

БИОХИМИЯ

А. В. ВЛАДИМИРОВ и Г. В. ДЯСКОВСКАЯ

ВОЗРАСТНЫЕ И СУТОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ
ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ В ЛИСТЬЯХ МАХОРКИ (*N. RUSTICA*)

(Представлено академиком Д. Н. Прянишниковым 11 VIII 1938)

Почти единственным источником получения лимонной кислоты в производственных масштабах вплоть до последних лет были лимоны. Это обстоятельство сильно удорожало производство лимонной кислоты. За последние годы установлена возможность получения лимонной кислоты более дешевыми и доступными способами. Работами Amelung'a(?), Bernhauer'a, Kostytschew'a, Wetzel'я и в особенности последними работами В. С. Буткевича (1,5,6,11) показана возможность получения лимонной кислоты из углеводов, подвергая последние воздействию плесней и дрожжевых грибков. С другой стороны, работами А. А. Шмук (2) и сотрудников за последнее время разработана методика получения лимонной кислоты из махорки в производственных масштабах. Благодаря высокому содержанию в махорке лимонной кислоты, доходящей в листьях до 10% и выше на сухую массу, и легкости выделения ее из сырья махорка становится ценнейшим сырьем для получения лимонной кислоты в заводских условиях. Поэтому махорка как техническая культура может быть использована не только в качестве материала для курения, но также в качестве сырья для получения никотина и лимонной кислоты (3).

Пользуясь различными приемами внешнего воздействия на рост и развитие махорки представляется возможным изменять содержимое указанных продуктов в сторону их увеличения и тем самым поднять ценность данной культуры. Увеличение содержания лимонной кислоты в махорке в частности может быть достигнуто созданием соответствующих условий минерального питания, различными приемами вершкования, соответствующими сроками уборки и послеуборочной сушки. Выяснение условий накопления лимонной кислоты в листьях махорки в зависимости от сроков ее уборки и является нашей ближайшей задачей.

Как установлено работами А. И. Смирнова (4), содержание органических кислот в табаке с возрастом увеличивается. Автор, определяя, с одной стороны, рН в водной вытяжке листьев и содержание золы и щелочности, — с другой, установил увеличение общего содержания органических кислот по мере развития листьев. У созревающих и близких к спелости листьев табака общее содержание органических кислот заметно больше, чем у молодых и неспелых листьев (4).

Что же касается изменения содержания органических кислот в растениях в пределах одного возраста в течение суток, то в этом отношении работами Bennet-Clark'a(8), Richards'a(9), Kraus'a и других было показано, что содержание органических кислот в ночные часы выше, чем в дневные

часы. Таким образом вопросы о возрастных и суточных изменениях содержания общего количества органических кислот в растениях являются не новыми и по ним имеется достаточная литература.

Но вопросы по накоплению отдельных органических кислот, в частности лимонной, в таких богатых этой кислотой растениях, как махорка, являются мало изученными и по ним литература отсутствует.

Поэтому в экспериментальной части работы нашей предварительной работы мы ставили перед собой задачу получения возрастных и суточных изменений содержания лимонной кислоты в листьях махорки с целью физиологического обоснования сроков ее уборки, обеспечивающих максимальное содержание лимонной кислоты в махорке.

С этой целью в 1936 г. был заложен полевой опыт с махоркой (*N. glauca*), сорт «Пехлец». Пробы для анализов были взяты в течение вегетации в 3 срока, а именно: 5 VII, 25 VII и 5 VIII, причем в каждый возрастной срок были взяты пробы в течение суток 4 раза, а именно: в 1 час 30 мин., в 6 час. 30 мин., в 13 час. 30 мин. и в 20 час. 30 мин. Пробы для анализов составлялись следующим образом: снималось с каждого растения по два листа: 5-й и 6-й лист снизу.

Все пробные листья после снятия быстро помещались в эксикатор с эфиром и держались в парах эфира для консервации в течение 30 мин. После этого пробы высушивались в термостате при 60—65° до сухого состояния и после растирания помещались в банки с притертой пробкой. В таком состоянии пробы хранились в лабораторных условиях до анализов. В пробах определялось содержание лимонной кислоты и никотина. Определение лимонной кислоты производилось объемным методом⁽¹⁰⁾ (осаждая в виде пентабромацетона с дальнейшей обработкой спиртом и щелочью и обратным титрованием кислотой). Определение никотина производилось объемным методом по видоизмененному методу Келлера. Расчет цифрового материала, полученного при анализах, произведен на сухой вес листа. Результаты анализов по этому опыту сведены в след. таблице:

Возрастные и суточные изменения содержания лимонной кислоты в листьях махорки (в % на сухое вещество)

Время взятия проб	Содержание лимонной кислоты в разные часы суток			
	1 ч. 30 м.	6 ч. 30 м.	13 ч. 30 м.	20 ч. 30 м.
5 VII	1.24	0.91	0.55	0.84
25 VII	2.57	2.48	0.79	0.98
5 VIII	3.59	3.01	0.93	1.27

Приведенные данные показывают, что с возрастом растения содержание лимонной кислоты в листьях махорки закономерно увеличивается.

Сопоставление цифр по содержанию лимонной кислоты в разное время суток в пределах каждого возрастного срока уборки показывает, что содержание лимонной кислоты больше всего в ночные и утренние часы.

Как известно, содержание углеводов (сахаров) в отличие от лимонной кислоты в дневные часы бывает обычно выше, чем в ночные и утренние часы, т. е. содержание лимонной кислоты и углеводов находится в обратной зависимости. Это обстоятельство и последние работы В. С. Буткевича по изучению образования лимонной кислоты в листьях махорки из введенной в листья глюкозы вакуум-инъекцией⁽⁵⁾ позволяют считать, что увеличение содержания лимонной кислоты в ночные и утренние часы происходит за счет превращения углеводов в лимонную кислоту благодаря преобладанию в ночные часы в растении окислительных процессов.

Таким образом в этом опыте нами было установлено увеличение содержания лимонной кислоты с возрастом махорки и резкое возрастание ее содержания в ночные и утренние часы суток в условиях, когда материал был консервирован и не подвергался существенным ферментативным изменениям. Но в какой степени эта разница в содержании лимонной кислоты в течение суток сохраняется при обычном хранении листьев (при обычном томлении и сушке без консервации), нами в этом опыте не изучалось.

Для изучения изменения содержания лимонной кислоты в листьях махорки, убранных в разные часы суток, но подвергавшихся обычному томлению и сушке, нами был проведен опыт в 1937 г. с махоркой сорт «Егорка». В этом опыте были взяты пробы в течение вегетации 17 VIII и 1 X.

В каждый возрастной срок были взяты пробы в течение суток 2 раза: в 1 час и в 13 час. С каждого растения для проб взяты 3-й, 4-й, 5-й лист, считая снизу. Для каждой пробы взяты листья с 12 растений, всего 36 листьев. Одна половина каждой пробы консервировалась в парах эфира в течение 30 мин., затем сушилась в термостате при 60—65°, а вторая половина пробы подвергалась томлению и сушке обычным путем.

Данные по содержанию лимонной кислоты в этом опыте сведены в след. таблице (в % на сухое вещество)*:

Время взятия проб	Консервированные листья		Неконсервированные листья	
	1 ч.	13 ч.	1 ч.	13 ч.
17 VIII	2.32	1.94	3.38	2.12
1 X	2.12	1.82	2.83	1.96

Приведенные данные показывают, что содержание лимонной кислоты как в неконсервированных, так и в консервированных листьях махорки в 1 час ночи больше, чем в 1 час дня, причем эта разница в содержании лимонной кислоты в неконсервированном материале по сравнению с консервированным больше в пользу ночной пробы.

Таким образом на основании проведенных нами исследований представляется возможным сделать вывод о том, что наибольшего содержания лимонная кислота в листьях махорки достигает в ночные и в утренние часы, и это количество лимонной кислоты после уборки в процессе томления и сушки не только не уменьшается, а, наоборот, растет как абсолютно, так и относительно по сравнению с другими суточными сроками уборки.

Указанные положения позволяют ставить вопрос дифференцирования сроков уборки махорки в зависимости от ее производствен. назначения.

Лаборатория акад. Д. Н. Прянишникова.
ВИУА.

Поступило
11 VIII 1938.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. С. Буткевич, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 64, 637 (1925). ² А. А. Шмук, *Химия табака и табачного сырья*, ВИТИМ (1933). ³ А. А. Шмук, *Сб. ВИТИМ*, 102 (1933). ⁴ А. И. Смирнов, *Табакоседеление*, III, 59—60 (1933). ⁵ О. Ю. Соболевская и В. С. Буткевич, *ДАН*, XV, № 3 (1937). ⁶ С. М. Барина и В. С. Буткевич, *Микробиология*, № 5 (1936). ⁷ Amelung, *ZS. f. physiolog. Chemie*, 164, 52 (1927). ⁸ Bennet-Clark, *The Metabolism of Succulent Plants*. Ph. D. Thesis, Cambridge University (1930). ⁹ Richards, *Acidity and Gas Interchange in Cacti*. Carnegie Inst. Publ., № 209 (1915). ¹⁰ Сборник по химии табака и табачного сырья, VI (1935). ¹¹ Буткевич, Менжинская и Трофимова, *Микробиология*, вып. 3, 4 (1934). ¹² Беннет-Кларк, *Роль органических кислот в обмене веществ растений* (1938).

* Анализы проведены научной сотрудницей М. Г. Жуковой.