

revealed. Depending on the combination, the degree and direction of correlation between the same signs can be differed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта, М., 1979.
2. Жученко А. А. Экологическая генетика культурных растений. Кишинев, 1980.
3. Кедров-Зихман О. О., Белько Н. Б., Шарено Т. И. Гетерозис и количественная наследственность. Минск, 1977.
4. Паламарчук А. И., Боговодский М. А. Сб. тр. ВИТИМ, вып. 110, Краснодар, 1934.
5. Poullaitis B. Canad. J. of Genet. and Cytol., 7, 3, 523—529, 1965.
6. Romana Rao V. V., Subrahmanyam M. Indian J. of agric. Sci., 43, 8, 813—816, 1973.
7. Scossiroli R. E. et al. Tobacco, 63, 690, 25—45, 1959.
8. Tso T. et al. Beitr. Tabakforsch. Intern., 11, 3, 141—150, 1932.

«Биолог. ж. Армении», т XXXVII, № 3, 1984

УДК 576.8.66.4

ИЗУЧЕНИЕ БИОМАССЫ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫРАЩЕННЫХ НА МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЕ АРЗНИ

А. А. ЭЛИАЗЯН, А. Х. ПАРОНЯН, С. А. АРУТЮНЯН, М. И. МАЛЯН

Изучена возможность получения полноценной биомассы фототрофных бактерий на минеральной воде, обогащенной различными органическими добавками. Определены выход сухой биомассы, содержание сырого протеина и истинного белка. Установлено, что белок сухой биомассы легко гидролизруется пепсином. По набору и содержанию аминокислот, а также витаминной биомассы фототрофных бактерий не уступает другим микробным кормовым препаратам.

Ключевые слова: бактерии фототрофные, вода минеральная, белок, витамины.

Фототрофные бактерии привлекают все большее внимание как перспективный источник получения белково-витаминных кормовых препаратов. По содержанию в биомассе белка, витаминов, жиров, углеводов, каротиноидов фототрофные бактерии не уступают микроводорослям, дрожжам и другим микроорганизмам, используемым для получения кормовых продуктов. В то же время они имеют определенные преимущества: их клеточные стенки не так прочны, как у водорослей и дрожжей, легко гидролизуются пищеварительными ферментами, они способны ассимилировать углекислоту, используя солнечную энергию, расти на простых, дешевых средах, что существенно снижает себестоимость биомассы. Биомассу фототрофных бактерий (БФБ) можно получить и в виде побочного продукта при биологической очистке различных стоков [9, 13]. Следует отметить также, что биомасса этих бактерий нетоксична.

Получены положительные результаты при использовании БФБ в качестве добавок и стимуляторов в птицеводстве, рыбоводстве, в качестве жидкого удобрения в сельском хозяйстве [2, 8—10, 12, 13].

Высокая потребность в белково-витаминных кормовых препаратах диктует необходимость поисков дешевых упрощенных сред для массового культивирования фототрофных бактерий.

Цель настоящей работы состояла в изучении возможности использования природной минеральной воды Арзни для культивирования несерных пурпурных бактерий и установлении питательной ценности биомассы, полученной на этой среде.

Материал и методика. Объектом исследований служили несерные пурпурные бактерии *Rhodospseudomonas sphaeroides*, ш. SN93, *Rhodospseudomonas palustris* ш. П—255 из коллекции ИИМЛ, *Rhodospirillum rubrum* ш. 1 (из КМ МГУ). Культуры выращивали в люминесценте в анаэробных условиях, при освещенности 2000 лк, на среде Ормеруда и минеральной воде Арзни № 23 с различными органическими добавками.

В качестве добавок использовали пептон, кукурузный и дрожжевой экстракты, гидролизаты БВК и отработанного активного ила Киропаванского аэкомбината. Минеральной воде Арзни использовали после стерилизации при 0,5 атм, БВК и активный ил—после кислотного гидролиза по следующему режиму: 1 и HCl для БВК и 2 и H₂SO₄ для ила в соотношении 10:1, в автоклаве при 1,5 атм в течение одного часа. После нейтрализации и центрифугирования надосадочную жидкость разбавляли дистиллированной водой в соотношении 2:1 и стерилизовали при 0,5 атм в течение 20 минут. Добавки вносили в среду непосредственно перед питанием.

В БФБ определяли содержание сырого протеина (N×6,25), истинного белка по Лоурри, аминокислотный состав методом бумажной хроматографии по Лоран-Лисенко-му, витаминные группы В—микробиологическим методом Озидовой [6] и В₁₂—пробирочным методом по Куцевой [3].

Аминокислотный состав суммарного белка определяли после кислотного гидролиза в HCl и запаивания ампулах при 110° в течение 24 часов, свободные аминокислоты—с помощью спиртовой экстракции (80%-ным кипящим этанолом в течение 1 часа), перевариваемость белка—методом Ведынсера [7].

Минеральная вода Арзни содержит соли и микроэлементы, необходимые для роста фототрофных бактерий. Но поскольку несерные пурпурные бактерии—фотогетеротрофы и для их роста необходимо наличие в среде органических соединений, к минеральной воде добавляли одно из следующих веществ: пептон, кукурузный или дрожжевой экстракт, гидролизаты БВК или активного ила.

С целью подбора оптимальных количеств этих добавок были испытаны следующие их концентрации (в %): 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,7, 0,9, и 1,0. Оптимальными для роста всех культур оказались 0,3% пептона, кукурузного и дрожжевого экстрактов, 0,1% (в пересчете на сухой вес) гидролизата БВК и активного ила.

Результаты и обсуждение. Данные о выходе биомассы и содержании белкового комплекса представлены в табл. 1. Для изученных культур наиболее эффективной добавкой к минеральной воде оказался гидролизат БВК. Выход биомассы в этом случае был намного выше, чем на контрольной среде Ормеруда. У *Rh. sphaeroides* при использовании БВК накопление биомассы достигало 4,0 г/л, у *R. rubrum*—3,2 г/л, что примерно в 1,5—2,0 раза больше, чем на контрольной среде (2,7 и 1,7 г/л соответственно). Незначительное увеличение биомассы наблюдалось у *Rh. palustris*.

Выявлены различия в содержании сырого протеина и белка в зависимости от использованных добавок. При этом увеличение содержа-

ния сырого протеина не всегда коррелирует с увеличением содержания белка. Так, у *R. rubrum* благоприятное действие на количество сырого протеина оказывают пептон, кукурузный и дрожжевой экстракты, а белка—пептон, гидролизат БВК и кукурузный экстракт. У *Rh. palustris* накопление в клетках сырого протеина стимулируют гидролизаты БВК и ила, несколько меньше—дрожжевой экстракт. Аналогичные резуль-

Таблица 1

Выход биомассы и содержание белка у фототрофных бактерий, выращенных на минеральной воде Арзни с различными добавками

Культуры	<i>Rh. sphaeroides</i> SN9:3			<i>Rh. palustris</i> , Ф-255			<i>R. rubrum</i> , 1		
	биомасса, г/л	протеин, %	белок, %	биомасса, г/л	протеин, %	белок, %	биомасса, г/л	протеин, %	белок, %
Пептон, 0,3	3,3	55,0	42,0	1,9	52,4	41,5	2,3	58,8	47,0
Гидролизат БВК, 0,1	4,0	61,3	48,0	2,9	68,8	55,5	3,2	54,7	47,0
Гидролизат активного ила, 0,1	3,2	58,9	43,5	1,6	61,3	51,0	1,6	50,0	40,5
Кукурузный экстракт, 0,3	2,9	61,3	47,0	1,2	51,0	48,8	2,6	57,5	45,0
Дрожжевой экстракт, 0,3	3,8	50,5	39,2	1,2	58,2	49,9	2,2	58,1	43,8
Контроль (ср. Ормеруда)	2,7	54,7	42,0	2,3	51,8	49,0	1,7	50,0	37,0

таты получены на опытах с *Rh. sphaeroides*. Большой набор органических соединений, используемых несерными пурпурными бактериями, дает возможность выбрать наиболее дешевые и эффективные для получения биомассы с нужными показателями. Минеральная вода Арзни, обогащенная гидролизатом БВК в концентрации 0,1%, является благоприятной средой для накопления биомассы и азотистых веществ.

Исследован аминокислотный состав свободных внутриклеточных аминокислот и суммарного белка фототрофных бактерий, культивированных на минеральной воде Арзни с различными добавками. Установлено, что в клетках изученных культур доминирующими свободными аминокислотами являются лизин, аргинин, глутаминовая кислота, α-аланин. Их количества в зависимости от состава среды несколько меняются. При выращивании на минеральной воде с гидролизатом БВК заметно увеличивается количество лизина, серина, глутаминовой кислоты, валина, лейцина. Обогащают аминокислотами также пептон, дрожжевой экстракт. На среде Ормеруда и минеральной воде Арзни с кукурузным экстрактом содержание аминокислот несколько уменьшается. Центральное место в составе аминокислот несерных пурпурных бактерий занимают лизин, аргинин, глутаминовая кислота, аланин. В отличие от серных пурпурных и зеленых бактерий [5] здесь не обнаруживается γ-аминомасляной кислоты, которая обычно образуется в результате декарбоксилирования глутаминовой кислоты.

В аминокислотном составе суммарного белка изученных бактерий обнаружены 16 аминокислот (триптофан не определяли), регулярно встречающихся в гидролизатах белка (табл. 2). Преобладающими являются лизин, аргинин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, α -аланин, лейцин. По содержанию отдельных аминокислот изученные три вида бактерий заметно различаются: *Rh. sphaeroides*—большим содержанием лизина, аргинина, серина; *Rh. palustris*—лизина, аргинина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, треонина, α -аланина; *R. rubrum*—

Таблица 2

Аминокислотный состав суммарного белка фототрофных бактерий.
% к сумме аминокислот

Культуры	<i>Rh. sphaeroides</i> , шт. SN9/3		<i>Rh. palustris</i> , шт. Ф-255		<i>R. rubrum</i> , шт. 1	
	контроль (ср. Ор- меруда)	минеральная вода с гидролизатом БВК	контроль (ср. Ор- меруда)	минеральная вода с гидролизатом БВК	контроль (ср. Ор- меруда)	минеральная вода с гидролизатом БВК
Аминокислоты						
Цистин	+	+	+	+	+	+
Лизин	12,2	13,3	15,0	15,0	6,8	7,6
Гистидин	+	+	+	+	+	+
Аргинин	11,0	11,3	11,7	13,2	12,0	12,8
Аспарагиновая кислота	7,4	8,1	13,2	13,5	7,8	7,8
Серин	10,4	11,3	3,5	3,7	8,4	8,5
Глицин	8,6	9,0			2,5	3,2
Глутаминовая кислота	8,8	10,0	14,2	14,4	16,2	17,0
Треонин	8,0	9,0	15,0	15,7	7,3	7,9
α -аланин	8,8	9,3	15,0	15,9	15,0	16,0
Тирозин	+	+	+	+	2,0	2,8
Метионин	+	+	2,0	2,4	+	+
Валин	6,8	7,5	5,2	5,5	8,6	9,8
Фенил-аланин	+	+			3,0	3,7
Изо-лейцин	9,0	10,0	6,5	8,1	14,2	15,4
Лейцин						

аргинина, глутаминовой кислоты, α -аланина, лейцина. В отличие от серных пурпурных и зеленых бактерий [4] в белках изученных нами не-серных пурпурных бактерий содержится в большом количестве лизин, аргинин, треонин. По содержанию аминокислот биомасса, выращенная на минеральной воде Арзни с гидролизатом БВК, не уступает биомассе, полученной на среде Ормеруда.

Важной характеристикой белкового продукта наряду с высоким содержанием белка и аминокислот, является степень его переваримости, т. е. гидролизуемость ферментами желудочно-кишечного тракта.

Степень переваримости белка оценивали *in vitro* по разности количества белка до и после инкубации сухих клеток с пепсином. Отношение этой величины к количеству исходного белка, выраженное в процентах, характеризует переваримость белка. Результаты, полученные этим методом, согласуются с данными, полученными методом определения переваримости *in vivo* [7]. Переваримость белка сухих клеток обеих культур составляет 54,3—58,3% (табл. 3).

Близкие данные относительно переваримости белка фототрофных бактерий имеются в работах других исследователей [10]. Важным по-

Таблица 3

Переваримость белка у *Rh. palustris* и *R. rubrum*,
выращенных на разных средах

Показатели переваримости	<i>Rh. palustris</i>		<i>R. rubrum</i>	
	среда Ормеруда	минеральная вода Арзни	среда Ормеруда	минеральная вода Арзни
до инкубации	41,0	55,5	37,0	47,0
после инкубации	19,2	17,2	8,5	15,1
Белок. Переваримость, %	54,3	55,6	57,0	59,2

казателем кормовой ценности биомассы является также содержание витаминов. Соответствующие данные, касающиеся фототрофных бактерий, приведены в ряде работ [1, 10, 11, 14].

Нами было определено содержание некоторых витаминов группы В у культур, выращенных на минеральной воде Арзни с гидролизатом БВК (табл. 4). Установлено, что в клетках изученных штаммов фототрофных бактерий в значительном количестве содержатся тиамин, биотин, пиридоксин, пантотеновая и никотиновая кислоты, кобаламин (B_{12}).

Высоким содержанием тиамина отличается *Rh. palustris*, пиридоксина—*Rh. palustris* и *R. rubrum*. Привлекает внимание высокое содержание пантотеновой, никотиновой кислот у исследуемых бактерий. Изученные фототрофные бактерии содержат витамин B_{12} в количествах (0,6—2,80 мкг/г), близких к таковым многих гетеротрофных микроорганизмов (0,4—2,5 мкг/г) [1].

Таблица 4

Содержание витаминов группы В в клетках фототрофных бактерий, выращенных на минеральной воде Арзни с гидролизатом БВК, мкг/г сухой биомассы

Витамины	<i>Rh. palustris</i> , шт. Ф-255	<i>Rh. sphaeroides</i> , шт. SN93	<i>R. rubrum</i> , шт. 1
Тиамин	19,3	5,8	5,0
Биотин	0,50	0,05	0,40
Пиридоксин	8,20	3,55	5,10
Пантотеновая кислота	500	230	320
Никотиновая кислота	490	400	380
B_{12} (кобаламин)	2,00	2,80	0,80

Полученные результаты показывают, что минеральная вода Арзни может служить хорошей солевой основой питательной среды для несерных пурпурных бактерий. Использование природной минеральной воды удешевляет и облегчает приготовление питательной среды. Несерные пурпурные бактерии хорошо растут и накапливают биомассу на минеральной воде с органическими добавками. Выход биомассы на такой среде оказывается выше, чем на среде Ормеруда.

БФБ, выращенная на минеральной воде, богата белком, аминокислотами и может быть использована в качестве кормовой добавки в животноводстве и птицеводстве.

ԱՐՁՆԻ ՀԱՆՔԱՅԻՆ, ՋՐԻ ՎՐԱ ԱՃՆՅՐԱՄ ՀԱՏՈՏՐՈՅ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ
ԿԵՆՍԱԶԱՆԳՎԱՅԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա. Ա. ԷԼԻԱԶՅԱՆ, Ա. Կ. ՊԱՐՈՆՅԱՆ, Ս. Ի. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Մ. Ն. ՄԱԼԱՏՅԱՆ

Աստամնասիրվել է ֆոտոտրոֆ բակտերիաների լիարժեք կենսազանգվածի ստացման հնարավորությունը՝ տարբեր օրգանական նյութերով հարստացած հանքային ջրի վրա: Որոշվել է չոր կենսազանգվածի ելքը և նրա մեջ սպիտակուցի պարունակությունը: Հաստատվել է, որ չոր կենսազանգվածի սպիտակուցը հեշտությամբ հիպոլիզվում է պեպսինով: Ամինաթթուների, ինչպես նաև վիտամինների որակական կազմով և քանակով ֆոտոտրոֆ բակտերիաների կենսազանգվածը չի զիջում այլ միկրոբային պրոբյարատիներին:

THE STUDY OF THE BIOMASS OF PHOTOTROPHIC BACTERIA,
GROWN ON THE ARZNI MINERAL WATER

A. A. ELIAZIAN, A. Kh. PARONIAN, S. H. HARUTIUNIAN,
M. N. MALATIAN

The yield of the biomass, the protein, amino acid and vitamin content have been determined. According to the composition and the content of amino acids and vitamins, the biomass of phototrophic bacteria does not yield to other microbial products of food value.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кондратьева Е. И., Успенская В. Э. Докл. АН СССР, 136, 718, 1961.
2. Карапетян С. К., Баласанян Р. Г., Маладян М. И., Паронян А. Х. Биолог. ж. Армении, 31, 150, 1980.
3. Куцева Т. С. В сб.: Витаминовые ресурсы и их использование, 5, 133, 1961.
4. Малофеева И. В., Корженко В. И., Кондратьева Е. И. Микробиология, 34, 753, 1965.
5. Малофеева И. В., Кондратьева Е. И. Микробиология, 36, 890, 1967.
6. Одишова Е. И. Микробиологические методы определения витаминов, М., 1959.
7. Хотянович А. В., Веденеева Н. А., Кубарева З. И. Прикл. биохим. и микробиол., 8, 186, 1972.
8. Kobayashi M. Microbiol. energy conversion, Göttingen, Erich Goltre kg., 433, 1976.
9. Kobayashi M., Kurata Sh. Process Biochem., 13, 9, 1978.
10. Kanamori M., Ibuki F., Miyoshi M., Tashiro M. Proc. 10-th Int. Congr. Nutr. Kyoto, 1975, Kyoto 681, 1976.
11. Cauthen S., Pattison J., Lascelles I. J. Biochem. J., 102, 774, 1967.
12. Malatian M. N., Paronian A. Kh., Eliazian A. A. Int. XII Intern. Congr. on microbiology, München, 1978.
13. Shipman R., Fan L., Kao J. Adv. Appl. Microbiol., 21, 161, 1977.
14. Sasaki K., Hayashi M., Nagai Sh. J. Ferment. Technol., 56, 3, 1978.