

SOME PECULIARITIES OF PARTIALLY PURIFIED YEAST ARGINASE

S. V. CHUBARIAN, L. R. TUMANIAN, R. O. TOTCHIAN

The study of peculiarities of the partially purified arginase has shown that the activity of the enzyme is the highest in pH 9.6.

The influence of bivalent metals ions on the arginase activity is different. K_m of the investigated enzyme is equal to $5.6 \cdot 10^{-3}$. K_i of ornithine is $1.3 \cdot 10^{-3}$ and that of lysin — $1.4 \cdot 10^{-3}$. Proline and γ -aminobutyric acid have no influence on the activity. The molecular weight of the enzyme is 151400.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асджан Г. А., Давтян М. А. Биолог. ж. Армения, 29, 8, 1976.
2. Габриелян Г. А. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1980.
3. Геворкян Д. М., Кочарян М. Г. Биолог. ж. Армения, 25, 29, 1972.
4. Давтян М. А., Чубарян С. В., Гуманян Л. Р. Биолог. ж. Армения, 22, 9, 1979.
5. Заробян Т. Я., Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армения, 29, 6, 1976.
6. Чубарян С. В., Тер-Кирапетян М. А., Гуманян Л. Р. Биолог. ж. Армения, 24, 8, 1971.
7. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 135, 121, 1941, 1941.
8. Chan P. Y., Cossins E. A. Plant Cell Physiol., 14, 641, 1973.
9. Hunter H., Darns C. J. Biol. Chem., 157, 427, 1945.
10. Issaly M., Issaly A. S. Eur. J. Biochem., 49, 485, 1974.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. Y. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
12. Mora J., Turrab R., Bojatis L. Biochem. Biophys. Acta, 118, 2, 6, 1966.
13. Maszynska G., Severina L. O., Lobyeva L. W. Acta Biochim. Polon., 19, 109, 1972.
14. Nakamura N., Fujita M., Kimura K. Agr. Biol. Chem., 37, 2827, 1973.
15. Penninckx M., Simon J. P., Wiame J. M. Eur. J. Biochem., 49, 429, 1974.
16. Ramaley R. P., Hernlohr R. W. J. Biol. Chem., 241, 620, 1966.
17. Ratner S., Pappas A. Arch. Biochem. Biophys., 9, 240, 1960.
18. Reyero G., Dörner F. Eur. J. Biochem., 35, 137, 1975.
19. Simon J. P., Stéphan V. Biochimie, 58, 1419, 1976.

«Биолог. ж. Армения», г. XXXVI, № 3, 1983

УДК 663.252.41.636.085.57

ПОЛУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСА АМИНОКИСЛОТ ИЗ ДРОЖЖЕВОЙ ГУЩИ ВИНОВАРЕНИЯ

Л. С. ВАРТАНЯН, Б. П. АВАКЯН

Для получения комплекса аминокислот из дрожжевой гущи виноделия осуществлен кислотный гидролиз. Установлено, что максимальный выход аминокислот получается при 48-часовом гидролизе, при котором из 200 г дрожжевой гущи получается до 20% аминокислот.

Ключевые слова: дрожжи, аминокислоты, виноделие

Дрожжевая гуща, являющаяся одним из отходов виноделия, содержит большое количество белка (30—75% сухой массы), питательная ценность которых определяется содержащимися в них аминокислотами.

Установлено, что наиболее эффективно корм используется животными, если в нем кроме определенных веществ имеется и соответствующее количество необходимых аминокислот, отсутствие или недостаток которых может вызвать различные нарушения жизнедеятельности организма и снизить их продуктивность [4].

Выделение аминокислот из белков и их получение представляет сложную задачу, которой занимались многие исследователи. Современные методы количественного анализа аминокислот основаны на ионообменной хроматографии, с использованием колонок, заполненных сульфополистирольными катионитами в нативной форме [2, 3, 5—12]. В наших исследованиях, кроме данных приведенных выше авторов, был использован опыт Института микробиологии АН АрмССР и Ереванского филиала ВНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов.

Материал и методика. Для опытов было взято по 200 г. дрожжевой гущи, из которой удалялись спирт и соли винной кислоты: спирт—промыванием водой (соотношение 1:2), а для удаления солей винной кислоты дрожжевую гущу нагревали до 40—45°, порциями добавляли соду (30%-ный раствор из расчета 6—7 кг соды на 1 г/л кислотности в 100 дал дрожжей) и тщательно перемешивали до окончания нейтрализации. Затем дрожжевую гущу несколько раз промывали дистиллированной водой [1], фильтровали, высушивали в термостате (35—40°) и измельчали до порошкообразного состояния.

Гидролиз дрожжевой гущи осуществляли в специальной стеклянной колбе (с отверстиями для обратного холодильника и термометра) в присутствии 6 н раствора соляной кислоты, с добавлением равного ей по массе количества двухлористого олова, при температуре 105—107° в течение 6, 12, 24, 48, 72 ч. Соотношение гущи с кислотой—1:3, 1:5, 1:10. Для поддержания высокой температуры при гидролизе использовался кварцевый песок.

После гидролиза полученную массу центрифугировали (3000 об./мин) для отделения от темного осадка. Фильтрат выпаривали на ротормном испарителе при 40° и полученную вязкую массу растворяли в минимальном количестве цитратного буфера (рН 2,2), содержащего 2% этиленгликоля. Затем для освобождения от ионов олова через этот раствор пропускали сероводород (получаемый в аппарате Киппа) в течение 5—8 мин. При этом образуется осадок сернистого олова, который адсорбирует пигментные вещества. После отделения раствора от осадка осуществляли процесс ионообменной хроматографии [5]. Для этой цели использовали стеклянные колонки с рабочей высотой 1 м, внутренним диаметром 4,2 см, имеющие в нижней части стеклянные пористые фильтры (для опоры сорбента) с капиллярной трубкой внизу, регулирующей ток жидкости. Температура в колонке поддерживалась в пределах 50° и измерялась термометром, установленным в колонке. Колонки заполняли смолой КУ-2-8 (диаметр зерен 0,3—1,0 мм), промывали водой, затем 0,2 н гидроокисью натрия, снова водой (до нейтральной реакции) и в конце—рабочим буфером (рН 3,25) [7].

Ионообменные процессы осуществляли на двух колонках с целью увеличения рабочей емкости. Образец подавался в колонки через питающее устройство со скоростью 60 мл/час. Наличие остатка аминокислот проверяли 0,25%-ным раствором нингидрина в ацетоне. Аминокислоты элюировали 8%-ным раствором аммиака. Элюат, вытекающий из колонки, собирали порциями и выпаривали на ротормном испарителе при 40° для отгонки аммиака, при этом выпадал осадок аминокислот.

После отделения осадка аминокислот от раствора, глицеинокислоты, его амбулировали при температуре не выше 40°. Раствор выпаривали. Аминокислоты, полученные при выпаривании раствора, имели желтоватый цвет, от которого освобождались путем растворения массы в буферном растворе (рН 2,2) и обработки активированным углем в течение 1 часа при температуре 35—40°. Затем отделили уголь от жидкости, промыли его бензином 3—4 раза и полученные растворы выпаривали.

Составы полученных комплексов аминокислот подвергали анализу на шведском аминокислотном анализаторе марки LKB-4101.

Результаты и обсуждение. Опыты показали, что при 12-часовом кислотном гидролизе (табл.) сумма аминокислот в 10 мг комплекса

Таблица
Выход отдельных аминокислот в комплексе, полученных при кислотном гидролизе (мг. в 10 мг комплекса аминокислот)

Аминокислоты	Время гидролиза, ч		
	12	24	48
Лизин	0,100	0,336	1,440
Гистидин	0,161	0,180	0,350
Аргинин	0,069	0,120	1,360
Аспарагиновая кислота	0,001	0,370	0,330
Треонин	0,010	0,170	0,310
Серин	0,006	0,160	0,380
Глутаминовая кислота	нет	0,520	0,590
Пролин	нет	0,220	0,300
Глицин	0,004	0,180	0,530
Аланин	0,018	0,312	0,610
Цистин	0,026	0,030	0,140
Валин	0,035	0,410	0,530
Метионин	0,001	0,070	0,170
Изолейцин	0,031	0,680	0,340
Лейцин	0,022	1,290	1,010
Тирозин	0,020	0,080	0,110
Фенилаланин	0,013	0,210	1,260
Сумма	0,517	5,338	9,700

аминокислот составляла 0,517 мг, или 5,17%. Из них преобладают гистидин—0,161, лизин—0,100 и аргинин—0,069 мг. Глутаминовая кислота и пролин не обнаружены, аспарагиновая кислота, метионин, глицин содержатся в малом количестве. Очень незначительно также количество оксинаминокислот—серина и треонина. Цистин составлял 0,026 мг. Выход аминокислот при 12-часовом гидролизе составлял 6%.

При 24-часовом гидролизе по сравнению с 12-часовым наблюдается больший выход аминокислот—10%. Сумма аминокислот в 10 мг комплекса аминокислот составляла 5,338 мг, или 53,38%. В комплексе больше всего содержится лейцин, изолейцин и глутаминовой ки-

слоты. Количество лизина, аспарагиновой кислоты, метионина и др. аминокислот при 24-часовом гидролизе также увеличивается соответственно до 0,336, 0,370, 0,070 мг и т. д.

При 48-часовом гидролизе выход аминокислот составлял от 17 до 20%. Сумма их составляла 9,760 мг в 10 мг комплекса аминокислот, или 97,60%. При этом, как и при 24-часовом гидролизе, в комплексе содержатся все незаменимые аминокислоты, однако их количество значительно возрастает, в частности лизина, метионина, фенилаланина. Только количество лейцина, изолейцина и аспарагиновой кислоты уменьшается. Доминируют лизин, аргинин и фенилаланин. Меньше всего содержится тирозина и цистина. При 48-часовом гидролизе значительно возрастает количество и других аминокислот.

Опыты показали, что при 6- и 72-часовом гидролизе получается незначительный выход аминокислот, что обуславливается в первом случае—неполным гидролизом, а во втором—их разрушение.

Таким образом, при кислотном гидролизе дрожжевой гущи в течение 6, 12, 24, 48, 72 часов наибольший выход аминокислот (20% от общего количества дрожжевой гущи) получается при 48-часовом гидролизе.

НИИ виноградарства, виноделия и плодоводства
МСХ Армянской ССР

Поступило 15.IX 1982 г.

ԱՄԻՆԱԹՎԱՅԻՆ ԿՈՄՊԼԵՔՍԻ ՄՏԱՑՈՒՄԸ ԳԻՆԵԳՈՐԾՈՒԹՅԱՆ ՇԱՔԱՐԱՍՆԿԱՅԻՆ ԴՈՒՐԴԻՑ

Լ. Ս. ՎԱՐԳԱՆՅԱՆ, Բ. Պ. ԱՎԱԳՅԱՆ

Շաքարասնկային դուրդը գինեգործության երկրորդական պրոդուկտ է, որի հիմնական մասը գինու շաքարասնկերն են։ Շաքարասնկերի չոր քաշի 30—75%-ը սպիտակուցներ են, որոնց սննդային արժեքը պայմանավորված է նրանց ամինաթթվային կազմով։

Հաստատված է, որ կեռի լիառժեքությունը մեծանում է, երբ նրա մեջ բացի որոշակի նյութերից առկա են նաև համապատասխան քանակով անհրաժեշտ ամինաթթուներ։ Դրանց բացակայությունը կամ ցածր քանակը առաջ են բերում օրդանիզմի կենսագործունեության խանգարումներ։ Այդ առումով՝ մեր ուսումնասիրությունների նպատակն է եղել շաքարասնկային դուրդից ստանալ ամինաթթուների կոմպլեքս, հետազոտում այն օգտագործել որպես գյուղատնտեսական կենդանիների կերաբաժնի հավելում։

Շաքարասնկային դուրդից սպիրտը և գինեթթվի աղերը մաքրելուց հետո՝ 6-ից 72 ժամ այն ենթարկվել է աղաթթվային հիդրոլիզի։ Իոնափոխարկիչ պրոցեսներից հետո պարզվել է, որ ամինաթթուների առավելագույն քանակը ստացվում է 48 ժամ հիդրոլիզի դեպքում։ Ստացված կոմպլեքսի մաքրությունը 95—97 % է։

A COMPLEX OF AMINOACIDS OBTAINED FROM YEAST SEDIMENT OF WINE-MAKING

L. S. VARDANIAN, B. P. AVAKIAN

The aim of acid hydrolysis of yeast sediment has been the obtaining of a complex of free aminoacids. The maximum quantity of aminoacids (25%) is found in case of 48 hours of acid hydrolysis. The purity of the received complex is 95—97%.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агабальянц Г. Г. Химико-технологический контроль виноделия, 612, М., 1964.
2. Бельковский Б. Г. Физико-химические методы изучения анализа и фракционирования биополимеров, 124—143, М.—Л., 1966.
3. Блюк Р., Боллинг Д. Аминокислотный состав белков и пищевых продуктов, М., 1952.
4. Дамилленко Н. А. Аминокислотное питание свиней и птиц, М., 1963.
5. Козаренко Т. Д., Пешкова А. А. Информ. бюлл., вып. 4, 107—108, Иркутск, 1969.
6. Кравченко Н. А., Клеопина Г. В. Руководство по хроматографическому анализу аминокислот на колонках, 214, М., 1964.
7. Нидервайзер А., Патаки Г. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков, М., 1974.
8. Салдадзе К. М. Ионнообменные смолы, 153, М., 1959.
9. Moore S., Stein W. H. J. Biol. Chem., 176, 367—374, 1948.
10. Moore S., Stein W. H. J. Biol. Chem., 192, 663—671, 1951.
11. Moore S., Stein W. H. J. Biol. Chem., 211, 833—842, 1954.
12. Morihiro E. CEEB, Chem. Econ. and Eng. Rev., 7, 9, 28—31, 1970.

«Биол. ж. Армения», т. XXXVI, № 3, 1983

УДК 634.8.631.5:581.19(479.25)

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕВОДОВ И АЗОТИСТЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ФОРМИРОВАНИЯ И НАГРУЗКИ ВИНОГРАДНОГО КУСТА

Г. М. СУКНАСЯН, Ж. Г. КАРАПЕТЯН, А. А. МАРГАРЯН

Изучено влияние различных способов формирования и норм нагрузки на динамику содержания углеводов и азотистых соединений в побегах и листьях винограда в течение вегетации. Показано, что изменения в содержании углеводов и азотистых соединений сопряжены со способами формирования и нормами нагрузки лозы глазками.

Ключевые слова: виноградная лоза, углеводы, азотистые соединения.

Исследования по эффективности того или иного способа формирования виноградных кустов в связи с изменением норм нагрузки до последнего времени носили агротехнический характер [6]. Однако для правильного обоснования применяемых способов формирования