

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.152:576.851

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГЛЮКОЗОИЗОМЕРАЗЫ У РАЗНЫХ ВИДОВ СПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

З. Г. АВАКЯН, С. Н. БАГДАСАРЯН, Л. С. МАРКОСЯН, Э. К. АФРИКЯН

Наиболее перспективным способом получения фруктозы, представляющей большой практический интерес для производства сахаристых продуктов, является ферментативная изомеризация ее из глюкозы с применением глюкозоизомеразы (Гл), или Д-ксилозо-кетол-изомеразы (КФ 5.3.1.5). Источником промышленного получения Гл являются микроорганизмы, среди которых выраженная ферментативная активность установлена у различных видов актиномицетов, проактиномицетов, молочнокислых и уксуснокислых бактерий [2, 3]. Для конверсии глюкозы во фруктозу применяются как клетки микроорганизмов—продуцентов Гл, так и полученные из них ферментные препараты. Высокоэффективным оказалось использование иммобилизованных форм клеток микроорганизмов и фермента в производстве фруктозного сиропа в проточной системе [1, 2].

Аэробные спорообразующие бактерии как источники получения Гл изучены слабо, хотя в данной группе установлено наличие высокопродуктивных штаммов этого фермента [2]. Особый интерес представили штаммы *Bac. coagulans*, с применением которых ряд фирм разработал с высоким технико-экономическим эффектом микробиологический метод получения фруктозного сиропа [4, 5].

Цель данного сообщения—систематическое изучение Гл-активности разных видов спорообразующих бактерий.

Материал и методика. Объектами исследований служили культуры аэробных спорообразующих бактерий, выделенные и изученные нами в Институте микробиологии АН АрмССР. В число изученных штаммов были включены культуры бацилл, полученные из разных коллекций нашей и других стран. Культуры выращивались при 28° на среде, содержащей (г/л): кукурузный экстракт—20,0, пептон—10,0, дрожжевой экстракт—2,0, ксилозу—3,0, глюкозу—7,0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ —0,5, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ —0,05, $NaCl$ —5,0, агар—20,0. Спустя 24 и 48 час. готовилась суспензия культур бактерий в реакционной смеси на 0,1 М фосфатном буфере с содержанием (г/л): $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ —0,476; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ —4,92; глюкозы—0,36; ксилозы—0,01. Растворы глюкозы и ксилозы стерилизовались пропусканием через фильтр Зейтца. В реакционную смесь вводилась суспензия испытуемого штамма с расчетом получения конечного титра около 0,5 млрд/мл, и пробирки помещались в водяную баню на 2 часа при 60°.

Активность Гл определялась по образовавшейся фруктозе с использованием цистеин-карбазольного метода [6]. Достоверность образования фруктозы устанавливалась ее хроматографическим определением с применением тиобарбитуровой кислоты [7].

Результаты и обсуждение. Сводные данные результатов исследования Гл активности односуточных культур разных видов спорообразующих бактерий подытожены в таблице. Степень ферментативной активности испытанных штаммов выражалась по сравнению с 0,15%-ным раствором фруктозы.

Таблица

Глюкозоизомеразная активность различных видов спорообразующих бактерий

Виды и группы бактерий	Кол-во испытанных штаммов	Кол-во штаммов с глюкозоизомеразной активностью	
		слабой	сильной
<i>Bac. subtilis-mesentericus</i>	118	3	40
<i>Bac. licheniformis</i>	9	1	8
<i>Bac. biotini</i>	4	0	0
<i>Bac. pumilus</i>	9	1	1
<i>Bac. mycoides</i>	40	1	1
<i>Bac. cereus-thuringiensis</i>	8	2	0
<i>Bac. brevis</i>	11	0	8
<i>Bac. megaterium</i>	42	1	10
<i>Bac. polymyxa</i>	18	0	15
<i>Bac. sphaericus</i>	5	0	2
<i>Bac. idosus-agglomeratus</i>	30	2	12
<i>Bac. albidus</i>	5	1	1
<i>Bac. circulans</i>	4	2	1
<i>Bac. coagulans</i>	2	1	1
<i>Bac. laterosporus</i>	4	0	2
<i>Bac. badius</i>	2	1	0
<i>Bac. alvei</i>	4	2	1
<i>Bac. papillae</i>	5	0	0
Итого	320	18	103

Представленный материал указывает на широкое распространение Гл у культур разных видов спорообразующих бактерий. Важно подчеркнуть, что подобная активность на достаточно высоком уровне выявляется у весьма распространенных в природе видов, в частности, *Bac. subtilis-mesentericus*, *Bac. idosus-agglomeratus*, *Bac. polymyxa*. Так, у культур группы сенового и картофельного бацилла более трети из изученных 118 штаммов проявляли высокую Гл-активность. Подобное отмечается почти у половины изученных культур *Bac. idosus-agglomeratus*, а в группе *Bac. polymyxa* число активных продуцентов Гл составляет 80%. Большинство изученных культур *Bac. mycoides*, *Bac. cereus*, характеризовалось либо слабой Гл-активностью, либо было лишено ее. Культуры вида *Bac. brevis* и отчасти *Bac. laterosporus*, *Bac. sphaericus* по нашим данным, следует отнести к перспективным источникам получения Гл. Исползованные в опытах штаммы *Bac. biotini*, близко родственного к картофельному бацилле биотиндефицитного вида, оказались лишенными Гл. У культур других видов, представленных ма-

лым числом штаммов, продуценты Гл отмечались редко. Все испытанные штаммы *Vac. porilliae*—возбудителей молочных болезней японского жука не обладали Гл-активностью. Следует отметить, что эти штаммы, полученные из коллекций культур микроорганизмов США и Франции, в условиях выращивания на искусственных питательных средах были лишены спорогенной способности. Среди других энтомопатогенных видов (*Vac. alvei*, *Vac. thuringiensis*) продуценты Гл более часто обнаруживаются у культур *Vac. alvei*.

Результаты проведенных исследований не дают оснований сделать заключение о систематической приуроченности Гл активности у разных видов и групп спорообразующих бактерий, хотя в отдельных случаях это выявляется (*Vac. polymyxa*, *Vac. brevis*). Помимо испытанных штаммов бацилл, были изучены и некоторые другие энтомогенные микроорганизмы, в частности дрожжи и энтерококки, у которых Гл выявлялась редко и в слабой степени.

Группа *Vac. subtilis-mesentericus*, представленная наибольшим числом изученных штаммов, включала большое число разновидностей. Среди исследованных 70 штаммов, идентифицированных как *Vac. subtilis*, было выявлено 45 культур со слабой и одна — с сильной Гл-активностью. Изучено 48 культур различных разновидностей *Vac. mesentericus*, из которых у 8 штаммов выявлена Гл, в том числе у 7 со слабой и одного—с сильной активностью. Из 5 культур *Vac. mesentericus niger* Гл со слабой активностью выявлена у 2-х штаммов, у 4-х штаммов *Vac. mesentericus fuscus* и 2-х *Vac. mesentericus vulgatus* Гл не выявлена. Среди 40 штаммов *Vac. mycoides* имелось 8 инверсивных форм. Наиболее активный продуцент Гл был обнаружен лишь у одного штамма именно этой разновидности.

Результаты изучения Гл у культур спорообразующих бактерий после их инкубации в течение 48 час. оказались аналогичными подытоженным в табл., но, как правило, у них ферментативная активность устанавливалась на более низком уровне, либо не обнаруживалась. Изучение этого явления показало, что оно связано с интенсивностью спорообразования. Культуры бактерий на стадии завершения спорообразования или свободных спор обладали слабой активностью Гл, либо полностью теряли ее.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 12.VII 1979 г.

ԳԼՅՈՒԿՈՋԻԶՈՄԵՐԱԶԱՅԻ ՏԱՐԱԾՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՍՊՈՐԱՎՈՐ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՄՈՏ

Չ. Գ. ԱՎԱԿՅԱՆ, Ս. Մ. ԲԱՂԴԱՍՍՐՅԱՆ, Է. Ս. ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ,
Է. Գ. ԱՅՐԻԿՅԱՆ

Ուսումնասիրվել են սպորավոր բակտերիաների 320 կուլտուրաների գլյուկոզիդոմերազային ակտիվությունը: Պարզվել է, որ այդ խմբին պատ-

կանոդ, բնության մեջ յայն տարածված բակտերիաների որոշ տեսակներ
օժտված են զլյուկոզիդոմերազային բարձր ակտիվությամբ: Ստացված ար-
դյունքները հնարավորություն չեն տալիս եզրակացնելու հիշյալ ֆերմենտի
տեսակային պատկանելության մասին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ананичев А. В., Улезло И. В., Резников А. А., Безбородов А. М., Березин И. В.
Биохимия, 43, 7, 1234, 1978.
2. Грачева И. М., Мосичев М. С., Гавристов А. В., Филиппов С. А. Глюкозоизмера-
за, СОИПН Главмикробиопроба, М., 1976.
3. Окунев О. И., Ананьин В. М., Головлев Е. Л., Виноградова К. А., Скрыбин Г. К.
Прикладная биохимия и микробиология, 14, 1, 44, 1978.
4. Патент США № 3.979.261.
5. Патент США № 4.042.460.
6. Dische L., Borenfreund E. J. Biol. Chem., 192, 583, 1951.
7. Percheron F. Bull. Soc. Chim. Biol., 44, 1161, 1962.