

М. А. Тер-Карпетян. академик АН Армянской ССР, Г. С. Арутюнян и  
С. Л. Мхитарян

### Значение неорганических и органических источников азотистого питания при аэробном размножении дрожжевых организмов

(Представлено 8. VI. 1957)

Дрожжи принадлежат к группе гетеротрофных микроорганизмов, хорошо ассимилирующих в качестве единственного источника азотистого питания как неорганические, так и органические формы азота.

Усвоение дрожжами различных форм азотистых соединений подробно изучено в условиях анаэробного метаболизма как в естественных, так и в синтетических средах, содержащих высокие концентрации углеродистых субстратов и избыток разных форм азота (аммиачной, амидной и пр.) (1-4). В этих условиях, присущих отраслям спиртового брожения, имеет место, в основном, анаэробное расщепление углеводов, а размножение дрожжевых клеток происходит медленно.

Коренным образом отличается выращивание дрожжей в аэробных условиях; здесь происходит интенсивное почкование клеток при расходовании источников углерода и азота среды вплоть до истощения. Основной целью данного процесса является биосинтез клеточной массы и белковых веществ. Значение неорганических и органических источников азота изучено весьма недостаточно. Существующие по этому вопросу мнения противоречивы. Одни авторы считают, что дрожжевые организмы из родов *Saccharomyces*, *Torulopsis* и *Candida* не нуждаются в органическом азоте как для нормального роста и размножения клеток, так и для синтеза белков (5). Другие, наоборот, утверждают, что для максимального синтеза биомассы и белков дрожжи нуждаются кроме неорганических, также, и в органических формах азота. Одицовой (6) показано, что витамин B<sub>1</sub>, прибавленный к чисто минеральной среде, активизирует рост *Torulopsis utilis*; Круковская (7) утверждает, что аспарагин, как единственный источник азота, или с добавкой к сернокислому аммонiu, обеспечивает лучший рост биомассы *Torulopsis utilis* по сравнению с последним. Ольсоном и Джонсоном (8) найдено, что для максимального роста культуры *Saccharomyces cerevisiae* (шт. у—30) и *Torulopsis utilis* (шт. 3) в минеральной среде не-

обходимо наличие 0,2 г аспарагина на каждый грамм глюкозы. Наконец, большинство аминокислот считается хорошим источником азота для многих видов дрожжей (9-10).

Настоящая работа ставит целью—изучение значения неорганических и органических источников азота для синтеза биомассы и накопления в клетках азотистых соединений у размножающихся в аэробных условиях дрожжей.

*Методика исследования.* Опыты проводились на протяжении полного цикла роста культуры при наличии в среде низких концентраций углеродистого субстрата и необходимых количеств минеральных элементов (P, K, S и др.) (11). Среда была следующего состава: глюкоза (х. г.)—1 г,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ —83 мг,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —0,1 г,  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ —10 мг,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —26,5 γ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —50 γ. Вода водопроводная до 100 мл.

К этой основной среде добавлялись разные источники азота в расчете от 0 до 660 мг азота на 100 мл. Доза 66 мг азота на 1 г глюкозы общепринятая (12) для получения максимальных выходов

биомассы,  $\left( \frac{\text{синтезированная биомасса}}{\text{усвоенная глюкоза}} = 45-50\% \right)$  применялась в контрольных вариантах.

В качестве источников азота применялись  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{NH}_2\text{COOH}$ ,  $\text{CO} \begin{cases} \text{NH}_2 \\ \text{NH}_2 \end{cases}$  и экстракт солодовых рост-

ков (3 г в 100 мл воды на кипящей водяной бане в течение 30 мин.). Экстракт содержит 60 мг азота в 100 мл, из коих около 90% органического, в том числе и —15 мг амидного азота аспарагина; кроме этого, экстракт является источником биологических активаторов (витамины и другие микронутриты).

pH всех сред доводился до  $5 \pm 0.2$  и поддерживалась в течение опытов в пределах 4—5 путем прибавления 10% растворов KOH или  $\text{H}_2\text{PO}_4$ .

Опыты производились в колбах емкостью 500 мл и в условиях энергичного взбалтывания. Для каждого варианта использовалось 50—60 мл среды. Температура в термостате поддерживалась при  $34 \pm 1$  °C. Продолжительность опытов колебалась от 16—24 часов, что обеспечивало во всех контрольных вариантах усвоение более 95% исходного сахара.

Объектом исследования служил *Torulopsis dattila*\* из музейной культуры на 2% сусло-агаре.

Перед опытом музейная культура засеивалась в жидкую синтетическую среду с 1% глюкозой на 24 часа, а затем на соответствующую каждому варианту опытную среду на 18 часов. Полученный та-

\* Штамм *Torulopsis dattila* был любезно предоставлен Ф. Г. Саруханян из сектора микробиологии АН АрмССР.

ким образом посевной материал отделялся центрифугированием и после промывания в дистиллированной воде засеивался в опытные колбы по 10–15 мг (в абс. сух. веществе).

Полученные результаты расценивались в количествах синтезированной абсолютно-сухой биомассы, синтезированного протеина (общий азот  $\times 6.25$ ) и в соотношениях

$$\frac{\text{синтезированная биомасса}}{\text{усвоенная глюкоза}} \quad \text{и} \quad \frac{\text{синтезированный протеин}}{\text{усвоенная глюкоза}}$$

1. *Влияние разных источников азота на синтез биомассы и протеина.* Опыты проводились в основной среде, содержащей на 1 г глюкозы, в качестве биоактиваторов 33 мл экстракта ростков, а в качестве основных источников азота  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , гликоколл и мочевину с таким расчетом, чтобы получилось 66 мг этого элемента.

Экспериментальные результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1

Источник азота	Усвоенная глюкоза мг	Синтезированная биомасса		Синтезированный протеин		
		в абсол. сух. вещ. мг	к усвоенной глюкозе %	в абсол. сух. био-массе %	общее количество мг	к усвоенной глюкозе %
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	490	229	46,7	51,7	118,4	24,2
$\text{KNO}_3$	500	218	43,6	49,4	107,7	21,5
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	510	218	42,7	50,6	110,3	21,6
$\text{CH}_2\text{NH}_2\text{COOH}$	520	172	33,0	48,1	82,7	15,9
$\begin{array}{l} \text{NH}_2 \\ \diagdown \\ \text{CO} \\ \diagup \\ \text{NH}_2 \end{array}$	430	197	45,8	43,5	85,7	19,7

Полученные результаты показывают, что

а) испытанный дрожжевой организм обладает высокой степенью синтеза биомассы при усвоении азота аммиака, нитратов и мочевины; при усвоении азота гликоколла синтез биомассы определенно снижается;

б) синтез протеина наиболее высокий при наличии аммонийного и нитратного азота, наиболее низкий при усвоении гликоколя.

2. *Синтез биомассы и протеина при наличии сульфата аммония в качестве единственного источника азота.*

Опыты проводились в среде, содержащей азот сернокислого аммония от 0 до 660 мг в 100 мл среды.

Экспериментальные результаты приведены в табл. 2

Таблица 2

Азот из $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в 100 мл среды	Усвоенная глюкоза мг	Синтезированная биомасса		Синтезированный протеин		
		в абсол. сух. вещ. мг	к усво- енной глюкозе %	в абсол. сух. био- массе %	общее колич. мг	к усво- енной глюкозе %
0	70	42	60,0	23,7	9,9	14,2
16,5	140	57	40,7	35,4	20,2	14,4
33,0	140	55	39,3	35,0	19,3	13,8
66,0	140	55	39,3	35,2	19,4	13,8
132	330	82	24,8	37,9	31,1	9,4
330	390	81	20,7	38,7	31,3	8,0
528	400	84	21,0	39,8	33,4	8,4
660	400	96	24,0	38,6	37,0	9,2
Контроль—66 мг N неорганический + 17 мг N из эк- стракта ростков	510	231	45,3	54,5	125,9	24,6

Полученные результаты показывают, что при ассимиляции только неорганического азота:

- а) усвоение глюкозы и синтез биомассы резко падают;
- б) общее количество синтезированного протеина, а также соот-

ношение  $\frac{\text{протеин}}{\text{усвоенная глюкоза}}$  резко падают, но концентрация протеина в биомассе в значительной степени сохраняется (71% от контрольного);

в) изменения в количестве синтезированной биомассы и протеина при нарастающей концентрации неорганического азота в среде указывают на ограничение роста культуры какими-либо факторами питания. Расщепляемая в это время глюкоза не участвует в синтезе биомассы.

3. Синтез биомассы и протеина при наличии экстракта солодовых ростков в качестве источника органических форм азота.

Опыты проводились в среде, содержащей от 0 до 200 мг в 100 мл органических форм азота из экстракта солодовых ростков. Экспериментальные результаты приведены в табл. 3.

Полученные результаты показывают, что при ассимиляции только органического азота:

а) количество синтезированной биомассы нарастает пропорционально количеству азота в среде до определенного предела (75% контроля), после чего оно остается постоянным;

б) концентрация протеина в биомассе резко падает, достигая около 50% от контроля, а количество синтезированного протеина составляет 9,1% от усвоенной глюкозы, т. е. 37% величины контроля

Таблица 3

Азот экстракта ростков в 100 мл среды мг	Усвоенная глюкоза, мг	Синтезированная биомасса		Синтезированный протеин		
		в абсол. сух. вещ., мг.	к усво- енной глюкозе %/о	в абсол. сухой биомассе %/о	общее количе- ство, мг	к усво- енной глюкозе %/о
0	70	42	60,0	23,7	9,9	14,2
5	275	73	26,5	16,7	12,2	4,4
10	350	108	30,8	17,9	19,3	5,5
20	365	127	34,7	18,2	23,1	6,3
60	445	161	36,1	23,2	37,3	8,3
100	480	173	36,0	24,4	42,2	8,7
100	600	217	36,1	25,2	54,7	9,1
100	670	186	27,7	28,7	53,4	8,0
Контроль—66 мг N неорганический + 17 мг N из экс- тракта ростков	510	231	45,3	54,5	125,9	24,6

4. Изыскание наименьшего количества органического азота как биоактиватора для максимального синтеза биомассы и протеина. Опыты проводились в среде, содержащей в 100 мл как основной источник азота 66 мг этого элемента из сернокислого аммония, а как биоактиватор—нарастающие количества органического азота из экстракта солодовых ростков.

Экспериментальные результаты приведены в табл. 4.

Таблица 4

Добавки органи- ческого азота к среде, содержащей в 100 мл 66 мг азота из (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , мг	Усвоенная глюкоза, мг	Синтезированная биомасса		Синтезированный протеин		
		в абсол. сух. вещ., мг	к усво- енной глюкозе %/о	в абсол. сух. био- массе %/о	общее колич. мг	к усво- енной глюкозе %/о
0	70	42	60,0	23,7	9,9	14,2
2	444	144	32,5	42,8	61,6	13,8
5	435	209	48,0	—	—	—
15	448	215	48,0	54,5	117,2	26,1
60	426	213	50,0	50,0	106,5	25,0

Полученные результаты показывают, что в условиях испытываемой среды соотношение  $\frac{\text{органический N}}{\text{неорганический N}} = \frac{15}{66}$  и  $\frac{\text{аспарагиновый N}}{\text{неорганический N}} = \frac{4}{66}$  вполне достаточно для максимального синтеза биомассы и протеина.

Вышеприведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Исследуемый дрожжевой организм *Torulopsis dattila* при наличии достаточного количества биоактиваторов из экстракта солодовых ростков хорошо усваивает в качестве основного источника азота  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , гликоколл и мочевины.

Максимальный рост биомассы и синтез протеина происходят при ассимиляции неорганических форм азота, а гликоколл и мочевина синтезируют меньше или биомассу, или протеина.

2. При ассимиляции аммония в качестве единственного источника азота, способность дрожжевого организма к синтезу протеина сохраняется (72% от нормального), но количественный рост культуры резко падает (до 41% контроля).

3. При ассимиляции органических форм азота из экстракта солодовых ростков способность дрожжевого организма к синтезу протеина резко падает (до 41% контроля), но количественный рост культуры сохраняется (до 73% контроля).

4. На примере *Torulopsis dattila* показано специфическое и диссоциированное действие неорганических и органических форм азота на количественные и качественные аспекты синтеза биомассы и протеина при аэробном размножении клеток.

5. Полученные результаты устанавливают, что для получения максимального количества биомассы и протеина дрожжевые организмы нуждаются в неорганической и органической формах азота в определенном соотношении.

6. Полученные данные показывают определенное расхождение в потребностях дрожжей в различных формах азота при анаэробных и аэробных условиях.

В отличие от предыдущих исследователей (<sup>10</sup>) нами установлен порядок по убывающей питательной ценности источников азота:

а) для синтеза биомассы:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{мочевина} > \text{KNO}_3 > \text{NH}_4\text{NO}_3 > \text{гликоколл}$ ;

б) для синтеза протеина:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{NH}_4\text{NO}_3 > \text{KNO}_3 > \text{гликоколл} > \text{мочевина}$ .

Армянский научно-исследовательский  
институт животноводства и ветеринарии  
МСХ Армянской ССР

**Ֆզոտային սնման անօրգանական և օրգանական աղբյուրների  
նշանակությունը շաքարասնկային օրգանիզմների անբուր  
բազմացման ընթացքում**

Շաքարասնկերը պատկանում են հետերոտրոֆ օրգանիզմների այն խմբին, որոնք լավ յուրացնում են անօրգանական և օրգանական ազոտային միացությունները, երբ նրանք արվում են որպես միակ ազոտի աղբյուր: Շաքարասնկերի կողմից ազոտային միացությունների յուրացումը լավ է ուսումնասիրված անանիոս նյութափոխանակության պայմաններում, բայց միանգամայն անբավարար՝ տերոսիոգի ընթացքում: Ներկա աշխատությունում մեր կողմից հետազոտված է անօրգանական և օրգանական ազոտային միացությունների նշանակությունը շաքարասնկերի անբուր բազմացման և նրանց բջիջներում սպիտակուցային նյութերի բիոսինթեզի պրոցեսում: Որպես փորձնական օրգանիզմ ընտրված է *T. dattila* շաքարասնկային միկրոօրգանիզմը, իսկ փորձերը զրկված են նախապես մեր կողմից նկարագրված պայմաններում: Հետազոտությունների արդյունքները, որոնք բերված են 1, 2, 3 և 4 աղյուսակներում, մեզ բերում են հետևյալ կարծիքներին՝

1. Հետազոտված *T. dattila* միկրոօրգանիզմը բիոսինթեզի արդյունքների բախանալի առկայության գեպում լավ է յուրացնում, որպես ազոտի աղբյուր,  $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$  իոնները, ինչպես նաև գլիկոկոլը և միզանյութը:

Ինչպես բիոմասայի, նույնպես և սպիտակուցային նյութերի սինթեզի ավելի ինտենսիվ է կատարվում ազոտի անօրգանական ձևերի յուրացման ընթացքում, իսկ գլիկոկոլի առկայությամբ այն զգալիորեն նվազում է:

2. Ամոնիումի աղերի յուրացման ընթացքում շաքարասնկային օրգանիզմի սպիտակուցային նյութերը սինթեզելու ունակությունը պահպանվում է, բայց կուլտուրայի բանակական աճն զգալիորեն նվազում է:

3. Ազոտի օրգանական ձևերի յուրացման ժամանակ շաքարասնկային օրգանիզմի սպիտակուց սինթեզելու ունակությունը զգալիորեն նվազում է, բայց բջիջների քանակական աճի ինտենսիվությունը պահպանվում է:

4. Յուրաց է արված ազոտի անօրգանական և օրգանական աղբյուրների զիսոցացված ազդեցությունը բջիջների քանակական աճի և սպիտակուցային նյութերի սինթեզի էրեոլոգիայի վրա:

5. Ստացված արդյունքները հաստատում են, որ բարձրարանակ բիոմասայի և սպիտակուցի սինթեզի համար շաքարասնկային օրգանիզմները պահանջում են միաժամանակ ազոտի օրգանական և անօրգանական ձևերը որոշ հարաբերությամբ:

6. Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ անբուր և անանիոս պայմաններում շաքարասնկերի պահանջը դեպի ազոտային միացություններն զգալիորեն փոխվում են:

Ի տարբերություն նախորդ հետազոտությունների, մեր կողմից ստացված արդյունքները հաստատել են ազոտային միացությունների սննդային արժեքի հետևյալ կարգը՝

Բիոմասայի սինթեզի համար  $(NH_4)_2SO_4 > միզանյութ > KNO_3 > NH_4NO_3 > գլիկոկոլ$ , իսկ սպիտակուցային նյութերի սինթեզի համար  $(NH_4)_2SO_4 > NH_4NO_3 > KNO_3 > գլիկոկոլ > միզանյութ$ :

**Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն**

<sup>1</sup> Г. Прингсгейм, Biochem. Z. 13, 2, 3, 121, 1907. <sup>2</sup> Р. Торн, Wöchenschr. i. Bra-mer. N 1, 3, 1934. <sup>3</sup> С. А. Коновалов, Микробиол., 18, 3, 250, 1949. <sup>4</sup> Э. С. Бартон-Райт, Bioch & Biophys. Acta 3, 670, 1949. <sup>5</sup> Г. Финк и Я. Кребс, Biochem. L. 299, 1, 1938. <sup>6</sup> Е. Н. Одинцова, Микробиол. 9, 253, 1940. <sup>7</sup> Г. Е. Круковская, Микробиол. 9, 321, 1941. <sup>8</sup> Б. Ольсон и М. Джоксон, J. Bact. 57, 235, 1949. <sup>9</sup> А. Шульц и С. Помпер, Arch. Biochem. 19, 184, 1948. <sup>10</sup> Р. Торн, J. Just. Brew. 52, 188, 1946. <sup>11</sup> М. А. Тер-Каранетян, ДАН АрмССР, т. XXII, 59, 1956. <sup>12</sup> Е. А. Плевако и Р. В. Гивартовски, Технология дрожжевого производства, М. 1949.