



Биолог. журн. Армении, 1-2 (60), 2008

УДК 591.1.05

СОСТАВ ДИАЛИЗАТОВ ГОМОГЕНАТА ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РОСТ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA GUILLIERMONDII* НП-4

А.Х. АГАДЖАНИЯН, С.В. ЧУБАРЯН, Л.Р. ТУМАНЯН,
А.А. АГАДЖАНИЯН, М.С. МАРТИРОСЯН, М.М. АРШАКЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Установлено стимулирующее влияние диализата гомогената проростков пшеницы и его остатка на рост дрожжей, причем термическая обработка не снижала стимулирующего влияния диализатного остатка. Анализ содержания кристаллических фаз диализатов гомогената (полученных ступенчатым диализом) показал, что они содержат бутиленэфир, 1-пролинамин и N-метилпролин (гигриновая кислота), являющийся продуктом расщепления гигрина, кукусгигрина и никотина.

Հաստատվել է ցորենի ծիլերի հումոգենատի դիալիզատի և դիալիզատային մնացորդի խթանիչ ազդեցություն խմորասնկերի աճի վրա, ընդ որում պարզվել է, որ ջերմային մշակումը չի նվազեցնում մնացորդի խթանիչ ազդեցությունը:

Գատարվել է նաև աստիճանական դիալիզի ճանապարհով ստացված դիալիզատային տարբերակների բյուրեղային ֆազերի կառուցվածքային բաղադրամասերի ուսումնասիրություն: Պարզվել է, որ նրանք պարունակում են 1-պրոլինամին, N-մեթիլպրոլին, բուտիլենէթեր: Ընդ որում N-մեթիլ-պրոլինը /գիգրինաթթու/ համարվում է գիգրինի, կուկսգիգրինի և նիկոտինի ճեղքման արդյունք:

It is established the influence of dialyzate and its remnant of homogenat buds of wheat on growth of yeasts. The thermal treatment of dialyzate don't increase the stimulation of yeast growth. The crystals of dialyzates contents 1-prolineamin, N-methylproline, butilenether. N-methylproline it is the product of splitting of gigrin, kuksgigrin and nikotin.

Пролин - диализат - биомасса - дрожжи

В медицине используются различные виды лекарственных растений, лечебные свойства которых связаны с наличием биологически активных веществ, оказывающих то или иное физиологическое влияние на организм человека, имеющих разнообразный состав и содержащих химические вещества, принадлежащие к различным классам.

В качестве показателя накопления биомассы дрожжей можно использовать количество свободного пролина, который, образуясь в клетках, используется в синтетических реакциях. Проллин является высококалорийным субстратом [1,4], акцептором и донором водорода [5], физико-химическим медиатором в метаболических процессах.

Целью настоящей работы является изучение влияния диализата гомогената проростков пшеницы и его остатков на накопление биомассы дрожжей *Candida guilliermondii* HN-4.

Материал и методика. Объектом исследования служили дрожжи *Candida guilliermondii* HN-4. Подготовку посевного материала дрожжей осуществляли по следующей схеме: музейная культура, двухсуточная культура на 2%-ном суслоагаре, культура, выращенная в жидкой синтетической среде. Состав жидкой питательной синтетической среды, г: глюкоза-10, KH_2PO_4 -1.23, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0.625, NaCl - 0,125, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -3.12, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -0.125 на 1 л водопроводной воды. Среду распределяли по 100 мл в литровые конические колбы и подвергали стерилизации под давлением 0,5 атм. в течение 20 мин. К стерильной среде добавляли стерильный раствор биотина в расчете 0.8 мг на каждые 100 мл. Инкубирование проводили в течение 20-22 ч при 30-32° и интенсивном взбалтывании. Подготовленную к опыту культуру центрифугировали, промывали, суспензировали в воде (12 мл). 1 мл суспензии доводили водой до 50 мл и нефелометрировали. Исходя из показаний ФЭК-а, по стандартной кривой определяли количество дрожжей. Сухой вес затем уточняли взвешиванием. Проллин определяли методом Блюменкратца [3].

Результаты и обсуждение. Как известно, экстракт проростков пшеницы стимулирует активность некоторых ферментативных реакций. В последние годы в нашей лаборатории было выявлено, что экстракт 7-дневных проростков пшеницы стимулирует рост дрожжей, увеличивая их биомассу в 2,0-2,5 раза.

Для выяснения природы веществ, стимулирующих рост дрожжей (высокомолекулярные или низкомолекулярные), гомогенаты проростков пшеницы были подвергнуты диализу (20 ч). На рис.1 представлены результаты исследований влияния диализата (диализный буфер) и его остатка (содержание диализного мешка) на рост дрожжевых клеток.

Из рис. 1 видно, что гомогенат стимулирует рост дрожжей. Что касается диализата и его остатков, то они оказывают одинаковое влияние, причем после кипячения стимулирующее влияние диализатного остатка не снижается.

Чтобы проверить наличие аминокислот в составе веществ, стимулирующих рост дрожжей, мы подвергли гомогенат (29 мл) ступенчатому диализу в трис-НСI буфере, pH – 7,4. В течение 4 ч буфер менялся ежечасно, после чего гомогенат был оставлен в буфере до утра. Варианты диализатов условно обозначили следующим образом, час диализа: I; II; III; IV; V- диализ до утра.

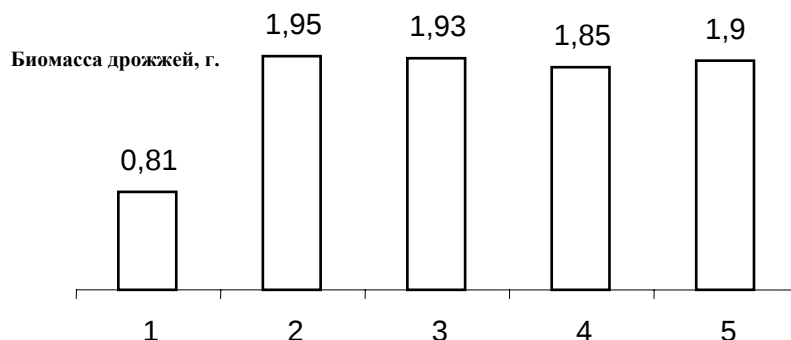


Рис. 1. Влияние гомогената проростков пшеницы, диализата и его остатка на накопление биомассы дрожжей. 1. Контроль. 2. Гомогенат. 3. Диализат. 4. Остаток диализата. 5. Прокипяченный остаток диализата.

Для сгущения гомогенаты всех вариантов были подвергнуты выпариванию в фарфоровых чашках. Сгущенные диализаты ($\approx 1,5$ мл) были перенесены в пробирки с 95%-ным этанолом (конечный объем 3 мл). По перенесении в пробирки во всех вариантах наблюдалось кристаллообразование: содержимое разделилось на 2 фазы - кристаллическую и жидкую. Последний вариант диализата (V) при сгущении осмолался, а кристаллы образовывались сразу и в большом количестве.

Нам не удалось определить аминокислотный состав диализатов, поскольку при нанесении проб жидкой фазы на хроматографическую бумагу образовались кристаллы, которые препятствовали току растворителя.

В жидкой фазе диализатов было определено содержание свободного пролина. Данные приведены в табл. 1.

Таблица 1. Содержание свободного пролина в жидкой фазе диализатов, мкг про/г ($n=6$)

Количество пролина по вариантам, мкг				
I	II	III	IV	V
0.85 ± 0.07	0.72 ± 0.06	0.55 ± 0.05	0	0

Согласно данным табл. 1, в ходе диализа содержание пролина постепенно снижается. Через 3 ч в диализатах наблюдается полное отсутствие пролина. В кристаллической фазе I, II и III вариантов, жидкая фаза которых содержала свободный пролин, газовой хроматографией обнаружили 1-пролинамин, N-метилпролин и другие соединения. N-метилпролин, называемый гириновой кислотой, является продуктом

расщепления таких алкалоидов, как гигрин, куксигрин и никотин [2]. В следующей серии экспериментов мы изучали влияние кристаллов жидких фаз и стуженных диализатов гомогенатов проростков пшеницы на накопление биомассы дрожжей (табл.2).

Таблица 2. Влияние кристаллов и жидких фаз стуженных диализатов гомогенатов проростков пшеницы на накопление биомассы дрожжей, г и содержание свободного пролина, мкг про/г (n=6)

Вариант диализата	Кристаллы		Жидкая фаза	
	биомасса	свободный пролин	биомасса	свободный пролин
контроль	0.85 ± 0.05	0.34 ± 0.04	0.85 ± 0.05	0.34 ± 0.04
I	0.95 ± 0.06	0.30 ± 0.04	1.50 ± 0.07	0.22 ± 0.03
II	1.59 ± 0.07	0.21 ± 0.03	1.63 ± 0.08	0.20 ± 0.03
III	1.39 ± 0.07	0.19 ± 0.02	1.72 ± 0.09	0.10 ± 0.01
IV	1.45 ± 0.07	0.19 ± 0.02	1.57 ± 0.07	0.19 ± 0.02
V	1.69 ± 0.08	0.10 ± 0.01	1.68 ± 0.08	0.10 ± 0.01

Согласно данным табл. 2, кристаллы всех вариантов, кроме первого, стимулировали рост дрожжей, а количество свободного пролина снижалось с увеличением биомассы дрожжей. Это подтверждает сделанный ранее вывод, что снижение количества пролина, вследствие его включения в состав белковых молекул, может служить показателем активирования роста клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бритиков Е.А., Биологическая роль пролина, М., 1975.
2. Кэппер П. Курс органической химии, Л., 1960.
3. Blumenkrantz N. Clin. Biochem. 138, 177-183, 1980.
4. Brosemer R. W., Veerabhadrapa P.S. Biophys, Acta., 110,102-111, 1965.
5. Meister A. Biochemistry of aminoacids 2 , 1965.

Поступила 05.11.2007