

П. А. КОЛЕСНИКОВ

**О КАТАЛИТИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ  
НА ОКИСЛЕНИЕ ХЛОРОФИЛЛА В РАСТЕРТЫХ ЛИСТЬЯХ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 26 III 1948)

1. При исследовании окислительного обмена у зеленых листьев ячменя обнаружено <sup>(1)</sup>, что как живые листья, так и суспензия из растертых листьев окисляют гликолевую кислоту. В качестве продукта окисления выделена глиоксилевая кислота. Предпринятые нами более детальные исследования этого явления показали, что гликолевая кислота увеличивает поглощение кислорода центрифугатом суспензии из листьев. Осадок после центрифугирования оказался неактивным. Активным оказался осадок, полученный при насыщении центрифугата сернокислым аммонием, но осадки, полученные путем осаждения ацетоном или ацетатным буфером (рН=4,4), оказались неактивными.

Измерения количеств поглощаемого кислорода центрифугатом суспензии из растертых листьев в присутствии различных количеств гликолевой кислоты показали, что гликолевая кислота является не только субстратом окисления, но и ускоряет окислительные процессы в центрифугате (табл. 1).

Таблица 1

Влияние различных количеств гликолевой кислоты на поглощение кислорода центрифугатом суспензии из растертых листьев (5 мл центрифугата, соответствующие 300 мг свежих листьев; продолжительность опыта 100 мин., рН = 7,0, t = 25° C)

Взято гликолевой кислоты	Поглощено O <sub>2</sub> в мл	Теоретическое количество O <sub>2</sub> , необходимое для окисления гликолевой кислоты (в мл)			Отношение количества поглощенного O <sub>2</sub> к количеству, необходимому для окисления в глиоксилевую кислоту
		до углекислоты	до щавелевой кислоты	до глиоксилевой кислоты	
Без гликолевой кислоты . . . . .	28	—	—	—	—
0,001 M, 0,38 мг . . . . .	189	168	112	56	3
0,0002 M, 0,076 мг . . . . .	121	33	22	11	11
0,0001 M, 0,038 мг . . . . .	88	17	11	6	15

Концентрации гликолевой кислоты от 0,1 до 0,001 M оказывают одинаковое действие на поглощение кислорода. Из табл. 1 видно, что даже небольшие концентрации гликолевой кислоты вызывают увеличение количества поглощенного кислорода. При малых концентрациях гликолевой кислоты количество поглощенного кислорода превышает в несколько раз количество кислорода, необходимое для

полного окисления находящейся в опыте гликолевой кислоты, но полного окисления гликолевой кислоты не наблюдается. Дыхательный коэффициент в опытах с гликолевой кислотой 0,5—0,6, тогда как при полном окислении он должен быть 1,33. Кроме того, обнаружено, что в качестве продукта окисления гликолевой кислоты получается глиоксилевая кислота, которая исчезает в суспензии без поглощения кислорода. В специальных опытах установлено, что щавелевая и муравьиная кислоты не окисляются центрифугатом. Если принять, что гликолевая кислота окисляется только в глиоксилевую, то при малых концентрациях гликолевой кислоты количество поглощенного кислорода превышает необходимое для окисления наличной гликолевой кислоты более чем в 10 раз.

Из приведенных данных можно сделать заключение, что гликолевая кислота ускоряет окисление каких-то веществ, содержащихся в центрифугате суспензии из растертых листьев. При центрифугировании суспензии из растертых листьев весь хлорофилл остается в центрифугате. Осадок имеет слабую светлозеленоватую окраску. Оказалось, что в опытах с гликолевой кислотой в центрифугате исчезает хлорофилл (табл. 2).

Таблица 2

Влияние гликолевой кислоты на превращение хлорофилла (продолжительность опыта 90 мин.; исходное количество хлорофилла 0,3 мг)

Концентрация гликолевой кислоты	Поглощено $O_2$ в $\mu$ л	Исчезло хлорофилла	
		в мг	в %
0	30	0	0
0,001 M	185	0,171	57
0,0002 M	125	0,086	29
0,0001 M	90	0,043	15
0,00001 M	38	0	0

Из табл. 2 видно, что чем больше поглощение кислорода, тем в большей степени исчезает хлорофилл. Следовательно, исчезновение хлорофилла связано с окислением и в этом процессе участвует гликолевая кислота.

2. Кроме гликолевой кислоты, было исследовано влияние других органических соединений на окислительную способность зеленого центрифугата. Оказалось, что глюкоза, гексо-

зодифосфат, глицерофосфат, глицериновый альдегид, глицерин и кислоты: глюконовая, лимонная, винная, яблочная, фумаровая, янтарная, уксусная, малоновая, щавелевая, муравьиная, пировиноградная, аспарагиновая, глутаминовая, аланин, гликокол не оказывают никакого влияния на поглощение кислорода зеленым центрифугатом, хотя большинство из упомянутых соединений увеличивало дыхание живых листьев. Однако, помимо гликолевой кислоты, увеличивали поглощение кислорода глицериновая, молочная, аскорбиновая и диоксималеиновая кислоты. Более подробное исследование окислительной способности экстракта по отношению к этим соединениям показало, что он содержит не менее четырех окислительных систем.

Одна из них, самая активная, связана с окислением гликолевой кислоты; вторая участвует в окислении глицериновой и молочной кислоты; третья—в окислении аскорбиновой кислоты и, наконец, четвертая—в окислении диоксималеиновой кислоты. Все эти системы полностью извлекаются водой при растирании листьев. После центрифугирования они остаются в жидкой фазе. Из центрифугата они без потери активности осаждаются в насыщенном растворе сернокислого аммония. Но, за исключением системы, окисляющей диоксималеиновую и аскорбиновую кислоты, они полностью инактивируются при осаждении ацетоном или ацетатным буфером, рН=4,4. Система, участвующая в окислении аскорбиновой кислоты, полностью инактивируется в 0,002 M растворе диэтилдитиокарбамата. Это свидетельствует о том, что в окислении аскорбиновой кислоты принимает участие медь. Повидимому, мы имеем здесь дело с известной аскорбинокси-

дазой. Окисление глицериновой и молочной кислот снижается необратимо в 0,002 М растворе диэтилдитиокарбамата до 50%, окисление же гликолевой кислоты не только не снижается, но даже стимулируется. Также наблюдается различие в действии и других ингибиторов на окисление гликолевой кислоты и на окисление глицериновой и молочной кислот (табл. 3).

Таблица 3

Влияние ингибиторов на поглощение кислорода центрифугатом суспензии из растертых листьев в присутствии различных субстратов (5 мл центрифугата, соответствующие 300 мг свежих листьев; продолжительность опыта 120 мин.)

Ингибитор	Поглощено O <sub>2</sub> дл в присутствии 0,001 М				
	гликолевой кислоты	глицериновой кислоты	молочной кислоты	аскорбиновой кислоты	без субстрата
Без ингибитора . . . . .	214	163	130	45	15
0,005 М KCN . . . . .	230	120	103	0	23
0,002 М диэтилдитиокарбамат . . . . .	275	100	105	0	11
0,001 М гидроксиламин . . . . .	207	104	55	—	12
0,001 М моноiodуксусная кислота . . . . .	92	—	97	—	10

Из табл. 3 видно, что при прочих равных условиях количество поглощенного кислорода с гликолевой кислотой больше, чем с глицериновой и молочной кислотами. Глицериновая кислота занимает промежуточное положение — это различие повторялось во всех опытах.

В качестве продукта окисления глицериновой кислоты выделена в виде *p*-нитрофенилгидразона оксипировиноградная кислота (т. пл. 177—178°). Продукт окисления молочной кислоты не изолирован, но это, очевидно, пировиноградная кислота. Таким образом, окислению подвергаются гидроксильные группы в  $\alpha$ -положении. В табл. 2 показано, что даже очень небольшое количество гликолевой кислоты вызывает увеличение поглощения кислорода центрифугатом и что количество поглощенного кислорода превышает количество кислорода, необходимого для полного окисления наличной гликолевой кислоты. Эгого явления мы не обнаружили с глицериновой или молочной кислотой. Снижение концентрации этих кислот до 0,002 М уже не вызывало поглощения кислорода, тогда как с гликолевой кислотой имело место значительное поглощение кислорода даже при концентрации 0,0001 М. Глицериновая и молочная кислоты не вызывали заметного исчезновения хлорофилла (как это имело место в присутствии гликолевой кислоты). Все эти факты свидетельствуют о том, что глицериновая и молочная кислоты, в отличие от гликолевой кислоты, служат только субстратами в окислительных процессах зеленого центрифугата. Следовательно, только гликолевая кислота проявляет каталитические действия на окислительные процессы в центрифугате суспензии из листьев.

Приношу глубокую благодарность проф. Д. М. Михлину за ценные указания и помощь в работе.

Институт биохимии  
им. А. Н. Баха  
Академии Наук СССР

Поступило  
22 III 1948

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> П. Колесников, ДАН, 60, № 7 (1948).