

Т. Г. АРУТЮНЯН

ПРЕВРАЩЕНИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ИНКУБИРОВАНИИ В ПРИСУТСТВИИ СОДЕРЖИМОГО РУБЦА

В предыдущих наших работах [1, 2, 5—8] установлено превращение азотсодержащих соединений кормов между отдельными фракциями содержимого рубца овец в условиях *in vivo*. Азотсодержащие соединения кормов сперва извлекаются в жидкую фазу содержимого рубца с определенным уровнем их накопления в разные периоды пищеварения, затем происходит их постепенное исчезновение.

Более полвека назад при изучении азотистого баланса у овец, находящихся на низкобелковой диете, была допущена возможность, что рубцовые микроорганизмы способны синтезировать белок из простых азотистых компонентов диеты [4].

Лусли и сотр. [11] показали, что микроорганизмы рубца жвачных, питавшихся мочевиной, которая являлась единственным источником азота в диете, синтезировали 10 аминокислот [9, 11].

Тер-Карапетян и Оганджян [7] при исследовании аминокислотного состава бесклеточной и твердой части содержимого рубца отметили, что состав свободных аминокислот и пептидов подвергается определенным изменениям в течение суток. Он резко увеличивается после скармливания, приближаясь к составу ультрацентрифугата корма (сено) в солевом растворе. Затем свободные аминокислоты (пептиды) постепенно исчезают из рубцового сока. На основании этих данных выдвинули гипотезу, что исчезновение аминокислот обусловлено главным образом синтезом микробного белка.

В условиях наших опытов вышензложенные изменения состава растворимых аминокислот и пептидов подтвердились (рис. 1).

Из приведенных хроматограмм видно, что состав растворимых аминокислот бесклеточного сока рубца в суточной динамике подчинен определенным закономерностям: он сильно возрастает после скармливания, когда наступает период интенсификации пищеварительных процессов, затем происходит постепенное исчезновение. В жидкую фазу содержимого рубца экстрагируются из корма не только свободные аминокислоты, но и определенное количество белков. Гидролизаты проб бесклеточной фракции рубцового содержимого показывают ту же закономерность изменения азотистых веществ, что и до гидролиза.

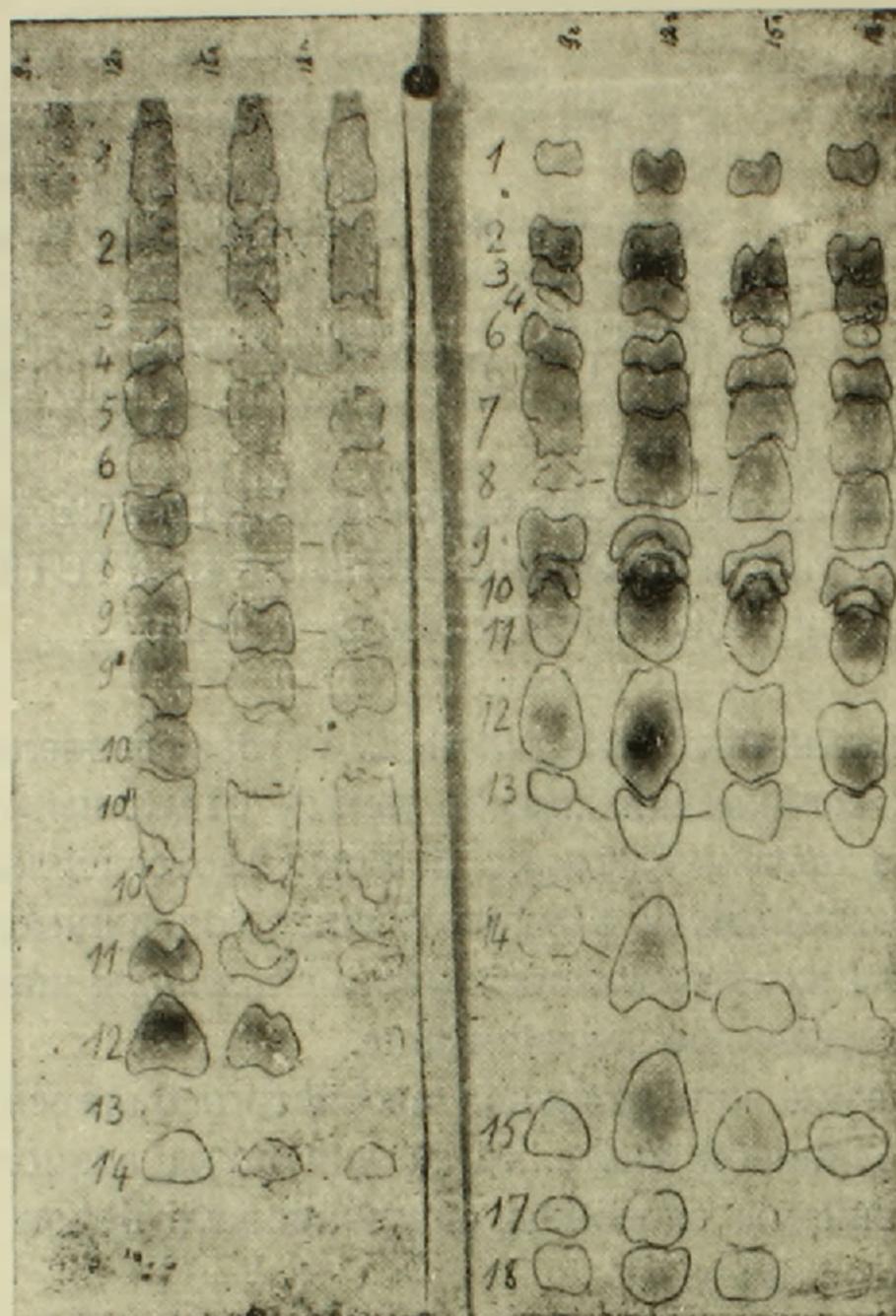


Рис. 1. Аминокислоты бесклеточного содержимого рубца:
до гидролиза

после гидролиза

1. Цистеин, 2. Лизин, 3. Гистидин, 6. Аргинин, 7. Аспарагиновая к-та, 8. Серин, Глицин, 9, 10, 11. Глутаминовая к-та + треонин, 12. Аланин, 13. Пролин, 14. Тирозин, 15. Валин-Метионин, 17. Фенилаланин, 18. Лейцин.

С целью выявления возможного усвоения азотсодержащих соединений микроорганизмами рубца были поставлены опыты *in vitro* с коротким периодом инкубации (6 час.) в термостате при 39°C, причем были исключены моменты всасывания и перехода питательных веществ в другие отделы пищеварительного тракта.

Направленность возможных синтетических процессов в рубце изучалась путем добавки естественных (экстракт сена) и искусственных субстратов (смеси синтетических аминокислот, приготовленных по заранее выделенному и определенному аминокислотному составу казеина и пшеничного белка [3]).

Исследования проводились в следующих направлениях.

инкубации цельного содержимого рубца и его бесклеточного центрифугата;

инкубации цельного содержимого рубца и его бесклеточного центрифугата с добавками:

а) экстракта сена; б) смеси аминокислот по модели аминокислотного состава казеина; в) смеси аминокислот по модели аминокислотного состава глина пшеницы.

Пробы для хроматографирования брались до инкубации и через каждые 2 час. в течение 6-часовой инкубации. Цельное содержимое рубца перед хроматографированием предварительно подвергалось центрифугированию при 16000 об/мин. Общий азот определялся методом микрокельдаля, аминный азот—методом Хардинга и Мак-Лина [10].

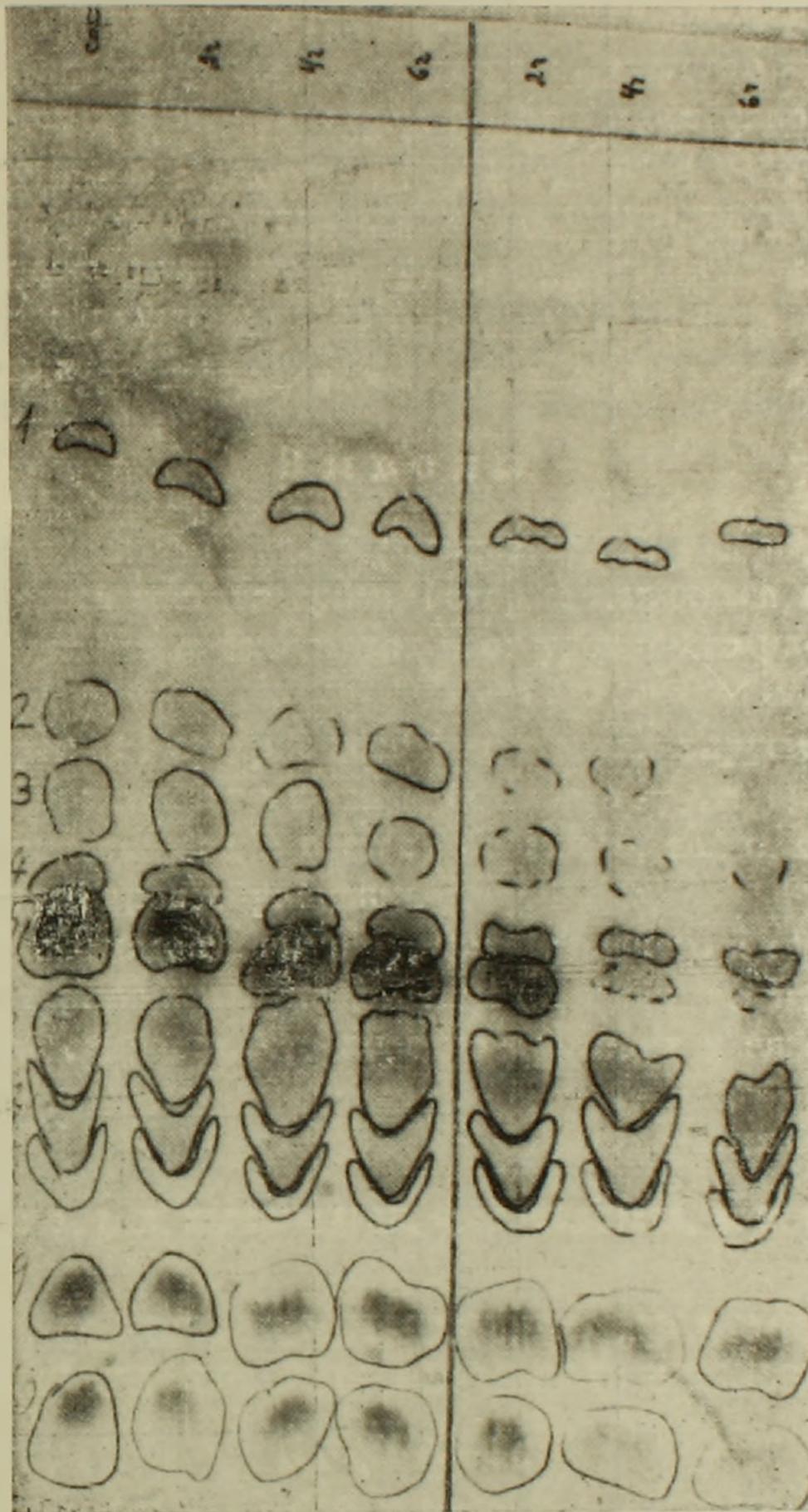


Рис 2. а) инкубированный сок рубцового содержимого, б) сок от инкубированного рубцового содержимого

Как показывают хроматограммы (рис. 2), при инкубировании бесклеточного сока заметного изменения в картине аминокислотного состава не наблюдается. При 6-часовой инкубации целого содержимого наблюдается постепенное исчезновение растворимых аминокислот. Особенно значительные изменения происходят с аспарагиновой кислотой, серином, глицином. В инкубированном соке рубцового содержимого с сennым настоем наблюдается определенное увеличение количества растворимых аминокислот по сравнению с контролем, тогда как в бесклеточном центрифугате инкубированного содержимого с добавками происходит постепенное исчезновение их (рис. 3).

Приведенные хроматограммы показывают, что исчезновение аминокислот можно приписать лишь деятельности микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1

Общий и аминный азот г в 100 г с/в бесклеточного центрифугата

| Время | Бесклеточный центрифугат, контроль | | | Цельное содержимое рубца | | | | | | | | | | | |
|--------------|------------------------------------|----------------------|---------------------|--------------------------|----------------------|---------------------|-----------------|----------------------|---------------------|--------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------|
| | | | | контроль | | | сенный экстракт | | | смесь аминокислот (по казеину) | | | смесь аминокислот (по глицерину) | | |
| | N общий | N (NH ₂) | $\frac{N(NH_2)}{N}$ | N общий | N (NH ₂) | $\frac{N(NH_2)}{N}$ | N общий | N (NH ₂) | $\frac{N(NH_2)}{N}$ | N общий | N (NH ₂) | $\frac{N(NH_2)}{N}$ | N общий | N (NH ₂) | $\frac{N(NH_2)}{N}$ |
| До инкубации | 2,1 | 0,40 | 19,05 | 1,9 | 0,23 | 12,10 | 2,0 | 0,17 | 8,50 | 2,0 | 0,67 | 33,50 | 3,5 | 0,45 | 12,85 |
| 2 | 2,2 | 0,40 | 18,18 | 2,3 | 0,43 | 18,69 | 2,5 | 0,57 | 22,79 | 2,4 | 1,14 | 47,50 | 3,9 | 0,53 | 13,58 |
| 4 | 2,3 | 0,40 | 17,39 | 2,7 | 0,60 | 22,22 | 3,0 | 0,82 | 27,33 | 2,9 | 1,30 | 44,83 | 4,1 | 1,13 | 27,56 |
| 6 | 2,2 | 0,41 | 17,82 | 2,8 | 0,62 | 22,14 | 3,5 | 1,03 | 29,43 | 3,1 | 1,60 | 51,61 | 4,2 | 1,17 | 27,85 |

Предварительные исследования по определению общего и аминного азотов показали, что в инкубированном бесклеточном соке указанные формы азота не изменяются, тогда как в центрифугате от инкубированного рубцового содержимого с добавкой экстракта сена и смеси аминокислот (приготовленного по модели казенна и глиадина) наблюдается значительное нарастание как общего, так и аминного азотов, которое идет за счет извлечения азотсодержащих соединений. Но соответствующие хроматограммы, наоборот, показывают очень заметное исчезновение растворимых аминокислот.

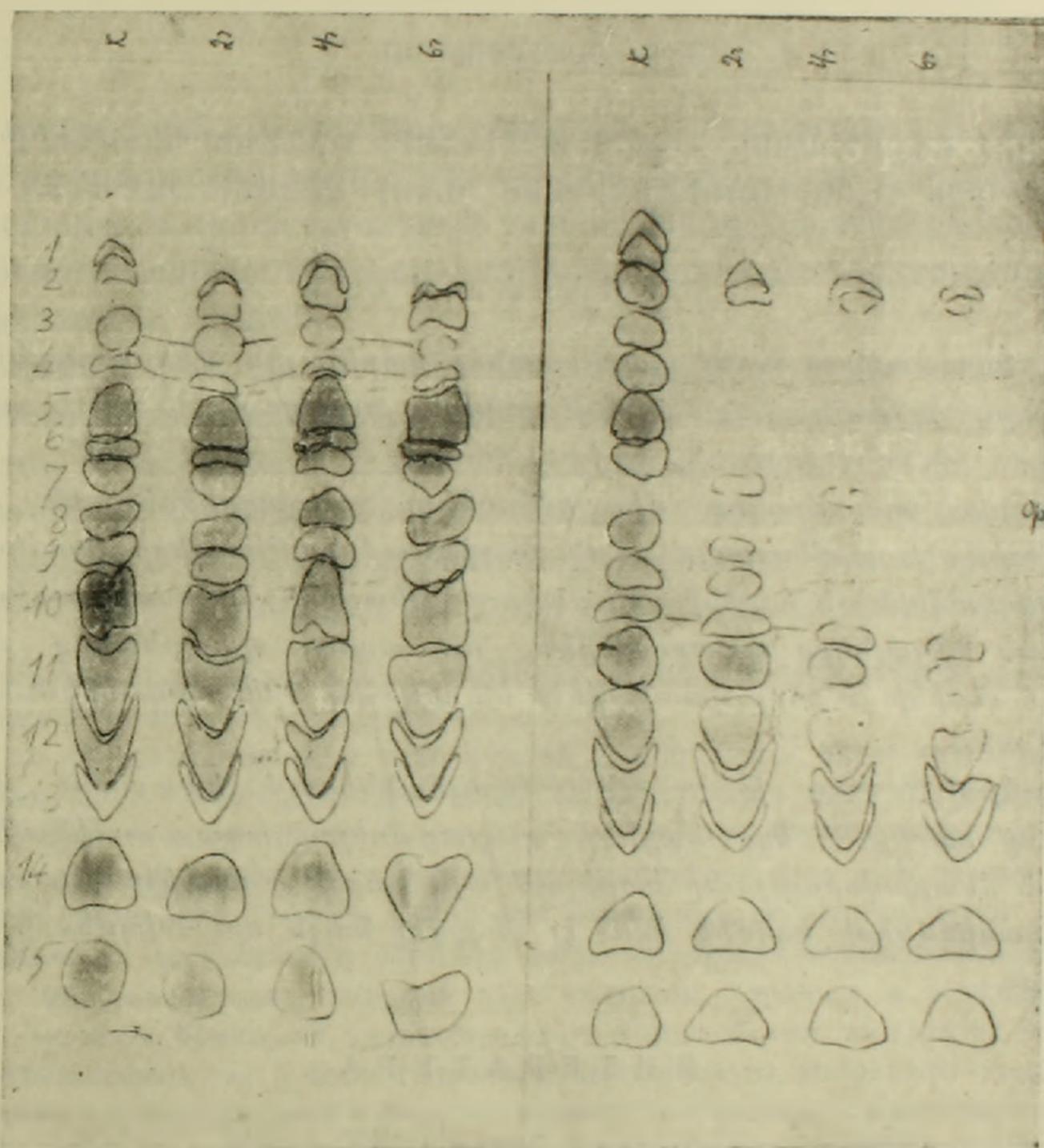


Рис. 3. а) инкубированный сок рубцового содержимого с сенистым настоем, б) сок от инкубированного рубцового содержимого с сенистым настоем.

Наша предположительная трактовка этого явления следующая: свободные аминокислоты под влиянием дезаминаз микроорганизмов подвергаются дезаминированию, в результате чего происходит накопление аммиака в среде, который по примененной нами методике определяется как аминный азот.

Для точного обоснования приведенных доводов нами предусмотрено проведение опытов по поглощению выделившегося аммиака, которые покажут степень дезаминационных процессов.

Таким образом, предварительные данные опытов *in vitro* говорят о превращениях азотсодержащих веществ под непосредственным воздействием микроорганизмов. Сопоставляя картины изменения свободных аминокислот в бесклеточном центрифугате в опытах *in vivo* и *in vitro*, можно заключить, что, исключая момент возможного всасывания, свободные аминокислоты, с одной стороны, могут непосредственно усваиваться микроорганизмами и, с другой—расщепляться дезаминазами тех же организмов.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 9.V 1971 г.

Տ. Գ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ԱԶՈՏ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ՄԻԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՓՈԽԱԿԵՐՊՈՒՄՆԵՐԸ ԿՏՐԻՉԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆՈՒՄ ԻՆԿՈՒՐԱՑԻԱՅԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մեր նպատակն է եղել պարզաբանել կտրիչային միկրոօրգանիզմների կողմից ազոտ պարունակող միացությունների յուրացումը *in vitro* պայմաններում:

Որպես ազոտ պարունակող միացություններ օգտագործվել են բնական (խոտի թորմ) և արհեստական (սինթետիկ ամինաթթուների խառնուրդներ՝ ըստ կաթի կազեինի և ցորենի սպիտակուց՝ գլիադինի) սուբստրատներ:

Նախնական տվյալները ապացուցեցին, որ ազոտ պարունակող միացությունների փոփոխումները կատարվում են շնորհիվ միկրոօրգանիզմների գործունեության:

Համեմատելով *in vivo* և *in vitro* պայմաններում կատարած փորձերի տվյալները կարելի է եզրակացնել, որ բացառելով ազատ ամինաթթուների ներծծման հնարավորությունը կտրիչում այն կարող է անմիջապես յուրացվել միկրոօրգանիզմների կողմից կամ էլ ճեղքվել նույն օրգանիզմների դեամինազներով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян Т. Г. Биологический журнал Армении, XIX, 4, 1966.
2. Арутюнян Т. Г. Автореферат канд. дисс., Ереван, 1966.
3. Белозерский А. Н. Практическое руководство по биохимии растений, 1951.
4. Руководство по кормлению и обмену веществ с/х животных, 1937.
5. Тер-Карапетян М. А., Арутюнян Т. Г., Семерджян Г. А. Биологический журнал Армении, XIX, 5, 1966.
6. Тер-Карапетян М. А., Арутюнян Т. Г. Биологический журнал Армении, XXIII, 9, 1970.
7. Тер-Карапетян М. А., Оганджян А. М. ДАН АрмССР, 125, 3, 1959.
8. Տեր-Վարապետյան Մ. Ա., Հարությունյան Տ. Գ., ՀՍՍՀ գյուղ. գիտ. տեղ., 5, 91, 1966:
9. Duncan C. N., Huffman C. F., Agrawala J. P. J. Dairy Sci., 35, 1952.
10. Harding W. J., Mac Lean R. M. по книге „Аналитические методы белковой химии“, 471, 1963.
11. Loosli J. A., Williams H. H., Thomas W, E., Ferris F. H., Malnard L. A. Science, 110, 1949.