ANTONI KOZŁOWSKI

(wpłynęło 18.7. 1934).

POŻYWKI DLA BAKTERJI TWORZĄCYCH BARWNIKI FENAZYNOWE.

(Culture media for the bacteria producing phenazine
pigments).

Niektóre gatunki *Pseudomonas*, wyizolowane z gleby, wytwarzają bardzo łatwo w odpowiednich pożywkach związki fenazynowe, które pod wpływem tlenu powietrza barwią się żółto, pomarańczowo, czerwono lub niebiesko. Dla wytworzenia owych substancji niezbędne jest, prócz soli mineralnych, obecność aminokwasów wzgl. ich pochodnych (peptonów, białek) lub też soli amonowych pewnych kwasów tłuszczowych oraz nadmiaru cukru (glukozy). Azotany przyspieszają utlenianie związków fenazynowych w kulturze owych bakterji, przyczem same zostają zredukowane na azotyny.

Mechanizm zamykania łańcucha kwasów alifatycznych w pierścienie aromatyczne fenazyny nie jest jeszcze wyjaśniony. Szybkość tworzenia barwników już w ciągu pierwszych 24 godzin wygrzewania kultur w temperaturze pokojowej, około 20° C, pozwala przypuszczać, że biorą tu udział enzymy wydzielane z bakterji w środowisko; proces ten, jak i inne przemiany biologiczne, jest skomplikowany i obejmuje reakcje odczepiania grup karboksylowych, redukcji, kondensacji i utleniania. Ostateczny rezultat owych przemian da się przedstawić w przypadku kwasu winowego następującym schematem:

Z pośród rozmaitych odmian następujące pożywki są zadawalniające:

Nr. 1) Na barwniki cytrynowo-żółte (pochodne-fenazyny):

1 litr wody zawiera (w gm):

azotan potasu	0,5
fosforan dwupotasowy	1,0
siarczan magnezu	0,2
chlorek wapnia	0,1
chlorek sodu	0,1
chlorek żelaza	0,005
siarczan manganu	0,005
glyceryna	5
dekstroza	5
pepton	2
cytrynian potasu	2
kwas bursztynowy	4
kwas winowy	4

} zobojętnione amoniakiem.

Nr. 2) Na barwniki pomarańczowo-żółte (pochodne oksyfenazyny):

a) związki mineralne, jak w Nr. 1.

b) 2,5 gm mannitu, 5 gm dekstrozy, 5 gm sakcharozy, 5 gm gliceryny, 1,0 gm cytrynianu potasu, 7,5 gm kwasu winowego, zobojętnionego amoniakiem.

Nr. 3) Na barwniki winowo-czerwone (pochodne oksyfenazyny):

a) Składniki mineralne, jak w Nr. 1.

b) 5 gm gliceryny, 5 gm dekstrozy, 1 gm asparaginy, 5 gm peptonu, po 3 gm kwasu bursztynowego, winowego i cytrynowego zobojętnionych amoniakiem.

Nr. 4) Na barwniki niebieskie (pochodne oksyfenazyny):

a) Składniki mineralne, jak w Nr. 1.

b) 5 gm sakcharozy, 10 gm dekstrozy, 10 gm gliceryny, 7 gm kwasu bursztynowego, 7 gm kwasu winowego i 2 gm kwasu cytrynowego, zobojętnionych amoniakiem.

Reakcja pożywek była obojętna. Dodanie ekstraktu z ziemi ogrodowej wygotowanej gorącą wodą wpływało dodatnio na wytwarzanie barwników.

Niektóre gatunki *Pseudomonas* nie tworzą w powyższych pożywkach barwnych związków; każdy gatunek wymaga w tym celu specyficznego składu pożywki.

Barwniki, wytworzone w płynnej pożywce, wypadają w przeważnej ilości w postaci krystalicznej (Nr. 1, 2 i 4) lub też pozostają w niej rozpuszczone (Nr. 3).

Podczas potrząsania płyn pożywki zabarwia się winowoczerwono (Nr. 3) wzgl. niebiesko (Nr. 4) i z powrotem się odbarwia, gdy jest pozostawiony w spokoju. W starych kulturach płyn jest zabarwiony nieodwracalnie.

Wykryształizowane barwniki dadzą się oddzielić przez centryfugowanie i następne wyciąganie etanolem 85 do 90% w temperaturze nie przekraczającej 70°C. Barwniki rozpuszczone w pożywce dadzą się strącić octanem ołowiu; przy frakcyjnym strącaniu wypadają najpierw zanieczyszczenia a w końcu, przy użyciu zasadowego octanu ołowiu i przy reakcji słabo alkalicznej, wypadają związki barwników. Po rozłożeniu osadu ołowiowego rozcieńczonym kwasem siarkowym można wyciągnąć barwniki metanolem i uwolnić je od tłuszczów oraz fosfatydów przez strącanie eterem naftowym. Barwniki w ten sposób otrzymane krystalizują trudno.

Azot drobin fenazyny przyłącza i odczepia łatwo wodór i dzięki temu związki fenazyne odgrywają dużą rolę w procesach oksydacyjno-redukcyjnych, w komórce. Jest bardzo możliwe, że bakterje z grupy *Pseudomonas*, wytwarzające związki fenazyne, są głównie odpowiedzialne za procesy redukcyjne w glebie.