

5. Михолап О. Н., Михайловская В. В.— В кн.: Итоги исследований по международной биологической программе в Белорусской ССР. Минск, 1974, с. 64.

6. Михолап О. Н., Рождественская А. С.— В кн.: Белорусские основы освоения, реконструкции и охраны животного мира Белоруссии. Минск, 1976, с. 117.

7. Арзамасов И. Т., Меркушева И. В., Михолап О. Н., Чикилевская И. В. Насекомоядные и их паразиты на территории Белоруссии.— Минск, 1969, с. 175.

8. Падутов Е. Е.— В кн.: Животный мир Белорусского Полесья, охрана и рациональное использование. Гомель, 1982, с. 96.

9. Терехович В. Ф., Манохина Н. В., Голубева М. Б.— Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2, хим., биол., геогр., 1981, № 2, с. 39.

10. Сержанин И. Н. Млекопитающие Белоруссии.— Минск, 1982, 2-е изд.

УДК 542.943.547.757

А. В. ИГНАТЕНКО, С. В. СИКОРСКАЯ, С. Н. ЧЕРЕНКЕВИЧ

ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ПРОДУКТОВ ОКИСЛЕНИЯ ТРИПТОФАНА ОЗОНОМ

В связи с возможным использованием озона при хранении сельскохозяйственной продукции изучение его действия на биологически важные соединения представляет научную и практическую задачу.

Интерес к воздействию озона на молекулы триптофана обусловлен тем, что триптофану и его метаболитам принадлежит важная роль в регуляции ростовых процессов в растительных тканях [1], функционировании митотического аппарата клеток [2], гибели микроорганизмов [3].

В результате действия озона на триптофан среди продуктов его окисления в определенных условиях образуется N-формилкинуренин и кинуренин [4], однако детально качественный и количественный состав продуктов окисления триптофана озоном не исследован.

В данной работе проведено изучение спектроскопических и хроматографических характеристик продуктов озонирования триптофана с целью их идентификации и выяснения направленности окислительных процессов, инициированных озоном в водных растворах.

Экспериментальная часть

Озон получали в барьерном разряде из осушенного воздуха. Водные растворы триптофана ($1 \cdot 10^{-5}$ — $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) барботировали очищенной от окислов азота озонно-воздушной смесью [5] со скоростью потока 0,2 л/мин. Концентрацию озона в газовой фазе контролировали спектрофотометрически и варьировали в пределах $7 \cdot 10^{-6}$ — $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Для приготовления растворов использовали реактивы марки «х. ч.» фирмы «Reanal» (Венгрия) и бидистиллированную воду.

Хроматографирование проводили на пластинках «Silufol-254» фирмы «Kavalier» (ЧССР) по методикам [6—9]. Использовали следующие системы растворителей: I — n-бутанол-уксусная кислота-вода (4 : 1 : 5); II — 96 %-ный этанол-вода (7 : 3); III — n-пропанол-вода (7 : 3); IV — дибутиловый эфир-уксусная кислота-n-гексан (20 : 1 : 4); V — n-бутанол-ацетон-диэтиламин-вода (10 : 10 : 2 : 5).

Качественный и количественный состав нингидринположительных соединений определяли на аминокислотном анализаторе ААА 881 (ЧССР).

Для гель-фильтрации озонированных растворов триптофана использовали колонку 1,5 · 35 см с сефадексом G-10, фирмы «Pharmacia» (Швеция). На колонку наносили 2 мл исследуемого раствора, на выходе колонки собирали фракции по 3 мл с помощью коллектора ХКОВ-1. Скорость элюции составляла 20 мл/ч.

УФ спектры выделенных продуктов озонирования регистрировали на спектрофотометре Specord UV·VIS (ГДР), ИК спектры (в таблетках KBr) — на спектрофотометре IR-79 (ГДР).

Результаты и их обсуждение

Методом ТСХ, гель-фильтрации, ионообменной хроматографии и УФ спектроскопии установлено, что после десятиминутной обработки триптофана озоном в растворе образуется ряд нингидриноположительных соединений, состав которых значительно разнообразнее, чем известно из литературы [10]. Сопоставление хроматографических и спектроскопических характеристик продуктов окисления триптофана с соответствующими характеристиками «свидетелей» позволило установить, что, помимо N-формилкинурина и кинуренина, образуются трициклический гидропероксид, аспарагиновая кислота, серин, аланин, антралиловая кислота (см. таблицу).

Продукты, выделенные из водных растворов озонированного триптофана, и их характеристики ($C_{\text{три}} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $\text{pH} = 7,0$, $C_{\text{O}_3} = 7 \cdot 10^{-6}$ моль/л, время озонирования 10 мин)

Продукты	R_f в различных системах растворителей					$\lambda_{\text{макс}}$ спектра поглощения	Выход, %
	I	II	III	IV	V		
N-формилкинурин	0,53	—	—	—	0,58	260, 320	39,1
Кинуренин	0,40	—	—	—	0,54	260, 360	7,4
* Трициклический гидропероксид	0,84	—	—	—	0,83	235, 295	8,7
Аспарагиновая кислота	0,20	0,48	0,33	—	—		2,7
Антралиловая кислота	0,98	—	—	0,44	0,98	310	0,83
Аланин	0,30	0,55	0,37	—	—	— —	0,22
Серин	0,24	0,47	0,35	—	—	— —	0,63
Аммиак							14,0

* Примечание: полное название трициклического гидропероксида: 2-карбокси-, 3а — гидроперокси-, 1, 2, 3, 3а, 8, 8а — гексагидропирроло — (2, 3б) — индол.

Кроме указанных продуктов, выделено соединение, которое не вступает в реакцию с нингидрином, и, следовательно, не содержит свободных аминогрупп. Это соединение окрашивает в желто-коричневый цвет озонированные растворы и при подкислении последних выпадает в виде мелкозернистого осадка, который не растворяется в органических растворителях, в том числе и в тетрагидрофуране [11].

Выход этого соединения в свободном объеме колонки при гельфильтрации свидетельствует о его высоком молекулярном весе, а окрашивание в красно-малиновый цвет реактивом Сальковского указывает на присутствие в его структуре неразрушенных индольных колец [12]. При этом отсутствуют явно выраженные полосы поглощения в УФ- и видимой областях спектра. Такой эффект возможен в случае сопряжения хромофорных групп.

Характерными колебательными полосами выделенного продукта являются: сильная широкая полоса с максимумом при 3200 см^{-1} и плечом при 3400 см^{-1} , обусловленная валентными колебаниями $-\text{NH}$, $-\text{OH}$ групп, участвующих в образовании водородных связей, полоса 1640 см^{-1} , принадлежащая колебаниям двойных связей ароматического кольца [13], а также две сильные полосы при 1400 и 1100 см^{-1} . Для выделенного соединения характерен устойчивый ЭПР сигнал с $g \sim 2$.

Перечисленные свойства продукта позволяют предположить, что в процессе озонирования триптофана образуется меланин индольного типа.

Идентифицированные нами продукты и их выходы свидетельствуют о том, что при озонировании водных растворов триптофана основным

процессом является окисление пиррольного кольца молекулы, приводящее к синтезу N-формилкинуренина, и трициклического гидропероксида. Образование последнего указывает на существование неизвестного ранее пути окисления триптофана озоном.

Впервые также установлено, что одновременно с окислением протекает деструкция С-С связей, приводящая к образованию антралиловой кислоты, серина, аланина, аспарагиновой кислоты и окислительная полимеризация, в результате которой образуется меланин.

Обращает на себя внимание тот факт, что аналогичные процессы протекают при фотооблучении и γ -радиолизе водных растворов триптофана и в результате образуются те же продукты окисления, что и при деградации триптофана в растительных тканях [14]. Это дает основание предположить, что в определенных условиях воздействие озона на растительные ткани может повлиять на синтез из триптофана индолилуксусной кислоты (гормона роста) и это воздействие может быть аналогичным тому, которое оказывает γ -радиация на ростовые процессы [15].

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамбург К. З. Биохимия ауксина.— Новосибирск, 1976, с. 60.
2. Zigman S., Heger J. D., Jofo T., Ernist D.—Photochem, Photobiol., 1978, v. 27, p. 281.
3. Joakum C., Eisenstart A.—J. Bacteriol., 1972, v. 112, p. 653.
4. Mudd J., Leavitt R., Ongun A., et al.—Atmos. Env., 1969, v. 3, p. 668.
5. Папко С. И.—ЖПХ, 1949, т. 22, с. 667.
6. Шеллард Э. Количественная хроматография на бумаге и в тонком слое.— М., 1971, с. 333.
7. Mc Caldin D. A.—Chem. Rev., 1960, v. 60, p. 39.
8. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография.— М., 1981, с. 470.
9. Кефели В. И., Кутачек Т., Турецкая Р. Л. Рост и регуляция жизнедеятельности растений.— Иркутск, 1974, с. 35.
10. Sun M., Zigman S.—Photochem., Photobiol., 1979, v. 29, p. 893.
11. Рубан Е. Л., Фомин Г. В., Лях С. П.—Докл. АН СССР, 1968, т. 18, с. 1219.
12. Збинден Р. Инфракрасная спектроскопия высокополимеров.— М., 1966, с. 335.
13. Рубан Е. Л., Лях С. П.—Изв. АН СССР. Сер. биол., 1968, № 4, с. 530.
14. Nakagawa Masako, Joshikawa Kensei, Hino Tohru.—J. Amer. Chem. Soc., 1975, v. 97, № 22, p. 6496.
15. Ussuf K. K., Nair P. M.—Phytochem., 1971, v. 10, № 5, p. 929.

УДК 576.858.9

А. М. РОМАШКО, А. Н. СЕЛЬСКОВ, Ю. К. ФОМИЧЕВ

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ, УТИЛИЗИРУЮЩИХ НАФТАЛИН, САЛИЦИЛОВУЮ КИСЛОТУ, КАМФОРУ И ОКТАН

Способность бактерий рода *Pseudomonas* использовать в качестве источников углерода чрезвычайно широкий круг органических соединений обусловила возросший в последние годы интерес исследователей к этой группе микроорганизмов. Предполагается широкое использование наиболее активных в этом отношении штаммов в качестве источника кормового белка, в системах биологической очистки сточных вод, содержащих токсические отходы, а также для разложения пестицидов в окружающей среде. В решении этих задач важное значение имеет поиск быстрорастущих штаммов *Pseudomonas*, утилизирующих ароматические, а также некоторые другие органические вещества.

В настоящей работе представлены результаты выделения из природных источников и идентификации бактерий рода *Pseudomonas*, способных утилизировать нафталин, салициловую кислоту, камфору и октан.