

# 应用 $^{15}\text{N}$ 固体核磁共振技术研究苯醌—— 蛋白质聚合物的氮素形态

程励励 文启孝

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

本世纪 90 年代以来,借助于 $^{15}\text{N}$  核磁共振技术已经查明,无论是新形成的土壤胡敏酸和富啡酸,或是各类土壤中原有的胡敏酸和富啡酸,其非酸解性氮均主要以酰胺态氮存在。但这些耐酸解的酰胺是如何形成的则不清楚。本工作采用生物合成途径制备了较高丰度 $^{15}\text{N}$  标记的蛋白质,利用 $^{15}\text{N}$  NMR 技术研究了用此蛋白质与苯醌反应生成的聚合物及其酸解残渣的氮素形态。此外,鉴于醌与蛋白质反应过程中会有部分氮释出,因而还对苯醌与 $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  反应生成的聚合物及其酸解残渣的氮素形态进行了研究,目的在于了解土壤胡敏酸中而酸解酰胺的来源。

研究表明,苯醌和蛋白质反应形成的聚合物,其氮素含量虽因反应时介质的 pH 值而有较大不同,但其氮素形态分布极其相似,酰胺氮占全氮的 80% 以上,吡啶型氮占 4—6%,芳香胺或烯胺氮占 4% 左右,芳香胺和/或脂肪胺占 4—6%;用  $6\text{mol L}^{-1}\text{HCl}$  酸解时,84% 的氮可被酸解,其中 47—53% 为  $\alpha$ -氨基态氮。这和土壤胡敏酸很相似。聚合物酸解残渣的 $^{15}\text{N}$  MNR 谱显示,非酸解性氮主要以酰胺(约 30%)和脂肪胺(约 30%)氮存在,另外还有各种杂环氮(约 20%)和芳香胺或/和脂肪胺(约 10%)。这表明,在苯醌和蛋白质反应过程中,生成了部分耐酸解的酰胺。结合我们以前关于酚与甘氨酸生成的聚合物的研究结果,看来,形成胡敏酸的主要含氮物料是蛋白质或多肽,而不是它们的进一步产物——氨基酸。

苯醌和  $\text{NH}_3$  反应形成的聚合物及其酸解残渣的 $^{15}\text{N}$  NMR 谱显示,聚合物中,吡咯、吡啶型氮约占全氮的 5%,芳香胺氮也约占 5%,酰胺氮和/或内酯氮占 41%,另有 40% 的氮很难确定是吡咯氮、吡啶氮或是酰胺氮。酸解残渣中,吡咯、异腈或亚氨类氮占 52%,脂肪胺氮仅占 2%。酸解时聚合物中只有 28% 的氮进入溶液,其中 78% 皆以氨态氮释出。看来,酚(或醌)与氨的反应并不会导致形成胡敏酸中耐酸解性酰胺,在醌与蛋白质的反应中,它也并不具有重要性。