

Լ. Ա. ԵՐՅԻՆԿՅԱՆ, Ե. Ա. ՄՈՒՐԱԴՅԱՆ

Օ СОДЕРЖАНИИ ВИТАМИНА B_{12} В ШВЕЙЦАРСКОМ СЫРЕ

В микрофлоре молока крупного и мелкого рогатого скота наряду с молочнокислой микрофлорой встречаются пропионовокислые бактерии, которые часто попадают в молоко из навоза.

Вопросом пропионовокислого брожения в сырах длительного созревания посвящено много работ.

В настоящее время установлено, что пропионовокислые бактерии, которые играют важную роль в процессах созревания швейцарского сыра, одновременно способны синтезировать витамин B_{12} .

Как известно, витамин B_{12} имеет жизненно важное значение для организма. С большим успехом он применяется в медицине и в животноводстве в качестве лечебного препарата.

Синтезировать витамин B_{12} способны многие микроорганизмы, однако для промышленного получения витамина B_{12} могут быть использованы лишь те микроорганизмы, которые продуцируют наибольшее количество витамина B_{12} . За последние годы особое внимание начали уделять микроорганизмам кишечного тракта, в частности пропионовокислым бактериям и некоторым видам молочнокислых бактерий. Установлено также, что пропионовокислые бактерии являются наилучшими продуцентами витамина B_{12} .

В. Г. Мьякаревич, Т. П. Верховцева и Т. Н. Лазникова установили, что синтез витамина B_{12} пропионовокислыми бактериями в условиях различной аэрации на 1 г сухих бактерий приходится в пределах 197—280 гамм, а в жидкой питательной среде в пределах 0,69—1,15 γ /мл и что, накапливание витамина B_{12} прямо пропорционально накапливанию бактериальной массы.

Существует несколько методов определения содержания витамина B_{12} , из них заслуживают внимания:

- 1) фотоэлектроколориметрический (вробирочный) метод, разработанный институтом биохимии АН СССР им. Баха;
- 2) диффузный (чашечный) метод на агаризованных средах;
- 3) хроматографический метод (бумажная хроматография).

В настоящей работе приводятся данные определения витамина B_{12} в зрелом швейцарском сыре и свежем овечьем фекалии чашечным методом. Раньше для определения содержания витамина B_{12} в молоке использовались штаммы *Lactobacillus leichmanii*, а интенсивность роста молочнокислых бактерий определялась количеством образовавшейся кислоты в испытуемом растворе, а в настоящее время в качестве тест-микроба для определения витамина B_{12} служит штамм

E. coli 113—3, который одновременно чувствительный к серосодержащей аминокислоте—метионину. Микробиологический метод основан на способности роста *Bact. coli* только в присутствии витамина B_{12} и его псевдоформы—метионина. Этим методом можно безошибочно пользоваться лишь в том случае, если концентрация метионина не превышает концентрации витамина B_{12} от 1000 до 2000 раз. Тогда лишь можно наблюдать диффузные зоны роста *E. coli* вокруг цилиндриков.

В целях определения наличия витамина B_{12} в швейцарских сырах нами были взяты из горговой сети города Еревана 15 различных образцов зрелых швейцарских сыров производства сыроваренных заводов Армянской ССР. Образец швейцарского сыра растирался в фарфоровой ступке, после чего взвешивался; 5 г растертого сыра помещалось в коническую колбу и к нему добавлялось 25 мл дистиллированной воды. Для освобождения витамина B_{12} из белково-витаминного комплекса к испытуемой смеси добавлялось несколько капель нормального раствора соляной кислоты до установления $pH=4,6$, 0,75 мл 10% $NaNO_2$ (в качестве стабилизатора) и автоклавировалось при $1/2$ атм. 15 мин. Затем добавлялся нормальный раствор едкого натрия до установления $pH=6,8-7$ и фильтровался через бумажный фильтр. Полученный фильтрат готов к исследованию.

В качестве питательной среды бралась агаризированная среда 4 ВНИИА, которая разливалась в колбы и стерилизовалась при 1 атм. 20 мин., затем среда охлаждалась до 65 С и к нему добавлялся приготовленный Extempore 2,5 мл 40% раствора глюкозы на каждые 100 мл среды.

После чего смесь охлаждалась до температуры 48—50 С, туда вносилась взвесь односуточной культуры *E. coli* (из расчета в 1 мл среды 20—30 млн. микробных клеток). Засеянная среда разливалась по 15 мл в чашки Петри. В каждую чашку расставлялись по 6 стеклянных стерильных цилиндриков. В два противоположно расставленных цилиндрика наливался стандартный раствор витамина B_{12} , а в остальные 4 цилиндрика—растворы соответствующих разведений фильтратов испытуемых веществ.

В качестве стандарта применялся чистый препарат витамина B_{12} в ампулах. Содержимое ампулы разводилось дистиллированной водой до концентрации 1 γ /мл. Рабочий раствор должен содержать 0,05 γ /мл витамина B_{12} в 1%-ом растворе лимоннокислого натрия.

Во все цилиндры наливалось по 0,1 мл соответствующего раствора. Затем чашки помещались на 18 ч. в термостат с температурой 37 С. В присутствии витамина B_{12} вокруг цилиндриков появляются зоны роста. Одновременно подвергались исследованию непосредственно ломтики испытуемого швейцарского сыра, которые ставились на питательную среду 4 с тест-микробом *E. coli* 113—3. Результаты проведенных работ приведены в табл. 1 и 2.

Как видно из табл. 1, вокруг ломтиков швейцарского сыра (рис. 1), на чашках Петри образовалась (средние данные 4 образцов) 29,5 мм

зона роста, а вокруг контрольного образца витамина В₁₂ 19,8 мм зона роста, тогда как вокруг фильтрата того же сыра (рис. 2) образовалась на той же среде 28,4 мм зона роста.

Из приведенных данных видно, что зона роста вокруг ломтиков сыра незначительно больше зоны фильтрата того же сыра. Это отчасти объясняется присутствием метионина в сыре, который разрушается лишь при соответствующей обработке сыра и получении фильтрата.

Таблица 1

Содержание витамина В₁₂ в швейцарском сыре

| Испытуемые образцы | Зона роста в миллиметрах | | | |
|---------------------|--------------------------|---|---------------|---|
| | сыр в ломтиках | контроль витамина В ₁₂ 0,02 г/мл | фильтрат сыра | контроль витамина В ₁₂ 0,02 г/мл |
| 1 | 29,8 | 20,0 | 29,2 | 20,05 |
| 2 | 27,8 | 20,0 | 26,3 | 20,1 |
| 3 | 30,2 | 20,15 | 29,6 | 19,0 |
| 4 | 30,1 | 19,0 | — | — |
| В среднем | 29,5 | 19,8 | 28,4 | 19,7 |
| 5 | 28,5 | 11,0 (В ₁₂ 0,01г/мл) | 28,0 | 11,0 (В ₁₂ 0,01г/мл) |

Учитывая, что пропионовокислые бактерии относятся к группе кишечной микрофлоры и обладают наивысшим свойством синтезировать витамин В₁₂, поэтому, наряду с определением витамина В₁₂ в швейцарских сырах, нами определялось присутствие витамина В₁₂ в свежем овечьем фекалии.

Фильтрат свежего овечьего фекалия получали также вышеописанным способом. Ввиду того, что нами проводились качественные исследования на витамин В₁₂, поэтому бралось по одному рабочему раствору фильтратов испытуемых сыров и овечьего фекалия.

Исследованию подвергались как куски свежего овечьего фекалия, так и его фильтраты (табл. 2).

Таблица 2

Содержание витамина В₁₂ в овечьем фекалии

| Испытуемые образцы | Зона роста в миллиметрах | | | |
|---------------------|--------------------------|---|------------------|---|
| | фекалий кусочками | контроль витамина В ₁₂ 0,01 г/мл | фильтрат фекалий | контроль витамина В ₁₂ 0,01 г/мл |
| 1 | 20,0 | — | 21 | — |
| 2 | 21,0 | — | 23 | — |
| В среднем | 20,5 | 12,2 | 22 | 12,2 |

Как видно из табл. 2, вокруг кусочков овечьего фекалия (рис. 3) на чашках Петри образовалась в среднем 20,5 мм зона роста, а вокруг контрольного витамина В₁₂ в среднем образовалась 12,2 мм

зона роста. тогда как вокруг фильтрата того же фекалия (рис. 4) образовалась зона роста *E. coli* в среднем 22 мм.

Приведенные данные дают полное основание утверждать, что в свежем овечьем фекалии содержится значительное количество ви-

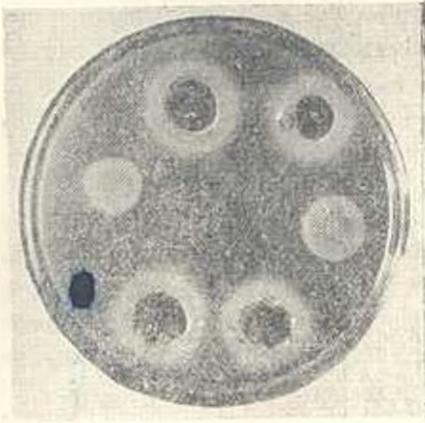


Рис. 1. Швейцарский сыр ломтиками.

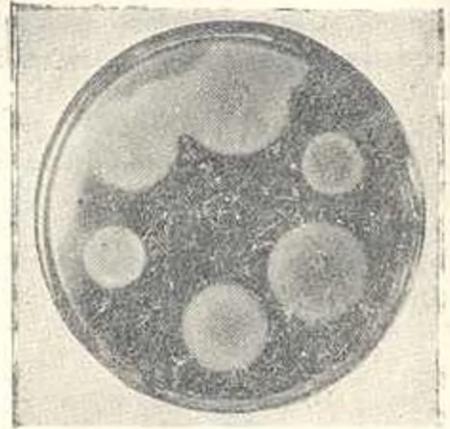


Рис. 2. Фильтрат швейцарского сыра.

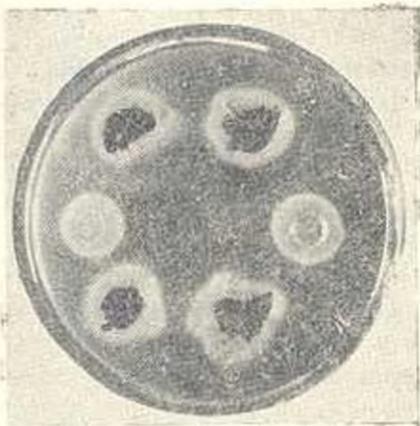


Рис. 3. Овечий фекалий кусочками.

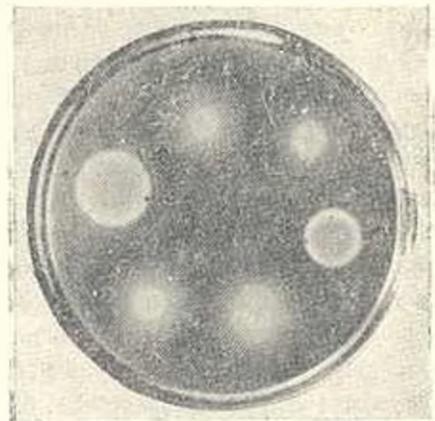


Рис. 4. Фильтрат овечьего фекалия.

тамина B_{12} . Следовательно, овечий фекалий является полноценным удобрением еще и потому, что в нем содержится значительное количество витамина B_{12} , что имеет важное значение для повышения урожайности сельскохозяйственных растений.

Исследованиями установлено, что в процессе определения витамина B_{12} микробиологическим методом наряду с гомологами витамина B_{12} определяются и псевдовитамины (метионин), которые относятся к той же группе химических соединений.

Как известно, в состав белка молока входит серосодержащая аминокислота-метионин, который, как было указано выше, обладает свойством стимулировать рост *E. coli*, хотя по данным некоторых иностранных ученых к концу созревания швейцарского сыра метионин

почти полностью разрушается. Поэтому нами производились также контрольные исследования образцов фильтратов сыров и овечьего фекалия, в которых витамин В₁₂ предварительно разрушался*. Как видно из приведенных данных (табл. 3), вокруг стеклянных цилиндриков испытуемых образцов до разрушения витамина В₁₂ на чашках Петри

Таблица 3

Витамин В₁₂ до и после разрушения в испытуемых веществах и в контрольном образце

| Испытуемые образцы | Зона роста в миллиметрах | | | |
|---|--|---|--|---|
| | образец 1 | | образец 2 | |
| | до разрушения в витамине В ₁₂ | после разрушения витамина В ₁₂ | до разрушения витамина В ₁₂ | после разрушения витамина В ₁₂ |
| Фильтрат фекалий | 23,5 | Роста нет | 20,7 | Роста нет |
| Контроль витамина В ₁₂ | 13,0 | Роста нет | 15,5 | Роста нет |
| Фильтрат сыра | 23,0 | Очень слабый рост | 22,8 | Очень слабый рост |
| Контроль витамина В ₁₂ | 19,7 | Роста нет | 19,7 | Роста нет |

образовалась зона 23,5 и 23 мм (образец 1) и 20,7 и 22,8 (образец 2) при контрольной зоне витамина В₁₂ в 19,7 мм, тогда как после разрушения витамина В₁₂ во всех случаях почти не наблюдались зоны роста E. coli. Из приведенных исследований видно, что во вполне зрелых швейцарских сырах метионин содержится в незначительных количествах, тогда как витамин В₁₂ содержится в значительных количествах, что намного повышает питательную ценность сыра.

В ы в о д ы

1. Во всех образцах нормально созревших швейцарских сыров нами обнаружено значительное количество витамина В₁₂, что намного повышает питательную и лечебную ценность швейцарского сыра.

2. Во всех образцах свежего овечьего фекалия обнаружено значительное количество витамина В₁₂, следовательно овечий фекалий является полноценным удобрением: он содержит в себе значительное количество витамина В₁₂, что имеет важное значение в деле повышения урожайности растений.

Контрольные исследования витамина В₁₂ в фильтратах швейцарских сыров и овечьего фекалия до и после разрушения витамина В₁₂ подтвердили правильность наших исследований.

Сектор микробиологии
Академии наук АрмССР

Поступило 30.IX 1960 г.

* Разрушение витамина В₁₂ производилось в испытуемых фильтратах путем добавления нормального раствора едкого натрия к фильтратам в соотношении 1:1 и кипячении в течение получаса с последующей нейтрализацией соляной кислотой и разбавлением водой до соответствующей концентрации.

Լ. Ն. ԵՐՁԻՆԿԱՆ, Ի. Ն. ՄՈՒՐԱԴՅԱՆ,

ՇՎԵՑՑԱՐԱԿԱՆ ՊԱՆԻՐՆԵՐՈՒՄ B_{12} ՎԻՏԱՄԻՆԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ
Մ Ա Ս Ի Ն

Ա մ փ ո փ ու մ

Խոշոր և մանր եղջերավոր անասունների կաթի միկրոֆլորայի մեջ, բացի կաթնաթթվալին բակտերիաներից, գտնվում են նաև սրբոպիտոնաթթվալին բակտերիաներ, որոնք պատճառ են դառնում հասունացած շվեյցարական պանիրների լուրահատուկ համին, բուրմունքին և ժակտակինությանը:

Վերջին տարիներում ապացուցվել է, որ սրբոպիտոնաթթվալին բակտերիաներն ընդունակ են սինթեզելու B_{12} վիտամինը:

Սրբոպիտոնաթթվալին բակտերիաները վիտամին արտադրելու իրենց ընդունակությամբ միկրոօրգանիզմների մեջ գրավում են առաջին տեղը: Ինչպես հայտնի է, B_{12} վիտամինը մեծ նշանակություն ունի կենդանական և բուսական օրգանիզմների նորմալ գործազման համար: Այժմ B_{12} վիտամինը մեծ հաջողությամբ կիրառվում է բժշկության և սնամանարուժուծության մեջ: Հաշվի առնելով սրբոպիտոնաթթվալին բակտերիաների դերը խոշոր պանիրների, մասնավորապես շվեյցարական պանրի հասունացման գործում, հարց առաջացավ պարզելու, թե սպիտակ լի կուտակվում շվեյցարական պանրի հասունացման ընթացքում B_{12} վիտամինը: Այդ նպատակով մենք վերցրել ենք Հայաստանում արտադրված շվեյցարական պանրի 15 տարբեր նմուշներ և հետազոտել դրանք: Մեր փորձերը ցույց տվեցին, որ լրիվ հասունացած շվեյցարական պանիրների մեջ գտնվում է զգալի քանակությամբ B_{12} վիտամին, որի նեղեանքով մեծապես բարձրանում են շվեյցարական պանրի սննդարար և բուժիչ հատկությունները:

Հաշվի առնելով նաև այն, որ սրբոպիտոնաթթվալին բակտերիաները հանդիսանում են աղիքային բակտերիաներ, այդ խոչ պատճառով մենք հետազոտեցինք ոչխարների թարմ կղանքները: Մեր փորձերը ցույց տվեցին, որ ոչխարի կղանքը ևս պարունակում է B_{12} վիտամին:

Հետևապես, ոչխարի կղանքը հանդիսանում է հաջող ստարարտանյութ նաև այն պատճառով, որ իր մեջ պարունակում է B_{12} վիտամին: