

В. С. ДЕМИДОВ, А. Б. ВАКАР,
член-корреспондент АН СССР В. Л. КРЕТОВИЧ

ЗАВИСИМОСТЬ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПШЕНИЧНОЙ КЛЕЙКОВИНЫ ОТ СТЕПЕНИ ЕЕ ДЕЙТЕРИРОВАНИЯ

Изучению кинетики водородно-дейтериевого обмена в белках посвящено большое число работ, так как этим методом удается исследовать конформационные изменения белковых молекул в различных биохимических процессах (¹).

В наших предыдущих работах (²⁻⁴) было показано, что клейковина пшеницы при обработке ее тяжелой водой (D_2O) быстро и весьма значительно изменяет свои реологические свойства: она становится более упругой и менее растяжимой, т. е. происходит ее «укрепление». Этот эффект объясняется дейтерированием клейковинного белка, в котором происходит суммарное увеличение прочности водородных связей в результате замещения лабильных атомов водорода на дейтерий.

Настоящая работа имела целью сопоставить изменение реологических свойств клейковины под влиянием D_2O с кинетикой дейтерирования клейковинного белка, измеряемой непосредственно по количеству включенного в него дейтерия.

Опыты проводились на двух сортах яровой пшеницы «Саратовская 29» и «Акмолинка 1», резко различавшихся по качеству клейковины. Пшеница сорта «Саратовская 29» содержала типично крепкую клейковину, а пшеница сорта «Акмолинка 1» — типично слабую. Влияние D_2O на реологические свойства клейковины определяли с помощью пластометра Ауэрмана — Воскресенского (⁵) по ранее описанной методике (³).

Для изучения кинетики дейтерирования клейковинного белка были приготовлены препараты лиофилизированной клейковины, содержавшие ~95% белка. После удаления влаги в вакууме сухую лиофилизированную клейковину обрабатывали тяжелой водой (99,78 мол. % D_2O) на протяжении следующих сроков: 5, 15, 30, 45 мин., 1, 1,5, 2, 4, 6, 10, 15, 25 и 48 час. Дейтерирование проводили при pD 3, 7, 11 и при температурах 2 и 28°. По окончании срока экспозиции суспензию клейковины в D_2O быстро замораживали в жидком азоте и полностью удаляли D_2O быстрой заморозкой в жидком азоте и полностью удаляли D_2O лиофилизацией при постоянном охлаждении сосуда с клейковиной до -20° , чтобы исключить возможность обратного D — H -обмена.

В сухих препаратах дейтерированной клейковины количественно определяли содержание дейтерия с помощью специального дейтероанализатора (⁶) в Центральном институте изотопов и лучевой техники Германской академии наук, в Лейпциге (ГДР). Содержание дейтерия в белке выражали в атомных процентах.

На рис. 1 показана кинетика дейтерирования крепкой и слабой клейковин при температурах 2 и 28° и pD 7. Видно, что при одинаковых сроках экспозиции крепкая клейковина дейтерируется в большей степени, чем слабая. Повышение температуры значительно увеличивает степень дейтерирования той и другой клейковин. Общий ход кинетических кривых характеризуется быстрым подъемом в течение первых 30—60 мин. дейтерирования, после чего процесс замедляется, однако очень медленное увеличение содержания дейтерия в клейковине не заканчивается даже через

48 час. После 10 час. дейтерирования слабая клейковина содержала в зависимости от температуры 23,6—30,9 ат.%, а крепкая 25,9—33,2 ат.% дейтерия.

Рис. 2 показывает, что при увеличении pD от 3 до 11 степень дейтерирования клейковины закономерно возрастает. Это наблюдается как для крепкой, так и для слабой клейковины. Следует отметить, что кинетика дейтерирования клейковины в зависимости от температуры и pD хорошо согласуется с литературными данными для других белков ⁽¹⁾.

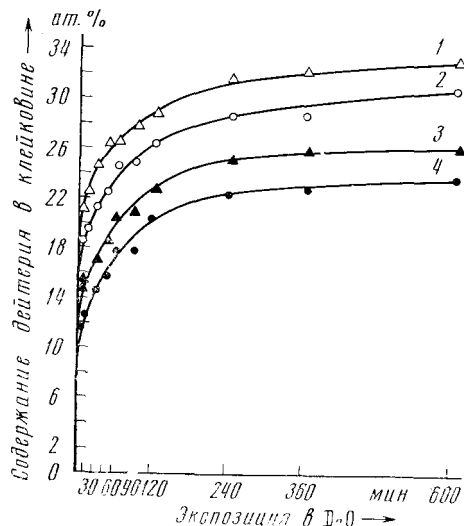


Рис. 1

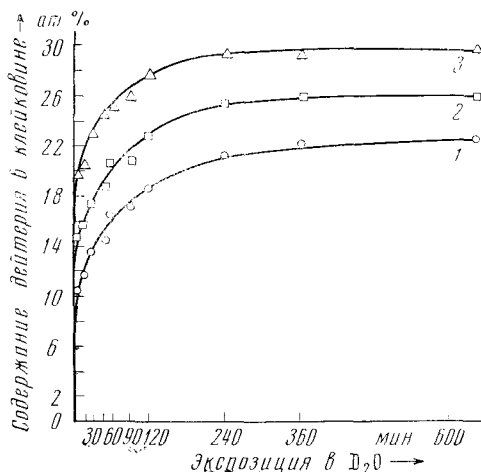


Рис. 2

Рис. 1. Влияние температуры на кинетику дейтерирования крепкой и слабой клейковины (pD 7). Крепкая клейковина, температура 28° (1) и 2° (3); слабая клейковина, температура 28° (2) и 2° (4)

Рис. 2. Влияние pD на кинетику дейтерирования клейковины. (Крепкая клейковина; температура 2°.) 1— pD 3, 2— pD 7, 3— pD 11

Рис. 3. Сравнение кинетики дейтерирования клейковины (1) и кинетики изменения ее реологических свойств (2) под влиянием D₂O. Слабая клейковина; pD 7; температура 2°. $t_{исх}$ — время истечения исходной клейковины в пластометре, t — то же, после экспозиции клейковины в D₂O

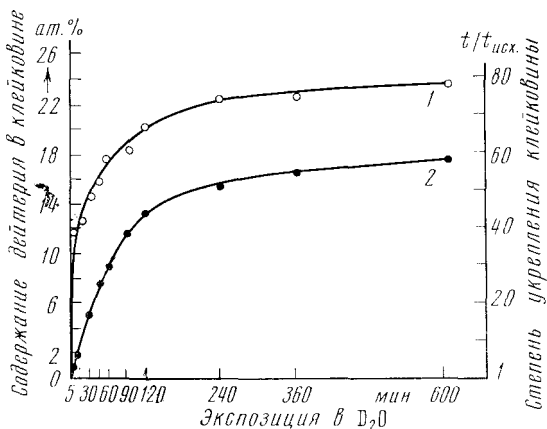


Рис. 3

Если сравнить кинетику дейтерирования клейковины и кинетику изменения ее реологических свойств под влиянием тяжелой воды (рис. 3), то можно видеть, что оба эти процесса протекают аналогично. Чем больше лабильного водорода заместилось в клейковинном белке на дейтерий, тем сильнее укреплелась клейковина под влиянием D₂O. Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что при разных сроках экспозиции крепкая клейковина укрепляется под влиянием D₂O в значительно большей степени, чем слабая.

Повышение температуры усиливает влияние D_2O на реологические свойства клейковины, что соответствует большей степени дейтерирования клейковинного белка (рис. 1).

Таблица 1

Влияние D_2O на реологические свойства слабой и крепкой клейковины в зависимости от температуры (pD 7)

Время экспозиции в D_2O , мин.	Степень укреплени клейковины, $t/t_{исх}$	
	20°	30°
5	2,8	3,7
	3,5	9,3
10	3,4	4,8
	8,0	24,1
15	3,6	6,7
	23,7	55,8

Примечание. Над чертой — данные для слабой клейковины, под чертой — для крепкой клейковины.

Таблица 2

Степень дейтерирования и реологические свойства слабой и крепкой клейковин в зависимости от pD тяжелой воды

pD	Содержание дейтерия в клейковине, ат. %	Степень укреплени клейковины, $t/t_{исх}$
3,0	9,5	2,5
	11,5	22,3
7,0	12,4	4,9
	15,4	24,7
11,0	16,5	5,9
	20,2	31,8

Примечание. Над чертой — данные для слабой клейковины, под чертой — для крепкой клейковины. Экспозиция в D_2O 15 мин.

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что по мере увеличения pD тяжелой воды возрастает как содержание дейтерия в клейковине, так и степень ее укреплени после 15-минутной экспозиции в D_2O .

Таким образом, полученные данные подтверждают, что причиной изменения реологических свойств клейковины под влиянием D_2O является дейтерирование клейковинного белка.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
15 XII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Хвидт, С. Нильсен, В сборн. Химия белка, 1969, стр. 136. ² В. Л. Кретович, А. Б. Вакар, ДАН, 155, 465 (1964). ³ А. Б. Вакар, А. Я. Пумпянский, Л. В. Семенова, Прикл. биохим. и микробиол., 1, 5 (1965). ⁴ А. В. Vakar, W. L. Kretovich, V. S. Demidov, Studia Biophys., 4, 85 (1967). ⁵ А. И. Пучкова, Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства, М., 1971. ⁶ G. Müller, K. Mauersberger, H. Sprinz, Analyse stabiler Isotope durch spezielle Methoden, Berlin, 1969, S. 28.