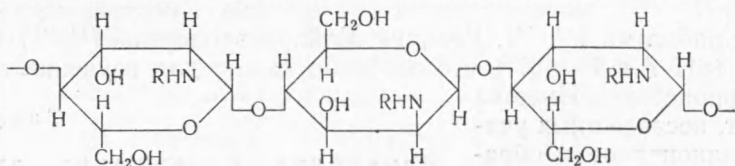


С. М. МАНСКАЯ, Т. В. ДРОЗДОВА и К. И. ТОБЕЛКО

ОБРАЗОВАНИЕ МЕЛАНОИДИНОВ ИЗ ХИТИНА

(Представлено академиком А. П. Виноградовым 13 I 1954)

Хитин является природным высокомолекулярным соединением, относящимся к группе углеводов. Хитин широко распространен в природе, он входит в состав панцирей различных членистоногих (раков, крабов, насекомых). Клеточные стенки грибов, некоторых видов водорослей ⁽¹⁾ и бактерий состоят из хитина. Хитин нерастворим в воде и органических растворителях, устойчив к действию щелочей. При гидролизе кислотами хитин дает эквивалентные количества глюкозамина и уксусной кислоты, поэтому считают, что ацетилглюкозамин лежит в основе строения хитина. Строение хитина схематически изображается следующей формулой:

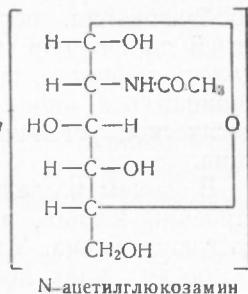
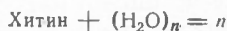


В большинстве монографий указывают на стойкость хитина к разрушению бактериями ^(2, 3). Как пример стойкости хитина обычно приводят исследованный Абдергальденом и Гейнсом ⁽⁴⁾ сохранившийся неизменным хитин из ископаемых остатков крыльев насекомых, найденных в бурых углях. Согласно указаниям А. П. Виноградова ⁽⁵⁾ хитиновый тип оболочки принадлежит к наиболее древним, и остатки хитиновых панцирей и скелетов находят, начиная с глубокого протерозоя и палеозоя.

Несмотря на относительную устойчивость хитина и широкое его распространение, не имеется сведений о том, чтобы он где-либо накапливался в больших количествах в ископаемых породах, в почвах, в морских осадках. В последние годы открыто много бактерий, разрушающих хитин. Ф. И. Копп и Е. М. Маркианович ⁽⁶⁾ на основании своих и литературных данных доказывают широкое распространение хитинразрушающих бактерий в морских осадках, в илу и в морской воде. Ранее Б. Л. Исаченко ⁽⁷⁾ охарактеризовал биологический распад хитина в почве за счет действия фермента хитиназы бактерий и различных грибов.

Хитин расщепляется ферментом хитиназой с образованием N-ацетилглюкозамина ⁽⁸⁾.

Продукт распада хитина — глюкозамин, заключающий в себе глюкозу и аминную группу, заслуживает большого внимания. Из литератур-



ных данных известно, что аминокислоты и сахара способны вступать в реакцию при нагревании с образованием темноокрашенных продуктов, получивших название меланоидинов. Эта реакция, так называемая реакция Майяра ⁽⁹⁾, изучалась для целого ряда процессов как природных, так и технологических. В. Л. Кретович и Р. Р. Токарева ⁽¹⁰⁾, изучавшие меланоидинообразование в смесях различных сахаров и аминокислот, считают, что эта реакция связана с окислительно-восстановительными превращениями, наиболее легко идет с пентозами, сопровождается сни-

Таблица 1

Изменение интенсивности окраски
(в мг J₂ на 1 мл раствора)

Пробы	Продолжительность опыта в часах							
	до нагрев.	1	3	6	8	11	14	20
Глюкозамин	0,0	0,6	0,6	1	1,6	2	20	20
Глюкозамин + + глико- кол	0,0	2	2	4	40	40	>200	>200

жением аминного азота в опытной смеси и накоплением альдегидов. Присутствие меланоидинов обуславливает образование окраски и аромата при изготовлении красного ржаного солода и в хлебопечении ⁽¹¹⁾. А. М. Кузин и О. И. Полякова ⁽¹²⁾ считают, что при взаимодействии сахаров и аминокислот промежуточным веществом является N-глюкозид, им удалось выделить при этой реакции кальциевую соль N-глюкозида. Это мнение подтверждено более поздними работами ^(13, 14). Реакция Майяра проверена ^(13, 15) в мягких условиях (рН 7 и T = 37°) что особенно важно для изучения ее в природных процессах. Имеется ряд работ, посвященных участию меланоидинов в образовании гуминовых кислот ^(16, 17).

Несмотря на многочисленные исследования гуминовых кислот ⁽¹⁸⁾, вопрос о происхождении азотсодержащего компонента гуминовых кислот, как и азота углей ⁽¹⁹⁾, не вполне ясен. Участие продуктов распада хитина в природных процессах гуминообразования, образования углей до сих пор не обсуждалось, вероятно, из-за установившегося мнения и биологической устойчивости хитина.

В нашем исследовании мы исходили из представления о химическом строении хитина, а также о возможности его биологического распада до глюкозамина. Мы предполагаем, что в природных условиях в почвах, в морских илах происходит расщепление хитина ферментом хитиназой до глюкозамина и превращение последнего в меланоидины.

Прежде всего мы попытались воспроизвести процесс меланоидинообразования из свободного глюкозамина и из хитина. Были приготовлены хорошо очищенные препараты хитина из грибов (*Boletus edulis* и *B. scaber*.) и из панцыря речных раков (*Potamobius astacus*) по методу Н. И. Проскурякова ⁽²⁰⁾, а также препарат глюкозамина из панцырей речных раков по методу Е. Фишера ⁽²¹⁾.

жением аминного азота в опытной смеси и накоплением альдегидов. Присутствие меланоидинов обуславливает образование окраски и аромата при изготовлении красного ржаного солода и в хлебопечении ⁽¹¹⁾. А. М. Кузин и О. И. Полякова ⁽¹²⁾ считают, что при взаимодействии сахаров и аминокислот промежуточным веществом является N-глюкозид, им удалось выделить при этой реакции кальциевую соль N-глюкозида. Это мнение подтверждено более

Таблица 2

Изменение содержания аминного азота (в мг N в реакционной смеси)

Пробы	Продолжительность опыта в часах			
	начало опыта	20	24	100
Глюкозамин	67,5	50	38,15 выпал осадок	33,15
Глюкозамин + гликокол	101,1	46,1 выпал осадок	44,6	19,17

Для опыта были взяты пробы: 1) 1 г хитина размешивался в 15 мл дистиллированной воды; 2) 1 г хитина и 0,25 г гликокола в 15 мл дистиллированной воды; 3) 1 г глюкозамина растворялся в 15 мл дистиллированной воды; 4) 1 г глюкозамина и 0,25 г гликокола в 15 мл дистиллированной воды.

рН смеси во всех пробах устанавливалось 7—7,5. Все пробы выдерживались при 93—95° и соблюдении постоянного объема.

Растворы глюкозамина начинали темнеть уже в течение 1 часа нагревания, добавление гликокола значительно увеличивало интенсивность окраски. В начале опыта растворы прозрачные, бесцветные, затем светложелтые, красно-коричневые, в конце опыта почти черные. Через 20—24 часа нагревания из темных растворов начинает выпадать мелкий темнокоричневый осадок, количество которого увеличивалось при дальнейшем нагревании.

В течение опыта нами производились следующие определения: 1) установление интенсивности окраски по сравнению со стандартными растворами иода; 2) определение аминного азота по Ван-Слайку; 3) определение фурфурола колориметрическим методом ⁽²²⁾ и оксиметилфурфуrolа весовым методом с флороглюцином ⁽¹⁰⁾. Полученные результаты приведены в табл. 1—3.

Таблица 3

Содержание фурфурола и оксиметилфурфуrolа (в мг в реакционной смеси)

Пробы	Фурфурол	Оксиметилфурфурол
Глюкозамин . . .	1,15	Следы
Глюкозамин+гликокол	1,0	2,5

Таблица 4

Препараты	С, %	Н, %	Н, %	О, %
Солянокислый глюкозамин	33,43	6,50	6,50	37,12
Меланоидины из глюкозамина + гликокол . . .	52,80	5,78	18,96	22,46
Меланоидины из глюкозамина	52,51	4,99	4,5	38,0
Меланоидины из сахаров и аминокислот*:				
по Эндерсу и Тейс . . .	54,73	5,17	5,04	35,06
по Амблеру	60,0	5,0	3,5	31,15
по Рукдексель	59,5	4,9	5,3	34,3
по Майару	59,1	6,0	4,6	31,3

* Заимствовано у Эндерс ⁽¹⁶⁾.

Приведенные данные показывают, что процесс меланоидинообразования из глюкозамина сходен с таковым из сахаров и аминокислот, так же сопровождается потемнением растворов, снижением аминного азота и накоплением альдегидов.

В пробах с хитином раствор через 15—20 час. нагревания приобретает светложелтую окраску, через 100 час.—коричнево-красную, нерастворимый хитин постепенно буреет, в растворе появляется аминный азот. Добавление гликокола ускоряет процесс.

Выпавший в пробах с глюкозамином и глюкозамином + гликокол осадок отделялся на центрифуге, промывался водой, высушивался спиртом и эфиром. Полученный препарат представлял собою порошок темно-коричневого цвета. Препарат нерастворим в воде, нерастворим в этиловом и бутиловом спирте, эфире, ацетоне, бензоле, этилацетате, хлоро-

форме, диоксана, муравьиной кислоте. Нерастворим в щелочи (незначительно растворяется при нагревании). Нерастворим в соляной кислоте.

Таблица 5

Межплоскостные расстояния d и интенсивности линий / к рис. 1. Оценка интенсивности линий визуальная

№ п. п.	d , Å	I	№№ п. п.	d , Å	I
Хитин			Глюкозамин		
1	3,45	4	1	5,18	3
2	3,47	10	2	4,97	3
3	3,13	7	3	3,85	10
4	2,88	5	4	3,67	9
5	2,61	8	5	3,48	9
6	2,32	8	6	3,30	9
7	2,16	4	7	3,13	4
8	2,10	3	8	2,81	8
9	1,97	4	9	2,60	7
10	1,89	4	10	2,48	5
11	1,73	2	11	2,31	5
			12	2,23	7
			13	2,13	5
			14	1,99	6
			15	1,32	4

В 10% азотной кислоте частично растворяется на холоду, при нагревании полностью.

В табл. 4 приведен элементарный состав препарата меланоидинов, полученного из глюкозамина в сравнении с элементарным составом глюкозамина и элементарным составом меланоидинов из сахаров и аминокислот.

Описанные свойства и элементарный состав меланоидинов из глюкозамина и глюкозамина с гликоколом указывают на то, что меланоидины являются значительно уплотненным азотсодержащим соединением.

Уплотненность меланоидинов подтверждается рентгеноструктурным исследованием (см. рис. 1 на вклейке

к стр. 581 и табл. 5). Приведенные дебаеграммы показывают, что хитин и глюкозамин соединения кристаллические, меланоидины — соединение аморфное.

Необходимо дальнейшее исследование химического состава меланоидинов из глюкозамина и хитина, а также изучение процесса меланоидинообразования в природных условиях. Работа в этом направлении нами продолжается.

Институт геохимии и аналитической химии
им. В. И. Вернадского
Академии наук СССР

Поступило
13 I 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. Frey, Ber. d. Schweiz. Bot. Ges., **60**, 199 (1950).
- ² П. П. Шорыгин, Химия углеводов, 1932, стр. 244.
- ³ В. В. Коршак, Химия высокомолекулярных соединений, Изд. АН СССР, 1950, стр. 450.
- ⁴ E. Abderhalden, K. Heyns, Biochem. Zs., **259**, Н. 4—6, 320 (1933).
- ⁵ А. П. Виноградов, Химический элементарный состав организмов моря, ч. III, 1944, стр. 196.
- ⁶ Ф. И. Копп, Е. М. Маркианович, ДАН, **75**, № 6, 859 (1950).
- ⁷ Б. Л. Исаченко, Природа, № 2, 97 (1939).
- ⁸ Б. Самнер, Г. Сомерс, Химия ферментов и методы их исследования, ИЛ, 1948, стр. 127.
- ⁹ L. C. Maillard, C. R., **156**, 1159 (1913).
- ¹⁰ В. Л. Кретович, Р. Р. Токарева, Биохимия, **13**, в. 6, 508 (1948).
- ¹¹ В. Л. Кретович, Р. Р. Токарева и др., Тр. Н.-иссл. инст. хлебопекарн. пром., в. IV, 134 (1951).
- ¹² А. М. Кузин, О. И. Полякова, Биохимия, **6**, в. 2, 113 (1941).
- ¹³ A. Gottschalk, S. M. Partigie, Nature, **165**, № 4200, 684 (1950).
- ¹⁴ K. Täufel, H. Iwainky, Biochem. Zs., **323**, № 4, 299 (1952).
- ¹⁵ C. H. Lea, R. S. Hapan, Nature, **165**, № 4194, 438 (1950).
- ¹⁶ C. Enders, Koll. Zs., **85**, Н. 1, 289 (1938); Biochem. Zs., **3/2**, Н. 5—6, 339 (1942).
- ¹⁷ М. М. Кононова, Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения, 1951, стр. 55.
- ¹⁸ М. М. Кононова, Почвоведение, № 12 (1953).
- ¹⁹ В. Кирпер, Сборн. Химия твердого топлива, **1**, 1951, стр. 102.
- ²⁰ Н. И. Проскуряков, Biochem. Zs., **167**, Н. 1—3, 68 (1926).
- ²¹ И. Губен, Методы органической химии, **3**, в. 1, 354 (1934).
- ²² А. Н. Белозерский, Н. И. Проскуряков, Практическое руководство по биохимии растений, 1951, стр. 24.