

Д. М. МИХЛИН

## ОБ ОБРАЗОВАНИИ ГИДРОКСИЛАМИНА В РАСТЕНИЯХ ПРИ АССИМИЛЯЦИИ НИТРАТОВ И НИТРИТОВ

(Представлено академиком А. Н. Бахом 6 V 1938)

Гипотеза об образовании аминокислот в растениях не только путем аминирования органических кислот и их производных, но и путем промежуточного образования оксимов была высказана Meyer и Schultze<sup>(1)</sup> еще в конце прошлого столетия. К этой гипотезе затем не раз возвращались, потому что с точки зрения химической она имеет достаточные основания. Некоторые экспериментальные данные для этой гипотезы мы находим в работе А. Н. Баха<sup>(2)</sup>.

Восстановление нитратов до аммиака проходит через ряд промежуточных продуктов, среди которых находится и гидроксилламин. Этот последний отличается очень большой способностью к химическим реакциям, в особенности к реакции соединения с карбонильной группой, с которой он образует оксимы даже в очень разбавленных растворах.

Образование формальдегида в процессе фотосинтеза<sup>(3)</sup>, а также экспериментально доказанное образование ацетальдегида в растениях<sup>(4)</sup> представляют возможность для синтеза оксимов за счет гидроксилламина, получающегося в растении при восстановлении нитратов.

Кетокислоты путем образования соответствующих оксимов и дальнейшего их восстановления также могут давать аминокислоты. Несмотря на все химические основания для гипотезы образования аминокислот через оксимы, долгое время, однако, не удавалось доказать наличие в растениях не только оксимов, но и гидроксилламина. В то же время рядом физиологических опытов доказано образование аммиака при росте растений в нитратной или нитритной среде<sup>(5)</sup>; но до сих пор нет полной уверенности в происхождении этого аммиака непосредственно из нитрата или нитрита. Возможно его образование в результате дезаминирования аминокислот. Что касается гидроксилламина, то его пытались изолировать из растений в виде медного соединения с диметилглиоксимом по методу Чугаева<sup>(6)</sup>. Этот метод, однако, не отличается достаточной чувствительностью. Лишь в 1926 г. Blom<sup>(7)</sup> был выработан метод, позволяющий обнаружить гидроксилламин в концентрации 1 : 10<sup>7</sup> и основанный на окислении иодом при строго определенных условиях гидроксилламина до азотистой кислоты и определении последней по Griess'у. С особенной тщательностью этот метод разработан Lemoigne<sup>(8)</sup>, который установил образование гидроксилламина у *Sterigmatocystis nigra* и у некоторых высших растений.

Пользуясь в точности методом Blom-Lemoigne, я мог обнаружить у хлореллы гидроксилламин до 0.12 мг на 1 мл клеток. Но ни у одного из перечис-

Таблица 1

Образование гидроксиламина в листьях и корешках растений после инфильтрации раствора, содержащего 0.06% азотистокислого калия, 0.04% формальдегида и 0.05% аскорбиновой кислоты.

Выражено в мг гидроксиламина на 1 кг свежего растительного материала

Дата	Название растения	Состав смеси	Гидроксиламин
15 I 1937	Листья гортензии	Нитрит + формальдегид	1.06
		То же	0.98
5 IV 1937	Ростки картофеля	Нитрит + формальдегид	2.12
		Нитрит + формальдегид + аск. к-та	3.88
		Вода	0
21 IV 1937	Картофельные ростки	Нитрит + формальдегид + аск. к-та	4.02
		То же	3.24
		Вода	0
2 VII 1937	Листья картофеля	Нитрит + формальдегид	4.10
		Нитрит + аск. к-та	6.25
		Вода	0
17 VIII 1937	Листья картофеля	Нитрит + формальдегид + аск. к-та	6.12
		Нитрит	0.03
		Формальдегид	0.08
		Вода	0.08
13 II 1938	7-дневные ростки	Нитрит + формальдегид	2.72
		Нитрит + формальдегид + аск. к-та	4.06
23 II 1938	8-дневные ростки	Нитрит + формальдегид + аск. к-та	5.25
		Нитрит + аск. к-та	0
15 III 1938	9-дневные ростки	Нитрит + формальдегид	5.15
		Нитрит + формальдегид + аск. к-та	8.76

ленных в табл. 1 высших растений мне не удалось найти преформированный гидроксиламин. При оставлении же листьев или картофельных ростков на 48 час. в комнате при 18—20° в растворе 0.04% формальдегида и 0.06 KNO<sub>3</sub> удастся установить образование гидроксиламина. Выход гидроксиламина увеличивается почти вдвое при инфильтрировании в вакууме в листья или ростки раствора, содержащего формальдегид и нитрит. Аскорбиновая кислота увеличивает выход гидроксиламина, достигающего в некоторых опытах 8 мг на 1 кг свежих листьев. При этом всегда наблюдается небольшое увеличение содержания аммиака по сравнению с контрольными листьями, инфильтрированными одной водой. Увеличение содержания аммиака при этом в среднем не превышает количества образованного гидроксиламина. Образование гидроксиламина не может

быть приписано действию микроорганизмов, так как это имеет место только в присутствии формальдегида. Так как один нитрит без формальдегида даже в присутствии аскорбиновой кислоты не вызывает образования в листьях гидроксиламина, то, следовательно, формальдегид является в наших экспериментальных условиях тем веществом, которое связывает гидроксиламин в виде оксима. В естественных условиях оксимы могут получаться и за счет других альдегидов, а также кетонов.

### Экспериментальная часть

100 г листьев или картофельных ростков толщиной не больше  $\frac{1}{2}$  мм помещаются в эксикатор, из которого масляным насосом выкачивается воздух. Затем через кран листья или ростки обливаются 400 мл раствора, содержащего 0.06% азотистокислого калия, 0.04% формальдегида и 0.05% аскорбиновой кислоты. Определение нитрита показывает, что содержание его в растворе непосредственно после инфильтрации уменьшалось на 8—12%. Содержание формальдегида в жидкости после инфильтрации не определялось. Что касается аскорбиновой кислоты, то работа Б. А. Рубина и сотр.<sup>(9)</sup> показала, что она при вакуум-инфильтрации проникает в лист.

Погруженный в раствор растительный материал оставляется на 48 час. в термостате при 30°. Затем он растирается в той же жидкости, к которой прибавлено до 10% ледяной уксусной кислоты. Прибавляется к смеси 15 г мочевины для разрушения нитрита. Для удаления возможных окислов азота смесь подвергается 5-минутному кипячению. При этом достигается также почти полное осаждение белков. Смесь оставляется затем на 24 часа при комнатной температуре. После фильтрования и обработки небольшим количеством животного угля получается при вторичном фильтровании совершенно бесцветная жидкость, не содержащая никаких окислов азота<sup>(1)</sup>. Пробы на азотистую и азотноватистую кислоты отрицательные.

Уголь адсорбирует 30—40% гидроксиламина.

Таблица 2

Образование аммиака в листьях картофеля. Листья инфильтрировались раствором, содержащим 0.06% нитрита калия, 0.05% формальдегида и 0.05% аскорбиновой кислоты. Контроль—инфильтрация воды. Выражено в мг аммиака на 1 кг свежих листьев

	мг NH <sub>3</sub>
1. Опыт . . . . .	18.8
Контроль . . . . .	16.4
2. Опыт . . . . .	13.20
Контроль . . . . .	10.16
3. Опыт . . . . .	13.14
Контроль . . . . .	9.24
4. Опыт . . . . .	16.88
Контроль . . . . .	14.20

В 10 см<sup>3</sup> бесцветной и прозрачной жидкости определения гидроксиламина производились по методу Blom-Lemoigne.

Для сравнения брался всегда свежеприготовленный раствор сернокислого гидроксилamina, содержащий 0.01 мл раствора. Ни в одном случае контрольные растворы без растительного материала не давали реакции Влом'а. Для определения аммиака бралось по 2 мл бесцветного раствора, нейтрализованного на лакмус. После отгонки в аппарате Парнаса аммиак определялся штупенфотометром.

Биохимический институт.  
Академия Наук СССР.  
Москва.

Поступило  
5 VI 1938.

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Meyer u. Schultze, Chem. Ber., **17**, 1554 (1884). <sup>2</sup> A. Bach, Moniteur scientifique (1897). <sup>3</sup> Beyer, Chem. Ber., **3**, 63. <sup>4</sup> Neuberg, Bioch. ZS., **160**, 256. <sup>5</sup> Prianschnikow, Ergebn. Biol., **1**, 442 (1926). <sup>6</sup> Tschugaew, Chem. Ber., **39**, 2692; **40**, 3498; **41**, 2246. <sup>7</sup> Blom, Bioch. ZS., **194**, 385, 392 (1928). <sup>8</sup> Lemoigne, Monguillon et Desneux, Bull. Soc. Chim. Biol., **18**, 604, 841, 1291 (1928). <sup>9</sup> Рубин, Сисакян, Лутикова, ДАН, XV, № 8 (1937).