

С. В. ГОРЮНОВА

**ПРИЖИЗНЕННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ КИСЛОТ
В ОКРУЖАЮЩУЮ ВОДНУЮ СРЕДУ СИНЕЗЕЛЕННОЙ ВОДОРΟΣЛЬЮ
*OSCILLATORIA***

(Представлено академиком Б. Л. Исаченко 3 IV 1948)

Постоянное присутствие в клетках высших растений так называемых растительных кислот (щавелевой, лимонной, винной, яблочной и янтарной) установлено многими авторами, но роль их в обмене веществ, несмотря на обширную литературу, до сих пор не ясна.

Известно также, что многие плесневые грибки накапливают органические кислоты в среде за счет тех органических соединений, на которых они растут. При объяснении этого явления характерно перенесение на плесневые грибки того же понимания процесса накопления кислот, что и для зеленых растений.

Наличие растительных кислот в клетках высших растений обычно характеризуется кислой реакцией клеточного сока. Водоросли же, обитающие в иных условиях и, очевидно, каким-то образом реагирующие на окружающую водную среду, всегда имеют слабощелочной рН.

Однако, несмотря на это Кулинов⁽³⁾ было установлено наличие органических кислот в клетках морских водорослей. Автору удалось обнаружить кислую реакцию клеточного содержимого у отдельных видов с помощью очень простого, но вместе с тем и оригинального приема.

Так, у *Florideen* этот прием заключается просто в подогревании материала с индикатором. Таким индикатором является фикоэритрин, т. е. то красящее вещество, которое входит в состав пигментов самих красных водорослей. При нагревании фикоэритрин легко окрашивает щелочную жидкость в зеленый цвет, подкисленную — в красно-фиолетовый и кислую — в яркосиний.

Экстракты других водорослей, например *Fucoideen*, *Ascophyllum*, *Fucus* и *Laminaria*, при концентрировании всегда показывали слабощелочную реакцию на лакмус. Исследования качественного состава этих кислот показали, что многие виды морских водорослей содержат щавелевую кислоту, хотя и в очень небольших количествах. Определение других кислот не проводилось.

При проведении наших исследований, посвященных выяснению возможности прижизненного выделения органических веществ в окружающую водную среду синезеленой водорослью *Oscillatoria*, мы обнаружили присутствие вышеуказанных кислот в водных фильтрах этой культуры.

Нелетучие, или так называемые растительные, кислоты определялись нами следующим путем: 10-кратно сгущенный в вакууме при

нейтральной реакции фильтрат культуры *Oscillatoria* после вторичного отфильтровывания через складчатый фильтр точно нейтрализовался едким калием по фенол-фталеину (1). Затем к жидкости прибавлялся с избытком 20% раствор уксуснокислого свинца.

После взбалтывания и добавления равного объема 90% спирта осадок свинцовых солей органических кислот и других примесей отфильтровывался через сутки на нуче и многократно промывался 45% спиртом, затем вновь переносился вместе с фильтром в прежнюю колбу и обрабатывался 5% аммиаком.

Последний растворяет свинцовые соли всех кислот, за исключением щавелевой, которая остается в осадке вместе с солями неорганических кислот, если они присутствуют, и другими соединениями.

Щавелевая кислота. Свинцовый осадок после отделения фильтрата подкислялся уксусной кислотой и разлагался сероводородом. Жидкость нагревалась до кипения, свернувшийся сернистый свинец отфильтровывался и промывался горячей водой. Профильтрованная жидкость вновь нагревалась до кипения и к ней прибавлялись уксуснокислый кальций и хлористый кальций.

На следующий день щавелевокислый кальций отфильтровывался через плотный фильтр и промывался горячей водой. Затем через него пропускалась теплая, разбавленная серная кислота (1:7) до полного растворения осадка. Полученный раствор нагревался до 70° и титровался 1/10 N раствором перманганата до появления слабозеленого окрашивания.

Определение остальных кислот (винной, янтарной, лимонной и яблочной) осуществлялось по методу Йоргенсена (1,2).

Результаты определений кислот представлены в табл. 1.

Таблица 1

Количество нелетучих кислот в фильтрах культур *Oscillatoria*

Возраст и чистота культуры	Вод.-сухой вес массы водорослей в г	Влажность в %	Общее количество фильтра в л	Количество кислоты в г	Среднее из двух определений в г				
					яблочная кислота	щавелевая кислота	винная кислота	янтарная кислота	лимонная кислота
4-месячная персистентная культура (летний посев)	4,0258	3,4	10	В пробе	0,0	0,0755	0,0057	0,0749	0,1607
				Во всем опыте	0,0	0,1888	0,0287	0,3746	0,8025
				Выделенное 1 г абс. сух. водорослей (перерасчет)	0,0	0,0464	0,0073	0,0963	0,2664
				Цветная реакция	—	+	+	+	+
2-месячная бактериологически чистая культура (весенний посев)	0,1985	3,38	2	В пробе	0,0	0,0096	следы	0,0116	0,0199
				Во всем опыте	0,0	0,192	—	0,0223	0,0398
				Выделенное 1 г абс. сух. водорослей (перерасчет)	0,0	0,0962	—	0,112	0,2005
				Цветная реакция	—	+	+	+	+

Одновременно, не выделяя до конца растительных кислот в виде твердых препаратов, мы попытались вторично подтвердить действительное присутствие их в фильтрах культуры синезеленой водоросли *Oscillatoria* с помощью качественных реакций.

Применяемые для этой цели цветные реакции проводились нами не в исходном фильтрате культуры, а непосредственно в тех фракциях, которые по схеме Йоргенсена соответствуют той или иной кислоте.

Для установления кислот применялись следующие качественные определения.

Для винной кислоты:

- 1) реакция Fenton'a с раствором сернокислого железа, перекиси водорода и едкой щелочи;
- 2) реакция Deniges с резорцином и серной кислотой;
- 3) реакция с кобальтгексаминхлоридом.

Для янтарной кислоты:

- 1) реакция Rosenthaler'a с резорцином, серной кислотой и аммиаком.

Для лимонной кислоты:

- 1) реакция Stahre, основанная на перевождении образующейся из лимонной кислоты ацетодикарбоновой кислоты в пентабромацетон;
- 2) реакция Kunz'a, основанная также на получении гектабром-ацетона.

Для яблочной кислоты:

- 1) диазореакция Rosenthaler'a.

Результаты всех проведенных реакций оказались также положительными.

Таким образом, обнаружение щавелевой, винной, лимонной и янтарной кислот в фильтратах культуры синезеленой водоросли является первым фактом в литературе, устанавливающим способность отдельных представителей водорослей прижизненно выделять растительные кислоты в процессе обмена веществ в окружающую внешнюю среду, не используя для этой цели органических соединений, прибавленных извне.

Микробиологический институт
Академии Наук СССР

Поступило
26 III 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Я. Демьянов и Н. Д. Прянишников, Общие приемы анализа растительных веществ, 1934. ² А. Р. Кизель, Практикум по биохимии растений, 1934. ³ G. Kylin, Z. physiol. Chem., **94**, 337 (1915).