

М. И. КНЯГИНИЧЕВ, А. С. ОКУНЕВ, Е. Е. МЕЕРЗОН, В. И. КОМАРОВ

ВЛИЯНИЕ НА СТРУКТУРУ КЛЕЙКОВИННЫХ БЕЛКОВ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ И ГИДРОФОБНЫХ ВЕЩЕСТВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 14 VIII 1972)

Теория химического строения достаточно хорошо отражает химическую природу белка. Однако его свойства зависят не только от химического строения, но и от физической структуры, которая обуславливается не только химической связью. С возникновением молекулярной биологии биохимии и биофизики стали в комплексе рассматривать строение, структуру и свойства ⁽¹⁾. Изучение белковых структур показывает, что они могут обратимо переходить по кинетике кооперативного перехода в узком интервале (10—15°) температур ⁽²⁾. Водородным связям придавали очень большое значение ⁽³⁾ в структурообразовании ⁽⁴⁾ белков; однако не все это признают ^(5, 7). Известно, что белки диссоциируют и распадаются на отдельные субъединицы ⁽⁸⁾ с включением других веществ ⁽⁹⁾ и разрывом нехимических связей ⁽¹⁰⁾. В биополимерах обнаружены микронеплотности, изменяющие их свойства ⁽¹¹⁾. Учитывая, что микронеплотности могут не пропустить жидкости, так как большинство из них структурированы ⁽¹²⁾, мы использовали разные жидкости, которые при комнатной температуре образуют газовую фазу.

Изучалась 70-процентная мука твердых (дурум), сильных и слабых сортов пшеницы и клейковина из них, высушенная в вакууме, размолотая до прохода через сито 0,25—0,50 мм. Из летучих растворителей употребляли эфиры, кислоты, кетоны, углеводороды и другие вещества. Опыты проводили в эксикаторе, на дно которого ставили склянку с веществом, образующим газовую фазу при комнатной температуре, на сетку ставили в чашках Петри муку или размолотую сухую клейковину и выдерживали от 2 до 56 суток.

В табл. 1 приведены результаты по изменению физико-химических свойств муки под влиянием разных веществ.

Из табл. 1 видно, что по сравнению с другими веществами газовая фаза ЭА быстрее разрушала структуру клейковинных белков в муке. Следует отметить, что отмытая клейковина после действия испытанных веществ была различной: от короткорвущейся до эластичной, а под влиянием *n*-гексана она была липкой. Клейковинные белки в муке твердых пшениц разрушаются медленнее, чем у мягких пшениц.

Разрушение структуры клейковинных белков ЭА не вызвано гидролизом полипептидных цепей, на что указывают результаты содержания аминного азота (табл. 2). Разрушение ЭА структуры клейковины делает ее растворимой в воде по сравнению с контролем муки сильного сорта пшеницы до 4,5 раз, а в муке слабого сорта пшеницы — больше, чем в 2 раза. ЭА разрывает связи между полипептидными цепями клейковины и создает возможность связывать большее количество молекул воды ⁽⁶⁾, что способствует их растворению в воде ^(5, 6).

Мы отказались от определения солерастворимой фракции белков, так как увеличение концентрации растворов сернокислого калия от 0 до 10% уменьшает растворимость белков соответственно с 90,4 до 35,4%.

Таблица 1

Название веществ	Срок действия, сутки	Содержание клейковины, %		Показания альвеографа $\cdot 10^{-3}$ дж. теста		Набухание муки (13)	
		сильная	слабая	сильная	слабая	сильная	слабая
Контроль	—	35,0	27,8	317	83	72	31
Этилacetат (ЭА)	2	0,0	0,0	45,4	33,8	35	33
	14	0,0	0,0	45,4	30,0	38	19
Изобутилацетат	14	Следы	Следы	163,4	46,3	68	18
	42	0,0	Следы	—	—	—	—
Изоамилацетат	14	26,5	25,5	151,4	47,1	71	18
	35	Следы	12,5	—	—	—	—
	56	0,0	0,0	—	—	—	—
Метилэтилкетон	14	36,8	25,2	137,2	46,6	72	15
n-Гексан	14	36,8	25,1	186,7	45,7	71	20
	48	35,4	20,5	—	—	—	—
Четыреххлористый углерод	14	36,0	28,2	171,2	69,0	48	16
	48	26,0	24,5	—	—	—	—

Таблица 2

Мука пшеницы	Содержание аминного азота, мг на 100 г муки	Азот			
		водорастворимый, общее количество, %	осаждаемый ТХУ, % от содержания водорастворимого азота	глиадин, %	глютеин, %
Сильный сорт (Саратовская 29)	0,96	20,6	38,2	44,9	34,5
	0,96	91,3	84,6	2,1	6,7
Слабый сорт (Восход)	1,92	29,2	19,4	36,3	35,6
	0,96	64,6	57,1	2,8	29,0

Примечание. Числа над чертой — контроль, под чертой — опыт.

Таблица 3

Мука пшеницы	Контроль	Содержание сырой клейковины, %		
		I	II	III
Твердой (дурум) (Харьковская 4)	58,6	57,3	57,3	51,3
Сильной (Саратовская 29)	44,0	34,0	20,0	20,7
Слабой (Акмолинская 1)	42,0	Следы	0,0	0,0

Таблица 4

Влажность муки, %	Содержание сырой клейковины (%) в муке, обработанной ЭА в течение 7 суток	
	сильной пшеницы	слабой пшеницы
Контроль (15%)	35,0	27,8
0,0	30,3	18,0
5,5	31,8	15,8
10,0	0,0	0,0
19,0	0,0	0,0

Примечание. Растворено ЭА в воде: в I — 2%, в II — 4%, в III — 6%.

Действие ЭА в газовой фазе на клейковинные белки муки изменяется в зависимости от условий произрастания сортов пшениц.

ЭА растворяет при комнатной температуре до 8% воды. В табл. 3 показано содержание сырой клейковины при прибавлении различных количеств ЭА к воде, на которой замешивалась мука для отмывки клейковины по ГОСТ. Из табл. 3 видно, что силы, образующие структуру между полипептидными цепями клейковинных белков, у твердых пшениц разрушаются ЭА значительно медленнее, чем у мягких пшениц.

Многие другие вещества, образующие газовую фазу при комнатной температуре, разрушают структуру клейковины: этилформиат, пропилацетат, муравьиная кислота, бензальдегид, фурфурол и др.

Клейковина сухая и размолотая под действием ЭА так же распадается, как в муке, и делается растворимой в воде. Однако она в отличие от муки при хранении десорбирует ЭА и восстанавливает структуру, но изменяет ее в зависимости от действующих на нее веществ. Из этих наблюдений следует прийти к выводу, что структура клейковины, выделенной отмыванием, и структура клейковины, находящейся в муке,

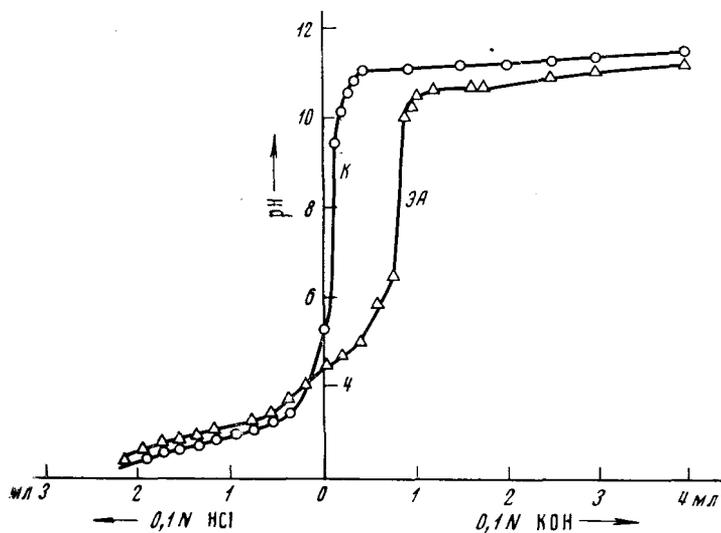


Рис. 1. Изменение pH титрования кислотой и щелочью водной суспензии клейковины. К — контроль

не одинакова. Клейковину, отмытую из муки, некоторые авторы считают артефактом⁽¹⁴⁾. Влажность муки оказывает влияние на сроки разрушения ЭА структуры клейковины, как показано в табл. 4.

Только при влажности муки выше 5% ЭА способен разрушить структуру клейковины. При низкой влажности белки с водой образуют единую систему. В этих опытах наблюдалось, что мука сильного сорта при 19% влажности уплотнялась и приобретала запах уксусной кислоты. Последняя могла образоваться в результате гидролиза ЭА водой; реакция могла быть катализована расщепленными клейковинными белками.

На рис. 1 представлены кривые титрования 0,1N растворами HCl и KOH суспензий, содержащих 0,5 г клейковины контрольной или разрушенной ЭА в 25 мл воды; клейковина была вакуумирована от ЭА при 40° 2 час., при 60° 2 час. и при 100° 1 час.

Из рисунка 1 видно, что титрование кислотой не дает различий между клейковиной с разрушенной структурой и контролем; различия начинаются при титровании щелочью. Разрушенная клейковина отличается от контрольной только по кислотным группам. Можно допустить, что ЭА сорбируется на $-\text{COOH}$ или других кислых группах и при титровании щелочью они освобождаются от ЭА.

Испыгание на осмотические свойства муки с разрушенной ЭА структурой белков⁽¹⁵⁾ показывали уменьшение осмотического давления по сравнению с контролем приблизительно в 2 раза. Разрушение структуры белков в муке вызывает иные структурированные системы с водой, что отражается на их осмотическом давлении.

Представляет интерес различие по изоонным (изоэлектрическим) точкам⁽¹⁵⁾ структурной и разрушенной ЭА клейковины. Последняя у слабых сортов снижается с 5,05 до 4,42, у сильных — с 4,82 до 4,32, а у твердых — с 4,82 до 4,37. Эта разница очень большая, так как $\text{pH} = \lg C_{\text{H}^+}$; слабые пшеницы имеют выделенную клейковину, которая от-

дает в раствор в 4 раза большее количество свободных ионов водорода, чем твердые или сильные мягкие пшеницы; при изоэлектрической точке белки являются биполярными ионами.

Исследование структуры клейковинных белков было произведено с помощью ацетилацетона, который в энольной форме реагирует с аминными группами (¹⁶) концевых аминокислот пептидов, состоящих из 2—10 аминокислотных остатков (табл. 5).

Таблица 5

Содержание сырой клейковины в муке, обработанной газовой фазой веществ 7 суток, %

Мука пшеницы	Контроль	Этилацетат	Ацетилацетон	Ацетилацетон, а затем этилацетат
Сильной	34,1	0,0	28,5	24,4
Слабой	33,7	0,0	32,6	25,1

Из табл. 5 видно, что предварительная обработка муки ацетилацетоном понижает содержание сырой клейковины в муке по сравнению с контролем. Однако он предохраняет от разрушений действием ЭА структуры клейковинных белков. Не исключено, что субъединицы белка состоят из низкомолекулярных пептидов; кроме того, боковые аминогруппы аминокислот полипептидной цепи клейковины, по-видимому, также реагируют с ацетилацетоном, поскольку они являются свободными.

Результаты, изложенные выше, показывают, что структура клейковинных белков достаточно подвижна и может распадаться на субъединицы, которые более чем на 90% растворимы в воде; наблюдается резкое снижение глиадина и глютеина вследствие их разрушения. Изменчивость структуры вызывается сложностью взаимодействия электрических групп, возникающими акцепторно-донорными, семиполярными свойствами азота, кислорода и серы, входящих в белок, а также конформацией и каталитическими свойствами белка; роль воды донора и акцептора протонов также велика. ЭА и другие вещества в газовой или жидкой фазах действуют на упомянутые силы (связи), разрушая и изменяя структуру клейковинных белков, выделенных из муки или находящихся в ней. Эти силы (связи) плохо изучены, им должно быть уделено главное внимание при изучении структуры белков других биополимеров.

Ленинградский технологический институт
холодильной промышленности
Всесоюзный научно-исследовательский
институт растениеводства им. Н. И. Вавилова

Поступило
4 VIII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. В. Волькенштейн, Сборн. статей: Молекулярная биофизика, М., 1965, стр. 5; С. Э. Шноль, там же, стр. 56. ² С. В. Конев, В. М. Мажуль и др., Тез. II Всесоюз. биохимич. съезда, сек. 2, 1969, стр. 74; Г. В. Троицкий, В. Н. Завьялов, Вопросы биосинтеза, структуры биополимеров, Киев, 1971. ³ Дж. Пинментель, О. Мак-Клеллан, Водородная связь, М., 1964. ⁴ Пшеница и оценка ее качества, М., 1968. ⁵ М. И. Княгиничев, А. И. Марушев, Б. И. Черняк, Тр. II Всесоюз. биохимич. съезда, сек. 22, 1969. ⁶ А. В. Думанский, Любопытность дисперсных систем, 1960. ⁷ R. E. Dickerson, D. Eisenberg et al., VII Intern. Congr. Biochem., 1970, p. 13. ⁸ Ю. Б. Магаршак, В. Е. Стефанов, ДАН, 204, № 2, 474 (1972). ⁹ R. Axen, P. Vretblad, Acta chem. scand., 25, 2711 (1971). ¹⁰ M. Nisazawa, J. Macrom. Sci. Chem., A5, N 5, 933, 939 (1971); A. J. Norfinger, Biopolymers, 10, 1299 (1971). ¹¹ М. И. Княгиничев, Журн. Всесоюз. хим. общ. им. Д. И. Менделеева, 10, № 3, 277 (1965); М. И. Княгиничев, Die Stärke, 22, 12, 435 (1970). ¹² С. А. Самойлов, Структура водных растворов электролитов и гидратации ионов, Изд. АН СССР, 1957. ¹³ М. И. Княгиничев, В. И. Комаров, Вопросы качества зерна и методы его оценки. Тр. совещ. Всесоюз. н.-и. инст. зерна, в. 50—51, 93 (1964). ¹⁴ E. A. Fisher, P. Halton, Cereal Chem., 13, 575 (1936). ¹⁵ О. Н. Григоров и др., Руководство к практическим работам по коллоидн. химии, М.—Л., 1964. ¹⁶ K. Heyns, H. F. Grütz macher, Tetrahedron Letters, № 26, 1761 (1963); V. Vason, E. Jellum et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 37, № 6, 878 (1969).