

И. А. СМОРОДИНЦЕВ и С. А. ПАВЛОВ

К МЕТОДИКЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЭФФИЦИЕНТА D

(Представлено академиком А. А. Рихтером 16 IV 1937)

Определение коэффициента D (1) имеет большое значение при оценке качества мясопродуктов (2) и кожевенного сырья (3) и дает ценные результаты при изучении динамики процессов изменения белковых материалов.

В процессах обмена веществ при автолизе и при гидролизе тканей наряду с освобождением минеральных и органических кислот, которые непосредственно можно оттитровать щелочью, образуются также аминокислоты и другие амфолиты, константы диссоциации которых не позволяют их оттитровать в водной среде. В этом случае на помощь приходит метод Форемана (4), теоретически проработанный Гаррисом (5). На принципах этого метода основано определение коэффициента D .

В виду непостоянства состава растворов коллоидного гидрата окиси железа и примеси желтой окраски, затрудняющей титрование с фенолфталеином, мы решили при определении коэффициента D применить для удаления белков осаждение гидратом окиси алюминия. Предварительной пробой устанавливают количество 0.1 нормального раствора КОН, необходимое для осаждения $Al(OH)_3$ из 10 мл 1% раствора сернокислого алюминия до нейтральной реакции на бромтимоловую голубую. К 100 мл раствора, из которого необходимо осадить белки, добавляют 25 мл 1% $Al_2(SO_4)_3$ и соответствующее количество 0.1 нормального раствора КОН. Осадок белка отфильтровывают и в фильтрате обычным путем определяют коэффициент D .

Сравнительное определение коэффициента D после осаждения белков коллоидным гидратом окиси железа и гидратом окиси алюминия; влияние нагревания на величину коэффициента D

200 г свежей бычины извлекались 700 мл воды в течение 2 час. на взбалтывательной машине. Из 200 мл вытяжки белки были осаждены 40 каплями коллоидного гидрата окиси железа, к другим 200 мл той же вытяжки было добавлено 25 мл 1% раствора $Al_2(SO_4)_3$ и 13.3 мл 0.1 n КОН. В обоих случаях часть раствора подвергнута 10-минутному кипячению, часть оставлена на холоду. В третьей порции вытяжки белок был удален простым кипячением. В фильтратах при $pH=5.6$ по удалении осадков белка обычным путем определялся коэффициент D (табл. 1).

Таблица 1

Свежая бычина

	Удаление белков					
	гидратом окиси железа		гидратом окиси алюминия		нагреванием	
	на холоду	при кипяч.	на холоду	при кипяч.	на холоду	при кипяч.
<i>E</i>	2 мл	2.1 мл	0.04 мл	0.09 мл	0.08 мл	0.08 мл
<i>F</i>	2.61 »	2.5 »	0.32 »	0.29 »	0.6 »	0.38 »
Коэф. <i>D</i>	0.43 »	0.3 »	0.2 »	0.18 »	0.37 »	0.27 »

Этот опыт показывает, что при добавлении сравнительно небольшого количества коллоидного гидрата окиси железа в 50 раз повышается обычная кислотность среды по сравнению с нейтрализованным гидратом алюминия; тот же избыток кислотности повидимому обуславливает некоторое повышение величины *F*, в силу чего и коэффициент *D* получается вдвое выше, чем при удалении белков алюминием. Во всех случаях после кипячения величина коэффициента *D* понижается за счет увеличения фактора *E*.

Опыт с бычиной другого происхождения был повторен в тех же условиях. Результаты даны в табл. 2.

Таблица 2

Свежая бычина

	Удаление белков			
	гидратом окиси железа		гидратом окиси алюминия	
	на холоду	при кипяч.	на холоду	при кипяч.
<i>E</i>	1.8 мл	2.1 мл	0.06 мл	0.08 мл
<i>F</i>	2.6 »	2.5 »	0.48 »	0.32 »
Коэф. <i>D</i>	0.56 »	0.28 »	0.41 »	0.24 »

Снова мы убеждаемся, что введение железа повышает величину *E* в 25—30 раз, а «алкогольную кислотность» *F* в 5 раз, вследствие чего величина коэффициента *D* увеличивается в 1¹/₂ раза по сравнению с параллельным осаждением того же экстракта гидратом окиси алюминия. После кипячения в обоих случаях коэффициент *D* уменьшается за счет увеличения общей кислотности (*E*).

Коэффициент *D* в растворах глицина и пептона

Опыты сравнительной обработки растворов гидратами окиси железа и алюминия были проведены на растворах гликоколла и пептона: а) 50 мл 1% раствора гликоколла были протитрованы в присутствии алкоголя

и без него; б) 50 мл 1% гликоколла обработаны 10 каплями коллоидного гидрата окиси железа; в) к 200 мл 1% раствора гликоколла добавлено 25 мл 1% раствора $Al_2(SO_4)_3$ и 13.3 мл 0.1 *n* КОН; во всех трех фильтрах обычным способом определена величина коэффициента *D* в 50 мл фильтра.

Таблица 3

1% раствор гликоколла

	О с а ж д е н и е					
	а) без добавления гидрата окиси железа и алюминия		б) гидратом окиси железа		в) гидратом окиси алюминия	
	на холоду	при кипяч.	на холоду	при кипяч.	на холоду	при кипяч.
<i>E</i>	0.6 мл	2.8 мл	2.7 мл	5.9 мл	0.2 мл	2.1 мл
<i>F</i>	13.3 »	18.0 »	26.0 »	26.6 »	8.5 »	12.1 »
Коэф. <i>D</i> (на 1 г)	2.54 »	3.04 »	4.66 »	4.14 »	1.97 »	2.38 »

Обработка гидратом окиси железа чистой аминокислоты в несколько раз увеличивает общую кислотность (*E*), а также, хотя и в меньшей степени, и величину *F*, отчего коэффициент *D* повышается примерно вдвое. Обработка гидратом алюминия, наоборот, понижает как общую кислотность (*E*), так и «алкогольную» кислотность (*F*), что влечет за собой уменьшение коэффициента *D* по сравнению с раствором гликоколла, ни чем необработанным. Во всех случаях кипячение увеличивает общую кислотность, но «алкогольная кислотность» повышается при алюминии и в растворе без всякого добавления, благодаря чему в опытах а) и в) возрастает коэффициент *D* в отличие от вытяжки из шкуры; после обработки гидратом окиси железа [б)] величина *F* почти не изменяется и коэффициент *D* уменьшается так же, как мы это наблюдали на вытяжках из бычины.

Как видно из табл. 3, обработка алюминием дает величину коэффициента *D*, наиболее близкую к величине чистого раствора гликоколла. Разницу в показателях *E*, *F* и *D* между чистым раствором гликоколла и раствором, обработанным гидратом окиси алюминия, легко объяснить частичной нейтрализацией раствора при добавлении нейтрализованной щелочью алюминиевой соли.

Аналогичные опыты проделаны с 1% раствором продажного пептона: а) 50 мл 1% раствора пептона протитрованы в присутствии и в отсутствии спирта; б) 50 мл 1% пептона обработаны 10 каплями коллоидного гидрата окиси железа; в) к 200 мл 1% пептона добавлено 25 мл 1% раствора $Al_2(SO_4)_3$ и 13.3 мл 0.1 *n* КОН; во всех трех случаях обычным путем определена величина *D* в 50 мл фильтра и перечислена на 1 г сухого вещества.

В растворе пептона коллоидный гидрат окиси железа также усиливает кислотность общую (*E*) и «алкогольную» (*F*), отчего коэффициент *D* мало меняется. Добавление гидрата окиси алюминия, наоборот, несколько понижает факторы *E* и *F*, и это не очень сильно отражается на величине коэффициента *D*. Кипячение во всех случаях повышает *E*, что влечет за собой некоторое снижение коэффициента *D*.

Внесение коллоидного гидрата окиси железа всегда повышает кислотность и может вызвать дополнительный гидролиз (особенно во время кипя-

1% раствор пептона

	О с а ж д е н и е					
	а) без добавления гидрата окиси алюминия и железа		б) гидратом окиси железа		в) гидратом окиси алюминия	
	на холоду	при кипяч.	на холоду	при кипяч.	на холоду	при кипяч.
<i>E</i>	1.2 мл	1.8 мл	1.8 мл	2.2 мл	0.7 мл	1.1 мл
<i>F</i>	3.4 »	3.9 »	3.9 »	3.9 »	2.4 »	2.6 »
Коэф. <i>D</i>	0.44 »	0.3 »	0.42 »	0.34 »	0.4 »	0.36 »

чения), изменяющий картину хода изучаемого процесса. Удаление белков гидратом окиси алюминия на холоду вносит минимальные изменения в среду и может быть рекомендовано во всех подобных случаях.

М е т о д и к а о п р е д е л е н и я к о э ф ф и ц и е н т а *D*

На основании этих опытов, которые неоднократно нами были повторены, мы предлагаем такую методику определения коэффициента *D*. Предварительной пробой определяют количество 0.1 *n* КОН, которое необходимо добавить к 1% раствору $Al_2(SO_4)_3^*$ до нейтральной реакции на бромтимоловую голубую. К 100 мл испытуемого раствора прибавляют 25 мл 1% раствора $Al_2(SO_4)_3$ и соответствующее количество 0.1 *n* КОН. а) После пятиминутного отстаивания осадок отфильтровывают, из фильтрата отмеряют 50 мл и титруют щелочью в присутствии фенолфталеина до слабозимого окрашивания (величина *E*—общая кислотность). После этого добавляют 55 мл 96° спирта и продолжают титровать до розового окрашивания (величина *F*—«алкогольная кислотность»)**. Разность в потребленной щелочи между алкогольным (*F*) и водным титрованием (*E*) перечисленную в нормальных эквивалентах щелочи на 100 г ткани при жидкостном коэффициенте 1 : 4, мы называем коэффициентом *D*:

$$D = \frac{(F - E) \cdot (100 + 25 + a) \cdot 100 \cdot 4}{100 \cdot 40 \cdot 50}$$

Биохимическая лаборатория.
Всесоюзный институт кожевенной промышленности.
Москва.

Поступило
16 IV 1937.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ И. А. Смородинцев и А. Н. Адова, Практикум биологической химии, стр. 136 (1934); И. А. Смородинцев, Частная биохимия, стр. 124 (1936); С. А. Павлов, Техно-хим. контр., 142 (1935). ² J. A. Smorodincew u. P. A. Tzyganowa, Journ. of Bioch., 23, 449 (1936). ³ И. С. Смородинцев и С. А. Павлов, Кожев. и обувн. промыш. СССР, 13, 598 (1934); 14, 370 (1935). ⁴ F. W. Foreman, Biochem. Journ., 14, 451 (1920). ⁵ L. J. Harris, Proc. Roy. Soc. L., 95, 440, 500 (1923); 97, 364 (1925); 104, 412 (1929); Journ. Chem. Soc., 123, 3294 (1923)

* Или алюминиевых квасцов.

** Можно со спиртом титровать в отдельной пробе.