

А. П. БАРХАН

РАСПАД ФОСФОГЛЮКОНОВОЙ КИСЛОТЫ В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ В ПРИСУТСТВИИ АЦЕТАЛЬДЕГИДА*(Представлено академиком А. Н. Бахом 19 III 1939)*

В предыдущем сообщении ⁽¹⁾ была показана возможность осуществления окислительного распада фосфоглюконовой кислоты в анаэробных условиях в присутствии некоторых акцепторов водорода. Особый интерес в этом отношении представляет наблюдение, согласно которому этот распад может происходить в присутствии ацетальдегида. Поскольку ранее оставалось недоказанным, что эффект от добавления ацетальдегида связан с ролью последнего в качестве акцептора водорода при дегидрировании фосфоглюконата, мы вернулись вновь к более подробному изучению этой реакции.

Методика. Мацерационный дрожжевой сок содержит значительное количество преобразованного этилового спирта, затрудняющее учет его новообразования в опыте. Поэтому для работы применялся сок, освобожденный предварительно от большей части спирта выпариванием в вакууме до консистенции сиропа при давлении около 1 мм и t° не выше 35°. Выдерживание сока при этой температуре не отражается существенно на его способности производить распад фосфоглюконата; в то же время значительно ослабляется способность дисмутировать добавленный альдегид, что очень благоприятно, ибо дисмутация альдегида тоже может сильно затемнять результаты опыта. Для употребления в опыте полученный сироп разводился водой до первоначального объема сока. Течение реакции прослеживалось манометрически в респирометрах Варбурга и химически. С целью получения условий анаэробнозиса через сосудики Варбурга при 0° в течение 10 мин. пропускался соответствующим образом очищенный N₂ со стандартной скоростью 100 мл в минуту. При этом была неизбежной некоторая потеря ацетальдегида, но она могла быть учтена, и в наших стандартных условиях составляла около 20% [ср. Диксон и Лютвак-Мани ⁽²⁾]. Имевшая место небольшая ретенция CO₂ (несмотря на слабо-кислую реакцию среды) учитывалась путем подкисления в конце эксперимента опытной пробы наряду с контрольной. Для химических определений белки осаждались метафосфорной кислотой и фильтрат применялся для анализов. Альдегид определялся после перегонки в аппарате Либя и Цахерля обычным бисульфитным титрованием. Сумма летучих веществ, редуцирующих бихромат (альдегид+спирт), определялась по Видмарку испарением в течение 3 часов при 65—70° 1.0 мл нейтрализованного по фенолфталеину безбелкового фильтрата реакционной смеси (с содержанием приблизительно 2.5—5.0 μМ спирта, наряду с таким же количеством альдегида); в колбе-приемнике при этом находилось 5.0 мл *n*/50 бихроматно-серно-кислотной смеси. Из данных обоих определений вместе вычислялось содержание этилового спирта. При расчетах нам приходилось пользоваться эмпирически установленным для альдегида коэффициентом пересчета (1.29), поскольку альдегид в отличие от спирта окислялся бихроматной смесью не стехиометрически (альдегид→кислота), как это обычно принимается [ср. например Варбург и Кристиан ⁽³⁾], а несколько далее. Все отмеривания в опытах, в которых в качестве компонента реакционной смеси входил ацетальдегид, производились при 0°.

Таблица 1

Убыль альдегида и образование спирта и CO_2 в N_2

0.5 мац. сока, 20 μM фосфоглюконата, 20 μM ацетальдегида. 28°. Продолжительность опытов 2 $\frac{1}{2}$ —3 часа. Все данные за вычетом соответствующих контролей.

Дата	+ Алкоголь μM	-Альдегид μM	+ CO_2 μM
28 I	11.3	7.0	6.5
20 II	14.7	8.2	6.2
22 II	13.0	6.2	8.3

Как показывают приведенные в табл. 1 опыты, распад фосфоглюконата в анаэробных условиях в присутствии ацетальдегида действительно протекает таким образом, что происходит убыль альдегида и образование спирта. При этом на моль образовавшейся CO_2 исчезает около одного моля альдегида и образуется около двух молей спирта.

Сопоставляя эти результаты с ранее полученными данными в отношении аналогичного действия других акцепторов (1), а также на основании имеющихся в литературе указаний о первых продуктах окислительного распада фосфоглюконата [Варбург и Кристиан (4), Диккенс (5)] можно полагать, что и в случае окисления фосфоглюконата альдегидом идет дегидрирование и сопровождающее его декарбоксилирование углеводной молекулы, приводящее к образованию соответствующего деривата пентозы. Веским доказательством в пользу этого представления служит то обстоятельство, что при произведенном несколько раз испытании реакционной смеси к концу опыта мы всегда могли обнаружить в ней наличие веществ, дающих интенсивную реакцию на пентозы по Биалу (6).

Обнаруженное нами нарастание спирта в опытах с альдегидом с несомненностью говорит о том, что последний в условиях наших опытов действительно выступает в качестве акцептора водорода, гидрируясь, как и при спиртовом брожении, в алкоголь. Однако, как уже указывалось выше, количество образующегося спирта не только эквивалентно, но даже превышает количество исчезнувшего альдегида. Очевидно, что избыточно образующийся спирт должен происходить из каких-то продуктов превращения самого фосфоглюконата. Можно полагать, что к первоначальному процессу дегидрирования и декарбоксилирования фосфоглюконата дальше присоединяется идущий уже без участия внешнего акцептора распад, протекающий по типу обычных реакций брожения [ср. Липманн (7)]. Этот процесс и служит в наших опытах источником образования избыточного спирта сверх того количества, которое образовалось путем восстановления прибавленного альдегида. Возможность образования фосфопентоз фактически установлена Диккенсом (8).

Если это толкование правильно, то следовало ожидать, что то количество спирта, которое в наших опытах образовывалось избыточно, сверх эквивалента исчезнувшего альдегида, будет возникать и при распаде фосфоглюконата в присутствии других акцепторов водорода, в частности просто в аэробных условиях, где акцептором водорода для первичного дегидрирования будет служить кислород. Как показывают данные табл. 2,

Таблица 2

Образование спирта на воздухе

0.5 мац. сока, 20 μM фосфоглюконата. 28°. Продолжительность опытов 2—2 $\frac{1}{2}$ часа. Все данные за вычетом контролей.

Дата	+ Алкоголь μM	- O_2 μ атом.	+ CO_2 μM
1 II	5.0	6.4	9.5
26 II	6.4	5.4	8.9

это подтверждается экспериментально: спирт образуется и при аэробном распаде фосфоглюконата в количествах, близких к тем, которые «избыточно» образовывались в опытах с добавлением альдегида.

Как указывалось выше, описанная здесь реакция—образование CO_2 из фосфоглюконата с одновременным образованием спирта за счет восстановления альдегида—формально могла бы рассматриваться, как своеобразный тип спиртового брожения. Можно ли этой реакции приписать значение в качестве одного из путей распада углевода при брожении, имеются ли основания допустить возможность сбраживания углевода не путем распада его молекулы пополам, а путем постепенного укорочения углеродной цепи? С достаточной определенностью ответить на это еще нельзя, данных в пользу положительного ответа пока мало: в противоположность тому, что мы имеем при подлинном брожении, здесь отщепление CO_2 не сопровождается непрерывным новообразованием окислителя, а, напротив, требует затраты его. Вследствие этого отсутствует столь типичный для брожения циклический аутокаталитический характер промежуточных фаз процесса.

Выражаю благодарность проф. В. А. Энгельгардту за ценные указания при проведении настоящей работы.

Лаборатория биохимии животной клетки.
Институт биохимии
Академии Наук СССР.

Поступило
19 III 1939.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. А. Энгельгардт и А. П. Бархаш, Биохимия, **3**, 500 (1938).
² M. Dixon a. C. Lutwak-Mann, Biochem. J., **31**, 1347 (1937). ³ O. Warburg u. W. Christian, Biochem. Z., **287**, 291 (1937). ⁴ O. Warburg u. W. Christian, Biochem. Z., **292**, 287 (1937). ⁵ F. Dickens, Biochem. J., **32**, 1626 (1938). ⁶ Tollens-Elsner, Kurz. Lehrb. d. Kohlenhydrate, Leipzig, стр. 111 (1935). ⁷ F. Lipmann, Nature, **138**, 588 (1936). ⁸ F. Dickens, Biochem. J., **32**, 1645 (1938).