

Из кафедры Ветсанэкспертизы

*Зав. кафедрой заслуженный деятель науки БССР,
профессор доктор Х. С. ГОРЕГЛЯД*

ПЕПТОН ИЗ СЫЧУГОВ ОВЕЦ

ПРОФ. Х. С. ГОРЕГЛЯД

Пептон является продуктом начального гидролиза белка, в котором содержатся альбумозы (в небольшом количестве), пептон, полипептиды и аминокислоты. В продажном пищевом и лабораторном пептоне содержатся преимущественно пептон и полипептиды; аминокислот в нем немного (около 2,5—3,0 проц.). Пептон применяется для пищевых целей, но больше всего для микробиологических работ, т. е. из него приготавливаются среды для выращивания различных микробов. Значение пептона для микробиологических работ весьма большое. Дело в том, что многие микроорганизмы, в особенности патогенные анаэробы, не растут на мясо-бульонных средах без пептона, так как они для своего роста нуждаются в пептонизированном белковом субстрате.

В нашей стране пептон вырабатывается некоторыми мясокомбинатами. Производство пептона ведется двумя способами: химическим и ферментативным.

В химическом производстве пептона требуется фосфорная кислота в 10 проц. концентрации (можно пользоваться также серной и соляной кислотой) для гидролиза различных животных тканей. Для нейтрализации при кислотном способе производства применяется 10 проц. известковое молоко. Гидролиз животной ткани до получения пептона можно производить и крепкими щелочами (5—10 проц. раствора NaOH) с последующим подкислением массы до требуемой реакции среды.

Ферментативных способов получения пептона имеется несколько. Пептон по Мартену: 1000,0 хорошо вымытых, очищенных и измельченных свиных желудков помещается в стеклянный сосуд и смешивается с 4—5 литрами водопроводной воды, подкисляемой 0,5 проц. HCl; по Кронтовскому и Бронштейну—свиных желудков 400,0, телятины или говядины измельченной 1000,0 смешивается в стеклянном сосуде и добавляется 10 литров воды, подкисленной 1 проц. HCl. Пептон Хотингера готовится из измельченного говяжьего мяса—2000,0, измельченной свежей панкреатической железы 500,0, водопроводной воды, подкисленной 1,5 проц. соды. По всем трём способам составленная смесь ставится на 24—36 часов в термостат и подвергается гидролизу, после чего фильтруется, кипятится 20—30 минут, снова фильтруется, разливается в сосуды, осаждается при температуре 125—130°C в течение 30 минут, еще фильтруется и затем стерилизуется. Приготовленный таким образом пептон добавляется к мясной воде или мясному бульону в соответствующих пропорциях. В фабричных условиях для производства ферментативного пептона используются свежие свиные желудки и говяжья сычуги, закладываемые в равных количествах и залитые водопроводной водой, подкисленной 2 проц. HCl.

Для выработки пептона химическим способом требуются кислоты, щелочи и эмалированная установка. Кислоты и щелочи дорого стоят; кроме того, с ними небезопасно работать и требуется внимательно следить за тем, чтобы во время остановить процесс гидролиза, не допуская максимального образования аминокислот и дезаминирования смеси. При ферментативном же способе производства пептона устраняется опасность и вредность производства и глубокий гидролиз ткани, так как последний останавливается на определенной стадии пептонизации. Необходимо только следить за тем, чтобы не наступило процесса гниения. Но по существующим прописям ферментативного способа производства пептона требуются свиные желудки, весьма дефицитные в настоящее время, и хорошее товарное мясо, являющееся более необходимым для пищевых целей. Использование же поджелудочной железы (панкреос), как рекомендует Хотингер—с производственной точки зрения невыгодно, потому что это сырье является весьма ценным и единственным для выработки инсулина—препарата, имеющего большое значение в медицинской лечебной практике. Таким образом, взвесив положительные и отрицательные стороны существующих способов производства пептона, нужно подумать об отыскании более дешевого и доступного сырья для выработки препарата, необходимого для микробиологической работы. В последнее время пептон вырабатывается в небольшом количестве и многие лаборатории ощущают в нем большую нужду. Все это побудило нас заняться вопросом отыскания более дешевого и доступного сырья и способа выработки пептона для микробиологических целей.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для постановки опытов получения пептона нами использованы, в условиях мясокомбината, различные наиболее доступные и дешевые виды сырья: сычуги овец, сычуги крупного рогатого скота—вареная кровь и вареный фибрин вместе с сычугами. Всего поставлено было 6 опытов.

Опыт № 1. Освобожденные от содержимого и вымытые сычуги овец измельчали на волчке и 4200,0 гр помещали в стеклянную бутылку, добавляли водопроводную воду, подкисленную 1 проц HCl—4200 мл. Все смешивалось встряхиванием и помещалось в термостат на 48—72—96 часов при температуре 37—39° и в течение суток 3—4 раза встряхивалось. Через 2—4 суток отфильтровывалось по 1 литру смеси. Фильтрат кипятили 15—20 минут и пропускали через фильтровальное сукно, затем нагревали в автоклаве при температуре 130°С для осаждения белка. Оказалось, что только 48-ми часовой ферментации пептон был пригоден для микробиологической работы. Пептон же, полученный при 72—96 часовой ферментации, имел неприятный гнилостный запах. На жидком пептоне 48-ми часовой ферментации, смешанном с мясным бульоном 1:4 (1 часть пептона и 4 части бульона) и добавленном к среде Тароцци, делали посевы из консервов „мясо тушеное“—получили выраженный рост бактерий группы аэробов (*B. subtilis*, *B. mesentericus*) и анаэробов (*B. sporogenes*). Одновременно с посевами на опытных питательных средах делались посевы на МПБ и среде Тароцци, приготовленных по существующим прописям. На этих средах получили рост тех же микробов, что и на опытных средах. Стерилизованный жидкий пептон из сычуг овец сохранялся в течение месяца без изменений цвета и прозрачности.

Опыт № 2. Сычугов говяжьих очищенных и измельченных на волчке 5 кгр, воды водопроводной 5 л, соляной кислоты 80 мл помещали в стеклянную бутылку, смешивали и тщательно встряхивали. Помещали в термостат на 4 суток и выдерживали при температуре 37°C. На 4-й день смесь отфильтровывали, причем в мязге оказалось много непереваренных кусочков сычуга. Фильтрат кипятили 30 минут, фильтровали через сукно и осаждали в автоклаве при Т. 130°C—3° минут. Пептон имел слегка кисловатый запах. Осажденный и отфильтрованный прозрачный пептон смешивали 1 : 1 с мясным бульоном. Бульон с этим пептоном в незаeseянном виде выдерживали 4 дня при температуре 37—38°C. В нем появлялась муть при полном отсутствии микробов. Агар-агар 3 проц., приготовленный на таком мясо-пептон-бульоне, рН = 6,8—7,0, после стерилизации не застывал и спустя сутки становился мутным. Объясняется это тем, что в таком жидком пептоне содержалась термоустойчивая фракция пепсина. Таким образом сычуги взрослого крупного скота непригодны для приготовления ферментативного жидкого пептона.

Опыты №№ 3 и 4. Сычугов свежих овечьих, очищенных и измельченных на волчке по 4 кгр клали в стеклянную бутылку и заливали 4 литрами водопроводной воды, подкисленной 1 проц. HCl, уд. в. 1.19. Содержимое бутылки многократно встряхивали до равномерного смешивания. Выдерживали при температуре 37°C 60 часов. На третьи сутки смесь разделилась: в нижнем слое, 2-3 объема, отстоялась грязно-серая жидкость; в верхнем слое, 1/3 объема, всплыли размягченные частицы непереваренной ткани стенок сычугов (мязга). Смесь имела неприятный, специфический запах. Отстоявшаяся жидкость, профильтрованная через суконный фильтр, кипятилась 30 минут и снова фильтровалась. Фильтрат осаждали в автоклаве при температуре 130°C 30 минут. После осаждения снова фильтровали. Фильтрат выпаривали до клеуподобной консистенции бурого цвета. Затем его растворяли в 3-х частях дистиллированной воды, разливали в противни и высушивали в термостате. Таким образом был получен пептон легко растворимый в воде. Им пользовались для приготовления питательных сред МПб и МПА.

Опыт № 5. Сычугов овечьих, измельченных на волчке,—2 кг, крови вареной, измельченной на волчке—2 кг, воды водопроводной 4 литра и соляной кислоты 40 гр смешивали в стеклянной бутылке и встряхивали. Ферментация длилась 3 дня (сутки стояла при комнатной температуре ввиду отсутствия электроэнергии). К концу третьих суток смесь разделилась на два слоя: в нижнем слое 3/4 объема—жидкость мутного, темно-коричневого цвета, в верхнем слое 1/4 объема—всплыли размягченные, не до конца гидролизированные частицы измельченных сычугов и крови. На четвертые сутки смесь отфильтровали через марлю, сложенную вдвое. Фильтрат кипятили 30 минут, фильтровали через сукно, затем осаждали в автоклаве при температуре 130 С 30 минут. После осаждения охлаждали, фильтровали через вату. Полученный фильтрат выпаривали в эмалированной чашке до 1/8 первоначального объема и высушивали на противнях в термостате.

Опыт № 6. Сычугов свежих очищенных, пзмельченных на волчке —2 кг, фибрина вареного, измельченного—2 кг, воды водопроводной—4 литра, соляной кислоты—40 мл, уд. в. 1,17. Ферментация смеси и последующая обработка фильтратов проводилась как и в опыте № 5.

Высушиванием пептона (опыты №№ 5 и 6) получены комочки серо-желтоватого цвета, горьковатого вкуса, со специфическим запахом

мясного экстракта. Раствор его в дистиллированной воде 1:100 мутноватый, с незначительным осадком, интенсивно-соломенного цвета; профильтрованный—прозрачный. Проба раствора пептона 1:20 на индол по Зальковскому и щавелево-кислой индикаторной бумажкой—отрицательная; проба на белок (0,5 мл пептона раствор 1:100, 5 капель азотной кислоты х (ч)—отрицательная.) Пробы на триптофан и цистеиновые соединения не ставились.

На полученном пептоне готовили МПБ, МПА, МПБ с глюкозой и среде Кит-Тароцци—рН=7,0—7,4. На этих средах делали посева из консервов „мясо тушеное“ и „печеночный паштет“. Всего проведено было 34 посева, причем на МПБ и МПБ с 0,5 проц. глюкозы выросли: *V. subtilis* 4 раза, *V. mesentericus* 3 раза и *V. megaterium* 1 раз; на среде Тароцци—*V. sporogenes* 3 раза. Остальные 23 посева оказались стерильными. Одновременно из тех же консервов делали высевы на МПБ, МПБ с 0,5 проц. глюкозы и среде Тароцци, приготовленных по существующим прописям с фабричным пептоном. При этом оказалось, что на средах, принятых на производстве для микробиологических исследований консервов, выросли *V. mesentericus* 2 раза, *V. megaterium* 2 раза, *V. subtilis* 4 раза и *V. sporogenes* 3 раза. Следовательно, нет никакой разницы с результатами роста на опытных средах. Одновременно из тех же консервов делали 34 высевы на мясной воде, мясной воде с 0,5 проц. глюкозы и среде Тароцци без пептона, но роста на этих средах не получили.

Выход сычужно-фибрино-кровяного пептона—8—9 проц. от взятого сырья при 15 проц. влажности препарата.

ВЫВОД

Для получения ферментативного пептона из сычугов овец считаем наиболее приемлемым добавление к сычугам 50 проц. вареной крови или фибрина; к смеси сычугов и фибрина (крови) добавляется равное количество (1:1) воды, подкисленной 1 проц. HCl. Из такой смеси (сычуги овец, кровь или фибрин) весьма дешевого животного сырья, получается пептон, вполне пригодный для микробиологической работы.