фруктофуранозидазы под воздействием УФ прекращает свою деятельность при более высокой концентрации субстрата, чем такой же энзим без воздействия УФ.

Следовательно, УФ оказывает влияние на энзим как белковую структуру настолько, что в результате этого его афинность в отношении субстрата снижается. Такой вывод находится в согласии с данными Кофмана [2], который указывает, что УФ может обуславливать денатурацию белковой молекулы (т. е. разрушение α -спирали) и фотолиз, вследствие которого разрушаются даже пептидные связи в молекуле белка.

Интересно отметить, что Горбунова (с сотрудниками) [13] утверждает, что частичная «денатурация» (изменение конформации белка) белков живой клетки является биологически «оправданной», так как некоторые энзимы проявляют повышенную активность как раз после воздействия повреждающими факторами. При воздействии УФ на изолированные энзимы, однако, никогда не наблюдается активизации их деятельности [11, 12].

Результаты опытов, позволяющие оценить влияние УЗ на сродство с субстратом α -глюкозидазы кормовых дрожжей *S. utilis* (штамм 4) в отношении мальтозы, приводятся в табл. 3.

Таблица 3

Влияние УЗ на свойства α -глюкозидазы *S. utilis*

(концентрации мальтозы, при которых прекращается энзиматический распад, мМ)

Объект опыта	Доза УЗ в кдж/см ²	Остаточная концентрация сахарозы в мМ	
		880 кгц	2950 кгц
<i>S. utilis</i>	Контроль	25,2 ± 0,15	25,2 ± 0,15
неочищенный	0,72	26,2 ± 0,11	26,0 ± 0,13
сырой препарат	2,16	26,7 ± 0,21	26,5 ± 0,12
α -глюкозидазы	3,60	27,3 ± 0,09	—
	10,8	—	26,9 ± 0,17

В связи с тем, что эффекты от применения УЗ сравнительно незначительны (3—13% по сравнению с контролем), то при обсуждении результатов воздействия УЗ можно говорить только о направлении изменений, количественная оценка их имеет меньшее значение.

Полученные данные показывают, что все использованные дозы (0,72, 2,16, 3,6 и 10,80 кдж/см²) ультразвука с частотой 880 и 2950 кгц более или менее изменяют сродство с субстратом α -глюкозидазы в отношении мальтозы. При воздействии на энзим указанными дозами УЗ остаточная концентрация мальтозы оставалась в пределах от 26,0 до 27,2 мМ, в то время как у энзима без воздействия ультразвука остаточная концентрация мальтозы — 25,2 мМ. При воздействии на энзим УЗ с более низкой частотой (880 кгц) остаточная концентрация мальтозы в зависимости от дозы оставалась на 1,0—2,1 мМ выше, чем у контрольного варианта. При воздействии на энзим УЗ с более высокой частотой (2950 кгц) остаточная концентрация мальтозы в зависимости от дозы оставалась на 0,8—1,7 мМ выше, чем у контрольного варианта.

Следовательно, использованный в опытах с более высокой частотой УЗ оказывает приблизительно такое же действие, как УЗ с более низкой частотой.

Чем выше была в опытах доза УЗ, тем выше была и остаточная концентрация мальтозы, при которой деятельность энзима останавливается. Следовательно, с повышением дозы УЗ снижается афинность неочищенного сырого препарата α -глюкозидазы в отношении субстрата.

Из опытов выявляется, что УЗ обуславливает изменения в свойствах исследуемого энзима, обусловленные, по нашему мнению, конформационными изменениями белка.

Многие авторы [3, 4, 16, 17] утверждают также, что УЗ может вызывать распадение аминокислот и белков, деполимеризацию нуклеиновых кислот, инактивацию энзимов, расщепление пуриновых соединений и других биологически активных веществ.

В литературе встречаются данные относительно того, что под воздействием УЗ в пространственной структуре белков и нуклеиновых кислот могут возникнуть обратимые изменения, которые могут привести к активации жизнедеятельности микробов [14, 15].

В приведенных опытах ни одна доза УЗ при вышеуказанной частоте (880 и 2950 кгц) не вызывает повышения реакционной способности неочищенного сырого препарата α -глюкозидазы кормовых дрожжей в отношении мальтозы.

Подводя итог результатам опыта можно утверждать:

- 1) Испытанные дозы УФ 248—400 нм (0,1, 1,5 и 9,0 кдж/см²),

а также испытанные дозы УЗ 880 и 2950 кГц (0,72, 2,16, 3,60 и 10,8 кдж/см²) снижают сродство (афинность) выделенных из *S. cerevisiae* и *C. utilis* α -глюкозидазы и β -фруктофуранозидазы в отношении их субстратов (мальтоза, сахароза). В зависимости от дозы примененного фактора, реакционность ферментов снижается на 10—13% в облученных УФ-ом вариантах и на 3—8% в озвученных УЗ-ом вариантах.

2) УЗ с частотой 880 кГц оказывает при всех дозах более сильное действие на сродство с субстратом неочищенного сырого препарата α -глюкозидазы кормовых дрожжей в отношении мальтозы (остаточная концентрация мальтозы повышается на 1,0—2,1 мМ), чем УЗ с частотой 2950 кГц (остаточная концентрация мальтозы повышается на 0,8—1,7 мМ).

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. В. Ковязин. Изв. АН СССР, серия биол., 1959, 3, стр. 423—427.
2. Е. Б. Кофман. Биохимия, 1949, 14, 4, 301.
3. И. Е. Эльпинер. Ультразвук. М., Гос. изд-во физ. математ. литературы, 1963.
4. И. Е. Эльпинер. Усп. совр. биол. 1966, 61, 2, 212.
5. Л. И. Бронская, С. А. Смирнова, И. Е. Эльпинер. Биофизика, 1965, 10, 976.
6. D. Fisher, E. Kohtes. Purification de l'invertase de levure Helv. Chim. Acta 1961, 34, 136, 1123.
7. И. Д. Попов. Опити за изясняване биохимичното действие на ултразвука. Изв. Цент. н.-и. ин-т растениевъдство. Бълг. АН., 1961, 12, 169.
8. R. M. Macleod R. M. F. Dep. РЖ, 1965, 7Ж, 377.
9. Г. М. Франк. О биологическом действии УФ излучения разной длины волн. Ультрафиолетовое излучение. М., изд-во «Медгиз», 1958, стр. 18—23.
10. Н. М. Данциг, Л. И. Мац, В. К. Белков. Повышение сопротивляемости в организме животных и инфекции под действием ультрафиолетового облучения. Ультрафиолетовое излучение. М., изд-во «Медгиз», 1958, стр. 180—197.
11. А. М. Кузин. Действие ионизирующих излучений на ферменты и витамины. Радиационная биохимия. М., изд-во «Наука», 1962, стр. 107—124.
12. Л. Х. Эйдус. Биофизика, 1966, 11, 4, 601.
13. В. Г. Горбунова, Г. Г. Мамедов. Радиобиология, 1967, 7, 2, 167.
14. И. Е. Эльпинер, Г. А. Дворкин. Биофизика, 1958, 3, 6, 641.
15. А. М. Кузин, Е. А. Иваницкая. Радиобиология, 1967, 7, 4, 628.
16. В. Л. Боровягин, И. Е. Эльпинер. Биофизика, 1964, 9, 3, 312.
17. Р. С. Канцнельсон, М. А. Хенок. Докл. АН СССР, 1951, 76, 1, 133.

18. К. Лозина-Лозинский. Реакция клеток и их белковых компонентов на внешние воздействия. М.-Л., 1966, стр. 3--10.

19. Номенклатура ферментов. (Под ред. В. Л. Кретовича). М., ин-т научной информации АН СССР, 1966, стр. 13, 15, 16.

THE REACTION ABILITY OF YEAST HYDROLASES WITH THEIR SUBSTRATES

L. Viileberg, M. Ellamaa, L. Ostrat, P. Rätsep.

The results show that ultra-violet radiation (248—400 nm) and ultrasonics (880 and 2950 kHz) in doses 0.1 to 10.8 kJ/cm² decrease the ability of β -fructofuranosidase and α -glycosidase to react with their substrates (sucrose and maltose). This causes relatively high rest concentrations of these sugars in enzymatic reaction mixture after the end of the reaction.

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА СИНТЕТИЧЕСКУЮ СПОСОБНОСТЬ ЭРГОСТЕРОЛА И ТИАМИНА ДРОЖЖЕЙ

Л. Вийлеберг

Дрожжи отличаются высоким содержанием витаминов. В них содержатся тиамин, пантотеновая кислота, биотин, п-аминобензойная кислота, инозитол, пиридоксин, рибофлавин, витамин В₇, эргостерол (провитамин витамина D₂) и др. Особенно высоким содержанием витаминов отличаются пекарские дрожжи — *Saccharomyces cerevisiae* [1, 2, 3]. По данным Яната (4) содержание эргостерола в дрожжах колеблется от 0,1 до 0,7%, а содержание тиамина — от 0,2 до 0,8 мг на 1 г сухого вещества. Количество содержания витаминов зависит как от вида дрожжей, так и от условий их культивирования [3, 5]. Эргостерол и тиамин содержатся в большом количестве в пивных дрожжах, из которых они и добываются.

В литературе находим указания, что ультразвук является тем физическим фактором, под действием которого в дрожжевых грибах происходит повышение содержания эргостерола [6, 7]. По Мейселю и др. [6] содержание стеролов в сахаромецетах повышается при 45-минутном озвучании суспензии (частота 740 кгц, мощность 10 W/cm²) на 30—60%.

Учитывая вышесказанное, интересно было исследовать влияние низких доз ультразвука на синтетическую способность эргостерола и тиамина пекарских и кормовых дрожжей.

Эргостерол или циклопентанопергидрофенантрен является провитамином витамина D₂, из которого под влиянием ультрафиолетовых лучей образуется витамин, который называется еще и кальциферолом. Витамин D₂ регулирует в организме и фосфорный обмен веществ, воздействует на окислительные процессы, принимает участие в обмене веществ сахаридов и белков, а также оказывает влияние на активность некоторых фосфотаз.

Витамин В₁ или тиамин встречается в дрожжах как в свободной, так и в связанной форме. В дрожжах связанный тиамин встречается в виде сложного эфира пирофосфорной кис-

лоты в составе энзимов, которые катализируют декарбоксилирование кето кислот [8]. При недостатке тиамин синтез тиаминпирофосфорной кислоты замедляется, вследствие чего повышается содержание пировиноградной и других α -кето кислот — возникает нарушение в углеводном обмене веществ.

Содержание исследуемых витаминов в пекарских дрожжах значительно выше, чем в кормовых дрожжах.

Методика опытов

Подопытными объектами были дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida utilis*. Опыты проводили с дозами ультразвука 0,72, 2,16 и 3,6 кдж/см² при частоте 880 кгц. Указанными дозами ультразвука воздействовали в течение 30 минут на суточную суспензию (плотность 2,6—8,3×10⁶ клеток мл), которую использовали в качестве инокулума. Культивирование обоих видов дрожжей проводили на мелассовой среде, в которой в случае пекарских дрожжей сахаридов содержалось 1,5%, а в случае кормовых дрожжей — 2,5%. Два литра среды инокулировали 30-мл-ами подвергшейся воздействию ультразвука суспензией дрожжей. При воздействии датчик генератора ультразвука вводили в суспензию. Инокуляцию культуры, которая подвергалась аэрированию, проводили в течение 24 часов при 27°C.

Дрожжевую массу отделяли центрифугированием и высушивали в вакуум-шкафу при 30°C. Для определения каждого витамина брали 1 г дрожжевой массы и измельчали в ступке в течение 20 минут с помощью стеклянного песка.

Определение эргостерола. Измельченную дрожжевую массу омыляли 20%-ным раствором едкого калия. Омыленную массу обрабатывали трижды эфиром (по 30 мл). Эфирный экстракт промывали дистиллированной водой до появления нейтральной реакции и высушивали обезвоженным серноокислым натрием. Затем эфирный экстракт дистиллировали в токе СО₂, Остаток дистилляции растворяли в дихлорэтане (15 мл), к которому прибавляли раствор SbCl₅-дихлорэнтана (0,15 мл) и по цветной реакции определяли фотометром ФМ-56 содержание эргостерола. При фотометрировании использовали фильтры М-43 и М-53. Содержание эргостерола устанавливали с помощью калибровочной кривой, составленной на основе серии стандартных растворов кальциферола.

Определение тиамин проводили по методу Елисейевой [9]. Определяли как общее содержание тиамин, так и содержание свободного тиамин, на основе которого вычисляли содержание связанного тиамин. Входящий в состав кокарбоксылазы тиамин выделяли с помощью трипсина (кристалличе-

ский, порошок). Основная цель определения заключается в том, что под влиянием красной кровяной соли тиамин в щелочной среде окисляется в тиохром, который после выделения его из реакционной смеси изобутиловым спиртом в УФ-свете флуоресцирует голубым цветом. Интенсивность флуоресценции, которая пропорциональна концентрации флуоресцирующего вещества, измеряли электрофлуорометром ЭФ-ЗМ. Определения проводили фильтром В₁ (320—390 нм). В качестве стандартного раствора использовали раствор тиамина с концентрацией 1 мкг/мл.

Опыты проводили в 6 повторностях.

На основании опытов находили арифметическое среднее и вычисляли его ошибки.

Результаты опытов

Результаты опытов, отражающие влияние ультразвука на синтетическую способность эргостерола и тиамина *S. cerevisiae* и *C. utilis*, проводятся в таблицах 1 и 2.

Полученные данные результатов опытов показывают, что содержание эргостерола у пекарских дрожжей без воздействия ультразвуком в три раза выше, чем у кормовых дрожжей (табл. 1). При воздействии на инокулум дозами ультра-

Таблица 1

Влияние ультразвука на содержание эргостерола
Saccharomyces cerevisiae и *Candida utilis*

Объект опыта	Содержание эргостерола в мкг-ах на 1 г сухого вещества			
	Контроль	0,72 кдж/см ²	2,16 кдж/см ²	3,60 кдж/см ²
<i>S. cerevisiae</i>	1019 ± 36,1	808 ± 11,4	550 ± 18,0	425 ± 14,1
<i>C. utilis</i>	373 ± 7,2	290 ± 6,4	216 ± 14,2	197 ± 3,3

звука 0,72; 2,16 и 3,60 кдж/см² содержание эргостерола в клетках суточной культуры *S. cerevisiae* снижается от 20,8 до 58,4%. Причем при повышении дозы ультразвука содержание эргостерола снижается: так, в клетках варианта, на который воздействовали наиболее высокой дозой (3,60 кдж/см²), содержание эргостерола составляет лишь 41,6% по сравнению с контролем (без воздействия).

В клетках суточной культуры кормовых дрожжей *Candida*

Влияние ультразвука на содержание тиамина
Saccharomyces cerevisiae и *Candida utilis*

Объект опыта	Содержание тиамина в мкг-ах на 1 г сухого вещества							
	Контроль		0,72 кдж/см ²		2,16 кдж/см ²		3,60 кдж/см ²	
	общий	связанный	общий	связанный	общий	связанный	общий	связанный
<i>S. cerevisiae</i>	791,4±4,9	423,7±3,3	461,7±1,8	152,6±1,5	422,8±1,7	114,8±1,5	415,8±9,7	46,2±1,5
<i>C. utilis</i>	376,4±11,6	166,9±6,9	336,4±6,4	83,7±3,4	284,7±8,9	73,6±3,7	226,4±8,3	69,4±1,6

utilis содержание эргостерола при обработке (инокулум) вышеуказанными дозами ультразвука снижается от 23,3 до 47,9⁰/₀. На основании данных результатов опыта выявилось, что чем выше были при воздействии на инокулум дозы ультразвука, тем ниже было в клетках суточной культуры содержание эргостерола.

Таким образом, использованные в опытах дозы, которые относятся к числу используемых в биологии слабых доз, подавляют синтетическую способность эргостерола как у пекарских, так и у кормовых дрожжей.

Содержание тиамин (791 мкг/г) у неводействованных ультразвуком пекарских дрожжей, по сравнению с его содержанием (376 мкг/г) у кормовых дрожжей, повышается больше чем на половину (табл. 2). Соотношение содержания связанного тиамин к свободному тиамину у пекарских дрожжей составляет 1:0,9, а у кормовых дрожжей — 1:1,3. В данных опытах определяли содержание тиамин в сухом материале, вследствие чего содержание свободного тиамин сравнительно высокое; а содержание связанного тиамин — ниже нормального. При высушивании часть связанного тиамин освобождается.

Содержание тиамин в клетках суточной культуры *S. cerevisiae* снижается от 42 до 48⁰/₀ в случае воздействия на инокулум вышеуказанными низкими дозами ультразвука. Содержание связанного тиамин снижается от 64 до 89⁰/₀ по сравнению с содержанием связанного тиамин у контрольного варианта. Результаты опытов показывают, что чем выше доза воздействия ультразвука на инокулум, тем ниже содержание в клетках суточной культуры общего и связанного тиамин. Таким образом видим, что ультразвук благоприятствует освобождению тиамин из состава энзима. При дозе 0,72 кдж/см² в клетках *S. cerevisiae* соотношение содержания связанного тиамин к свободному тиамину составляет 1:2,0, при дозе 2,16 кдж/см² — 1:2,5 и при дозе 3,60 кдж/см² — 1:8,0. Из приведенных данных видим, что чем выше доза воздействия ультразвука на инокулум, тем большее количество тиамин освобождается из состава энзима карбоксилазы. Такое явление вполне понятно, потому что ультразвук обуславливает изменения в белковой структуре энзима [10, 11, 12].

В клетках кормовых дрожжей *S. utilis* при использовании указанных доз ультразвука содержание тиамин снижается от 11 до 40⁰/₀. Чем выше доза воздействия ультразвука на инокулум, тем ниже в клетках суточной культуры содержание связанного тиамин. Так, в данных опытах под влиянием ультразвука содержание связанного тиамин снижается от 42 до 56⁰/₀. При дозе 0,72 кдж/см² соотношение содержания свя-

званного тиамин к свободному тиамину составляет 1:3,0, при дозе 2,16 кдж/см² — 1:2,9 и при дозе 3,69 кдж/см² — 1:2,3. Таким образом, использованные в опытах дозы ультразвука оказывают тормозящее влияние на синтез тиамин как у пекарских, так и у кормовых дрожжей. Особенно сильно изменяется соотношение содержания тиамин к свободному тиамину в сторону свободного тиамин, т. е. содержание последнего превышает норму.

Подводя итог результатам опыта, можно утверждать, что дозы 0,72 2,16 и 3,60 кдж/см² ультразвука с частотой 880 кГц (0,4; 1,2 и 2,0 вт/см² в течение 30 минут) оказывают влияние на синтез эргостерола и тиамин как пекарских дрожжей *S. cerevisiae*, так и кормовых дрожжей *C. utilis*.

1) Воздействие низкими дозами ультразвука на инокулум *S. cerevisiae* обуславливает в клетках суточной культуры снижение содержания эргостерола от 211 до 594 мкг на 1 г сухого вещества, т. е. от 20,8 до 58,4⁰/₀ по сравнению с тем же показателем у контрольного варианта. Причем наименьшее подавление вызывает доза 0,72 кдж/см², а наибольшее — доза 3,60 кдж/см²

Содержание тиамин в клетках *S. cerevisiae* при использованных дозах ультразвука снижается от 329,7 до 375,6 мкг на 1 г сухого вещества (т. е. на 41,7—47,6⁰/₀), по сравнению с тем же показателем у контрольного варианта. Причем наименее подавляет доза 0,72 кдж/см² и больше всего подавляет доза 3,60 кдж/см²

2) Воздействие на инокулум *C. utilis* низкими дозами ультразвука обуславливает в клетках суточной культуры снижение содержания эргостерола от 88 до 162 мкг на 1 г сухого вещества, т. е. от 23,3 до 47,9⁰/₀ по сравнению с тем же показателем у контрольного варианта. Содержание тиамин одновременно снижается от 40,0 до 150,0 мкг на 1 г сухого вещества (10,6 до 39,9) по сравнению с тем же показателем у контрольного варианта. При этом изменяется также соотношение содержания связанного тиамин к свободному тиамину. Содержание связанного тиамин снижается от 41,5 до 55,9⁰/₀ по сравнению с контрольным вариантом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Б. И. Збарский, И. И. Иванов, С. Р. Мардашев. Биологическая химия. Л., изд-во «Медицина», 1965, стр. 151—153.
2. Ф. Г. Саруханян, Р. М. Ахинян, Р. С. Каримян. К отбору дрожжей, способных синтезировать витамины группы В. Изв. АН Арм. ССР Биол. н., 1964, 17, 6, стр. 23—28.
3. М. Н. Мейсель. Функциональная морфология дрожжевых организмов. М.-Л., изд-во АН СССР, 1950, стр. 80—109.

4. V. Janata. Nomenklatur und Zusammensetzung Provitamine II. Jena, 1964, 629—630.
5. Т. С. Ляпунова. Микробиология, 1966, 35, 3, 402.
6. М. Н. Мейсель, Р. Д. Гальцова, И. Е. Эльпинер. Ж. общ. биологии, 1956, 17, 4, 317.
7. И. Е. Эльпинер. Биофизика, 1956, 1, 5, 448.
8. I. F. Wagner. Vitamine II. Jena. Veb Gustav Fischer, 1965, S. 1446—1474.
9. Витамины 1. Киев 7. Изд-во АН УССР, 1953, стр. 19—24.
10. И. Е. Эльпинер. Ультразвук, физико-химическое и биологическое действие. М., Гос. изд-во физико-матем. литературы, 1963.
11. И. Е. Эльпинер. Успехи совр. биологии, 1966, 61, 2, 212.
12. Р. С. Канцельсон, М. А. Хенок. Влияние ультразвука на дрожжи. Доклады АН СССР, 1951, 76, 1, 133.

THE EFFECT OF ULTRASONIC WAVES UPON ERGOSTEROLE AND THIAMINE SYNTHESIS IN SOME YEASTS

L. Viileberg

Summary

Ultrasonics (880 kHz) in doses 0.72, 2.16 and kJ/cm^2 inhibit ergosterole and thiamine synthesis in *S. cerevisiae* and *C. utilis*.

With all the doses of ultrasonics applied the content of the vitamins investigated decreases in both species of yeast by 11 to 58 per cent if compared with the control.

О ВЛИЯНИИ ЭКСТРАКТА ЖИВОТНЫХ ТКАНЕЙ НА ПЕКАРСКИЕ ДРОЖЖИ

В. Тохвер, Л. Вийлеберг

В последнее время в животноводстве, в дрожжевом производстве и др. в широких пределах применяются приготовленные из растительных и животных тканей препараты в качестве так называемых стимуляторов роста. Такой препарат под названием «сухой биостимулятор» изготавливается и на Тартуском мясокомбинате [1]. Мы задались целью исследовать действие этого биостимулятора на пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, которые в лаборатории комбината используются для оценки активности выпускаемого препарата. Следует отметить, что указанным препаратом заинтересовались также на дрожжевом заводе Тартуского хлебокомбината. С помощью данного препарата ставилась цель повысить продукцию дрожжевой массы. Проведенные на производстве опыты не дали желаемых результатов, а отсутствие эффекта не нашло объяснения. Поэтому предпологали, что причина кроется в «технических» ошибках опыта, поскольку использование этого препарата, напр., в животноводстве давало хорошие результаты: поголовье молодого скота возрастало на 10—15%, а также улучшалась калорийность и кулинарная ценность мяса [1].

На Тартуском мясокомбинате биостимулятор изготавливается из животных тканей (10% печени, 89% пузыря, 1% надпочечников и др.). Оказывающими действие веществами этого препарата производители считают органические кислоты, витамины и минеральные вещества.

Для сравнения интересно отметить, что в литературных источниках встречаем данные относительно так называемого тканевого препарата Филатова, который готовится тоже из животных тканей. Калашник [2] установил, что в качестве оказываемых действие веществ этого препарата выступают дикарбоновые кислоты, ненасыщенные жирные кислоты, окси-

кислоты и другие органические кислоты, гормоны (диэтил-стилбестерол), витамин В₁₂ и микроэлементы (Co, Zn, Mn и др.) К препарату прибавляются еще некоторые антибиотики. С помощью этого препарата повышался уровень газового и фосфорного обмена веществ и активность энзимов у организмов скота и у микроорганизмов. Продуктивность дрожжей у сельскохозяйственного скота повышалась при этом на 23—29% [3].

Такие противоречивые данные требовали тщательного лабораторного исследования вопроса с целью выяснения отсутствия положительного эффекта при проведении опытов на Тартуском дрожжевом заводе. Соответствующие опыты проводились нами в лаборатории микробиологии на кафедре физиологии и биохимии растений Тартуского государственного университета.

Методика опытов

В опытах использовали две питательные среды с различным составом: натуральную мелассовую питательную среду и синтетическую глюкозо-аммонийную питательную среду

Как известно, мелассовая питательная среда используется для производства дрожжевой массы и на Тартуском дрожжевом заводе. Отходный продукт сахарного завода — меласса содержит наряду с сахарами (глюкоза, сахароза, мальтоза, рафиноза) еще и различные органические вещества, среди них — витамины и аминокислоты. Мелассу разбавляли водой до 1,2⁰/₀ и обогащали азотом и фосфатом (1 г СаНРО₄ и 1 г (NH₄)₂НРО₄ на 1 л.).

Состав синтетической питательной среды был следующий: 1 г (NH₄)₂НРО₄, 0,3 г MgSO₄, 1 г КНРО₄, 0,1 г СаСl₂ и 1 мл смеси микроэлементов на 1 л дистиллированной воды. рН как натуральной, так и синтетической среды регулировали серной кислотой при 5,0.

В опытах биостимулятор прибавляли в виде водного экстракта, который получали путем 3-х часового экстрагирования препарата водой (соотношение 1 : 10) при 50°С.

В опыт брали контроль и 3 варианта. В варианты вносили экстракт биостимулятора соответственно 5, 10 и 20%-объема.

Как при натуральной, так и при синтетической питательной среде дрожжи инкубировали на качалке при 18—20°С.

При мелассовой питательной среде проводили 3 серии опытов, в каждой серии совокупно с контролем было 4 варианта (в 5 повторностях). Таким образом, в опыте на каждый вариант приходилось 15 повторностей. При синтетической питательной среде проводили 2 серии опытов по 4 ва-

рианта в каждой серии (в 5 повторностях), суммарное количество повторностей составляет 10.

После суточного культивирования дрожжей определяли сухое вещество дрожжевой массы, проводили подсчет количества клеток, и на основании этих данных вычисляли средний вес миллиарда клеток.

Результаты опытов

Результаты опытов (таблица) показывают, что доза биостимулятора обуславливает в мелассовой питательной среде лишь слабую тенденцию к повышению продуктивности, однако при синтетической питательной среде выявляется значительный положительный эффект. Под воздействием стимулятора количество дрожжей на синтетической питательной среде повышалось по сравнению с контролем от 48 до 65%. При этом существенного различия под влиянием 5, 10 и 20%-ных доз стимулятора не наблюдали. При воздействии биостимулятора по сравнению с контролем количество клеток дрожжей практически не повышается. Таким образом повышение количества массы дрожжей происходит за счет увеличения размера отдельных клеток (табл. 1).

На основании полученных данных можно утверждать, что использованный в опытах биостимулятор оказывает фактически питательное, а не стимулирующее воздействие. Оказывается, что мелассовая питательная среда в достаточной мере удовлетворяет питательную потребность дрожжей, вследствие чего прибавление биостимулятора не оказывает существенного влияния на продуктивность дрожжей. Синтетическая питательная среда не удовлетворяет питательной потребности дрожжей, вследствие чего сухой вес полученной дрожжевой массы в контрольном варианте (без биостимулятора) примерно на 30% ниже, чем сухой вес контрольного варианта мелассовой питательной среды. Прибавление биостимулятора к синтетической питательной среде вызывает повышение продуктивности дрожжей до уровня продуктивности их в мелассовой питательной среде. Полученный при использовании синтетической питательной среды эффект объясняется влиянием как азотосодержащих веществ, так и других органических веществ. Такое влияние следует интерпретировать как питательное, а не как стимулирующее влияние. В пользу этого говорит еще и сравнение полученных результатов различных доз препарата. Видно, что питательные потребности дрожжей удовлетворяются, в основном, уже в случае низкой концентрации (5%) биостимулятора. При более высоких концентрациях эффект практически остается на том

Действие биостимулятора Тартуского мясокомбината
на рост пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*,
штамма Томский 107, в лабораторных условиях

Питательная среда	Название характерного показателя действия	Содержание биостимулятора в питательной среде, % — объема			
		0	5	10	20
Мелассовая питательная среда	Сухой вес 24-часовой культуры дрожжевой массы, г л	1,53±0,08	1,63±0,05	1,79±0,03	1,76±0,04
	Количество клеток в одном миллилитре питательной среды, 10 ⁹	96±3,2	97±6,1	96±4,4	94±5,2
	Сухой вес 10 ⁹ клеток, мг	16,5 ±0,4	17,4 ±0,4	18,7 ±0,3	13,8 ±0,4
Синтетическая питательная среда	Сухой вес 24-часовой культуры дрожжевой массы, г л	1,10±0,05	1,73±0,06	1,63±0,07	1,32±0,08
	Количество клеток на один миллилитр питательной среды (17-часовая культура), 10 ⁹	46±3,0	46±5,1	47±2,7	46±7,3

же самом уровне. Такое наблюдение в полной мере отвечает теоретически ожидаемому питательному влиянию, так называемому «в условиях замкнутых культур», т. е. в условиях, при которых отсутствует проток жидкости питательной среды. Однако в случае стимуляции большие концентрации препарата должны были бы обусловить прогрессирующее снижение продуктивности. Стимуляцию как явление характеризует зависимость от концентрации, весьма специфическая кривая влияния, которую мы в наших опытах никогда не наблюдали (кривая стимуляции должна показывать повышение стимулируемого процесса только до известной дозы фактора, при превышении которой начинается сравнительно резкое снижение, в случае же питательного влияния, начиная от известной концентрации вещества, отмечается устойчивый уровень эффекта).

Как известно, под стимуляцией подразумевается неспецифическое косвенное влияние необычных факторов, которое усиливает физиологические процессы. Влияние механизма объясняется большей частью известным раздражением протоплазмы.

Часто ошибочно принимают за стимуляцию безразлично какие случаи усиления физиологических процессов. Нам кажется, что с одним из случаев имеем дело и в данном вопросе, который касается так называемого биостимулятора Тартуского мясокомбината.

В заключение можно сказать, что в практике дрожжевого производства, по-видимому, нельзя и ожидать положительного эффекта от прибавления «биостимулятора» Тартуского мясокомбината в сравнительно полноценную мелассовую питательную среду.

Заклучение

На дрожжах *S. cerevisiae* изучали характер воздействия тканевого препарата, выпускаемого Тартуским мясокомбинатом в качестве биостимулятора. Установлено, что указанный препарат оказывает на жизнедеятельность дрожжей не стимулирующее, а чисто питательное влияние.

ЛИТЕРАТУРА

1. J. Redel, T. Sepp. Sotsialistlik Põllumajandus, 1964, 18, 837.
2. И. А. Калашник. Тканевая терапия. Л., Гос. изд-во мед. литературы, 1960.
3. Л. Г. Логинова и др. Микробиология, 1962, 31, 1, 29.

THE EFFECT OF ANIMAL TISSUE EXTRACTS UPON BAKER'S YEAST

V. Tohver, L. Viileberg

S u m m a r y

The effect of animal tissue extracts upon the productivity of *Saccharomyces cerevisiae* was investigated. The results show that those extracts have only a nutritive effect but no stimulative effects.

СОДЕРЖАНИЕ

стр.

Предисловие

- В. Тохвер, В. Лийас, Т. Краам, Р. Рандла. О влиянии ультразвука на некоторые физиологические процессы дрожжей 3
- V Tohver, V Liias, T. Kraam, R. Randla. On the Influence of Ultrasonic Waves Upon the Physiological Activities in Yeasts. *Summary.* 16
- В. Тохвер, А. Калде. Некоторые замечания о влиянии невысоких доз ультразвука на содержание и переваримость дрожжевых белков 17
- V Tohver, A. Kalde. Some Notes Concerning the Influence of Low Doses of Ultrasonic waves Upon the Content and Digestibility of Yeast Proteins. *Summary* 23
- В. Тохвер, С. Отт, А. Калде. Опыты электрофоретического исследования дрожжевых белков на фоне воздействия ультразвуком 24
- V Tohver, S. Ott, A. Kalde. Experiments in Electrophoretic Investigation of Yeast Proteins against the Background of Ultrasonic Wave Action. *Summary* 30
- В. Тохвер, Х. Пыльд, К. Паллон. Об аминокислотном составе белка и метаболического фонда *C. utilis* на фоне воздействия ультразвуком 31
- V Tohver, H. Põld, K. Pallon. On the Amino Acid Composition of the Proteins and Metabolic Fund of *C. utilis* against the Background of Ultrasonic Wave Action. *Summary* 39
- Л. Вийлеберг, М. Элламаа, Л. Острат, П. Рятсеп. О реакционной способности некоторых гидролаз дрожжей с их субстратами 40
- L. Viileberg, M. Ellamaa, L. Ostrat, P. Rätsep. The Reaction Ability of Some Yeast Hydrolases With Their Substrates. *Summary.* 46
- Л. Вийлеберг. Влияние ультразвука на синтетическую способность эргостерола и тиаминна дрожжей 47
- L. Viileberg. The Effect of Ultrasonic Waves Upon Ergosterole and Thiamine Synthesis in Some Yeasts. *Summary* 53
- В. Тохвер, Л. Вийлеберг. О влиянии экстракта животных тканей на пекарские дрожжи 54
- V Tohver, L. Viileberg. The Effect of Animal Tissue Extracts Upon Baker's Yeast. *Summary* 59

О ВЛИЯНИИ УЛЬТРАЗВУКА НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ДРОЖЖЕЙ.

В. Тохвер, В. Лийас, Т. Краам, Р. Рандла.

«Вопросы физиологии и биохимии дрожжей». Уч. зап. Тартуск. гос. ун-та, Труды по микробиологии I, 1970, вып. 243, стр. 3—16.

Ультразвук в дозах 0,36—1,08 кдж/см² (при частоте 880 кгц и интенсивности 0,4—1,2 вт/см²) оказывает только незначительное влияние на физиологические процессы *S. cerevisiae* и *C. utilis* размножения, активность роста, способность к брожению, уровень и экономность использования сахаров. Доза же 2,16—3,60 кдж/см² (при интенсивности 1,2—2,0 вт/см²) приводит к снижению уровня перечисленных выше процессов на 10—30%, причем эффект является более значительным в условиях синтетических сред. Отмеченные повреждения оказались все легко обратимыми в ходе 2—3 последующих пересевов дрожжей.

Табл. 5, рис. 1, библиография — 38 назв.

НЕКОТОРЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ О ВЛИЯНИИ НЕВЫСОКИХ ДОЗ УЛЬТРАЗВУКА НА СОДЕРЖАНИЕ И ПЕРЕВАРИМОСТЬ ДРОЖЖЕВЫХ БЕЛКОВ.

В. Тохвер, А. Калде.

«Вопросы физиологии и биохимии дрожжей». Уч. зап. Тартуск. гос. ун-та, Труды по микробиологии I, 1970, вып. 243, стр. 17—23.

Ультразвук в дозах 0,72—3,60 кдж/см² (при частоте 880 кгц и ин-сти 0,4—2,0 вт/см²) оказал только статистически незначительное влияние на содержание и переваримость белков *Sacch. cerevisiae* и *C. utilis*. Тенденция же к повышению переваримости при этом все-таки является реальной, если судить по проведенному тесту Кемельерика. Суммарная продукция белков уже при интенсивностях 1,2—2,0 вт/см² снижается на 8—19%.

Табл. 3, библиография — 11 назв.

ОПЫТЫ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДРОЖЖЕВЫХ БЕЛКОВ НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКОМ.

В. Тохвер, С. Отт, А. Калде.

«Вопросы физиологии и биохимии дрожжей».
Уч. зап. Тартуск. гос. ун-та, Труды по
микробиологии I, 1970, вып. 243, стр. 24—30.

В белках *Sacch. cerevisiae* обнаружено методом т. н. свободного электрофореза шесть фракций, среди которых явно преобладает первая, наиболее подвижная фракция белков альбуминного типа (около 60% от суммарного белка). Под влиянием УЗ 880 кгц (дозы 0,36 и 1,08 кдж/см²), при воздействии на белковый раствор, подвижность фракций в электрическом поле снижается. Изменения же фракционного состава отмечены только при озвучивании живых клеток. Предполагается, что под влиянием примененных небольших доз УЗ *in vitro* происходят изменения конформации белков без разрушения первичной структуры. При воздействии *in vivo* следует учитывать влияние через систему регулирования биосинтеза белков.

Табл. 2, библиография — 15 назв.

ОБ АМИНОКИСЛОТНОМ СОСТАВЕ БЕЛКА И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ФОНДА *S. UTILIS* НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКОМ.

В. Тохвер, Х. Пыльд, К. Паллон.

«Вопросы физиологии и биохимии дрожжей».
Уч. зап. Тартуск. гос. ун-та, Труды по микробиологии I, 1970, вып. 243, стр. 31—39.

Изучалось относительное содержание аминокислот в суммарном белке *S. utilis* и в метаболическом фонде клеток этих же дрожжей. По аминокислотам, которые в клетке главным образом выполняют роль прямых предшественников белка, выявлена высокая корреляция состава белка и метаболического фонда. Такая корреляция значительно ослабляется при повреждении клеток в результате воздействия на них ультразвуком 880 кгц в дозе 3,60 кдж/см² (при интенсивности 2,0 вт/см²). Меньшие дозы не оказывали существенного влияния на этот показатель. Снижение значения корреляции происходит за счет изменений в составе свободных аминокислот метаболического фонда. Достоверных изменений в составе белков при примененных дозах ультразвука не обнаружено.

Табл. 3, библиография — 19 назв.

О РЕАКЦИОННОСПОСОБНОСТИ НЕКОТОРЫХ ГИДРОЛАЗ ДРОЖЖЕЙ С ИХ СУБСТРАТАМИ.

Л. Вийлеберг, М. Элламаа, Л. Острат,
П. Рятсеп.

«Вопросы физиологии и биохимии дрожжей». Уч. записки Тартуского гос. ун-та, Труды по микробиологии I, 1970, вып. 243, стр. 40.

Дозы УФ (248—400 нм) 0,1; 1,5 и 9,0 кдж/см² при воздействии *in vitro* (выделенный из клеток энзим) снижают сродство неочищенного сырого препарата β -фруктофуранозидазы *S. cerevisiae* в отношении сахарозы. При использовании указанных доз остаточная концентрация сахарозы, при которой останавливается энзиматический распад, повышается на 1,4—2,0 мМ.

Дозы УЗ (880 и 2950 кгц) 0,72; 2,16; 3,60 и 10,80 кдж/см² при воздействии *in vitro* снижают сродство с субстратом неочищенного сырого препарата α -глюкозидазы *C. utilis* в отношении мальтозы. При всех использованных дозах остаточная концентрация мальтозы, при которой останавливается деятельность энзима, повышается на 0,8—2,1 мМ.

УЗ с частотой 880 кгц оказывает при всех дозах более сильное действие на сродство с субстратом неочищенного сырого препарата α -глюкозидазы кормовых дрожжей в отношении мальтозы, чем УЗ с частотой 2950 кгц.

Табл. 3, библиография — 21 назв.

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА СИНТЕТИЧЕСКУЮ СПОСОБНОСТЬ ЭРГОСТЕРОЛА И ТИАМИНА ДРОЖЖЕЙ.

Л. Вийлеберг

«Вопросы физиологии и биохимии дрожжей». Уч. зап. Тартуск. гос. ун-та, Труды по микробиологии I, 1970, вып. 243, стр. 47—53.

Воздействие умеренными дозами (0,72, 2,16 и 3,60 кдж/см²) ультразвука (880 кгц) на инокулум *Sacch. cerevisiae* и *C. utilis* обуславливает в клетках суточных культур снижение содержания эргостерола соответственно на 211—594 мкг и 88—162 мкг на 1 г сухого вещества.

Содержание тиамина в клетках *Sacch. cerevisiae* и *C. utilis*, при использованных дозах ультразвука, снижается соответственно от 329,7—375,6 мкг и 40,0—150,0 мкг 1 г сухого вещества.

При этом изменяется также соотношение содержания связанного тиамина к свободному тиамину. Содержание связанного тиамина снижается у *C. utilis* от 42 до 56% по сравнению с контрольным витамином.

Табл. 2, библиография — 12 назв.

**О ВЛИЯНИИ ЭКСТРАКТА ЖИВОТНЫХ ТКАНЕЙ
НА ПЕКАРСКИЕ ДРОЖЖИ.**

В. Тохвер, Л. Вийлеберг.

«Вопросы физиологии и биохимии дрожжей».
Уч. зап. Тартуск. гос. ун-та, 1970, Труды по
микробиологии I, вып. 243, стр. 54—59.

На дрожжах *S. cerevisiae* изучали характер воздействия тканевого препарата, выпускаемого Тартуским мясокомбинатом в качестве биостимулятора. Установлено, что указанный препарат оказывает на жизнедеятельность дрожжей не стимулирующее, а чисто питательное влияние.

Табл. 1, библиография — 3 назв.

Труды по микробиологии

I

На русском и английском языках.
Тартуский государственный университет
ЭССР г. Тарту, ул. Юликооли, 18
Ответственный редактор В. Тохвер
Корректоры Н. Чикалова и О. Мутт.

Laduda antud 14. XI 1969. Trükkida antud 29. IV 1970. Kohila paberivabriku trükipaber nr. 2. 60×90¹⁶. Trükiroog-naid 4,25. Arvestuspoognaid 4,2. Trükiarv 500. MB-03883. Tellimise nr. 4362. Trükikoda «Pärnutrükk», Pärnu. Hommiku tn. 4.

Hind 50 kop