

А. ПАСЫНСКИЙ и А. ПОПОВА

## ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЖЕЛАТИНЫ С ДУБИТЕЛЯМИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 29 XI 1950)

При дублении коллагена на процессы непосредственного взаимодействия коллагена и таннидов всегда в значительной мере накладываются процессы, связанные с кинетикой дубления. Вследствие характерной для коллагена сложной морфологической структуры результаты дубления весьма сильно зависят от условий диффузии растворов дубителей, от их степени дисперсности, от условий подготовки голья перед дублением и др. Кроме того, при обычной методике определения количества связанного дубителя (по величине привеса дубленого образца после тщательной отмывки его от избытка дубителя водой, буферным раствором или спиртом) всегда нарушается исходное равновесие белка относительно дубителя. Таким образом, как условия дубления, так и методика определения количества связанного дубителя обычно соответствуют неравновесным условиям, и для того, чтобы изучить процессы непосредственного взаимодействия коллагена и дубителей при равновесных условиях, необходимо по возможности устранить действие указанных выше факторов.

В настоящей работе для устранения факторов, приводящих к замедленной кинетике процессов дубления, во-первых, были применены вместо коллагена студни или растворы желатины, которая по аминокислотному составу и химическим свойствам достаточно близко моделирует свойства коллагена (<sup>1</sup>), и, во-вторых, был применен метод прямого объемного смешения растворов дубителей и желатины вместо используемого иногда метода наслаивания растворов дубителей на студни желатины, при котором полностью сохраняется действие указанных выше кинетических факторов. В отношении же метода определения количества связанного дубителя мы использовали то обстоятельство, что при дублении коллагена или желатины происходит блокировка части ионогенных групп белка и дубителей, вследствие чего изменяется кислотно-щелочное равновесие в растворе. Следует указать, что эта блокировка может объясняться различным образом: непосредственным реагированием ионогенных групп белка и дубителей между собою, пространственным ограничением доступности этих групп, изменением реактивности этих групп при молекулярной адсорбции дубителя на белке и т. п.

Для выявления смещения кислотно-щелочного равновесия мы проводили сопоставление кривых потенциометрического титрования желатины и изучаемого дубителя, взятых отдельно, с кривой титрования смеси обоих растворов. Отклонение хода кривой титрования смеси желатины и дубителя от аддитивной кривой, полученной простым

суммированием кривых титрования отдельных компонентов смеси, могло служить непосредственной мерой взаимодействия желатины и дубителя в данной зоне pH. Таким образом, это взаимодействие измерялось нами по степени блокирования ионогенных групп желатины и дубителя, отражающейся на ходе кривых потенциометрического титрования. Установление равновесия непосредственно проявлялось в постоянстве измеряемых значений pH. Данный способ измерений, кроме того, позволял устранить колебания в свойствах индивидуальных образцов, взятых для исследования, так как при сопоставлении кривых эти отклонения автоматически исключались.

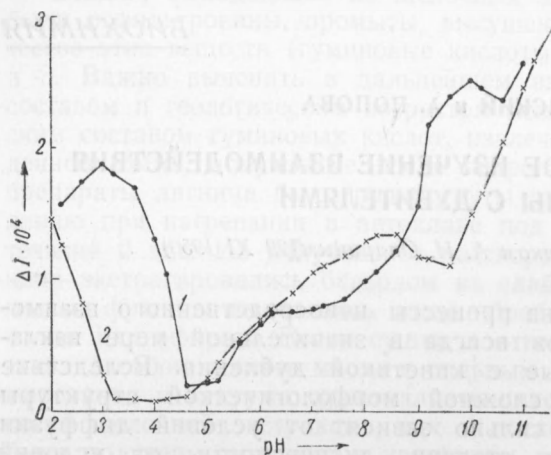


Рис. 1. 1 — желатина — таннин; 2 — желатина — дубовый экстракт

Для 2% растворов желатины pH составлял 5,05, электропроводность  $1,8 \cdot 10^{-5} \text{ ом}^{-1}$ . Из растительных дубителей были взяты чистый таннин (Кальбаум) и дубовый экстракт; из минеральных дубителей были взяты хромовые квасцы, хромпик и алюминиевые квасцы; все соли были химически чистые. Все растворы готовились при концентрации 1—2%; после приготовления растворы отстаивались (растворы квасцов отстаивались 5—7 дней) и фильтровались.

Потенциометрические измерения производились со стеклянным электродом, причем в области pH 8—12 измерения производились в атмосфере азота и для титрования применялись растворы 1,0 N KOH. Все титруемые растворы готовились в одинаковом объеме, причем концентрация каждого компонента была одинаковой. Смеси желатины и дубителя перед титрованием выдерживались в течение нескольких часов, а в процессе титрования кислотой или щелочью каждая точка выдерживалась от 15 до 45 мин., до достижения постоянства значений pH. Все титрование повторялось дважды на различных образцах, с хорошей воспроизводимостью.

Величина связывания  $\text{H}^+$ -ионов ( $\text{C}_{\text{H}}^{\text{св}}$ ) определялась по формуле  $\text{C}_{\text{H}}^{\text{св}} = \text{C}_I - (\text{a}_{\text{H}} / f_{\text{a}})$ , где  $\text{C}_I$  — аналитическая (общая) концентрация  $\text{H}^+$ -ионов в растворе;  $\text{a}_{\text{H}}$  — активная концентрация  $\text{H}^+$ -ионов, измеряемая потенциометрически; и  $f_{\text{a}}$  — фактор активности  $\text{H}^+$ -ионов в растворе, который приравняется  $f_{\text{a}}$  в чистой кислоте при той же активной концентрации  $\text{H}^+$ -ионов. Аналогично вычислялось связанное количество  $\text{OH}^-$ -ионов при титровании щелочью. По равновесным значениям pH и величинам  $\text{C}_{\text{H}}^{\text{св}}$  или  $\text{C}_{\text{OH}}^{\text{св}}$  строились три кривые титрования для каждой изученной системы желатина — дубитель и отдельных компонентов системы. Затем вычислялись значения алгебраических разностей  $\Delta I$  между кривой титрования смеси и суммой кривых титрования компонентов смеси, которые, как указывалось, характеризуют

взаимодействие желатины и дубителя в рассматриваемом интервале pH. На рис. 1 и 2 приведены кривые значений разностей  $\Delta I$ , являющиеся, в известной мере, сводными результатами работы, так как каждая кривая на рис. 1 и 2 является результатом трех кривых титрования.

Данные рис. 1 и 2 показывают, что величины  $\Delta I$ -отклонений кривой титрования смеси от аддитивности обнаруживают характерный ход с изменением pH. Для растительных дубителей (см. рис. 1) эта величина отлична от нуля при всех pH (что отражает влияние неионных взаимодействий: реакции по пептидным группам белка, молекулярной адсорбции дубителя на белке и т. п.), но в области изоэлектрической точки (при pH 4—5) она имеет ясно выраженный минимум. В кислой области от изоточки эта величина увеличивается по мере подкисления, а в щелочной области она достигает относительного максимума при pH около 8,5—9,5 (для исследованных дубителей). В целом, ход кривой зависимости  $\Delta I$  от pH вполне аналогичен кривым зависимости степени дубления коллагена растительными дубителями от pH, полученными методом вымывания. Для минеральных дубителей (см. рис. 2) характерные перегибы кривой  $\Delta I$  наблюдаются при pH около 7,0 для хромовых квасцов, и при pH около 5,0 — для алюминиевых квасцов, т. е. в зоне образования, соответственно, основных солей хрома и алюминия.

Отношение величины  $\Delta I$  к величине поглощения дубителем при том же значении pH позволяет судить об относительной блокировке ионных групп дубителя, т. е. приблизительно определить количество связанного белком дубителя. Получаемые этим путем величины связывания дубителя оказываются близкими к тем значениям, которые определяются обычным методом вымывания, что следует отметить, учитывая полное различие обоих методов, однако между результатами обоих методов существуют и характерные различия.

Для растительных дубителей получаемые нами значения лежат несколько выше значений, получаемых по методу вымывания: например, максимальное связывание таннидов составляет по методу вымывания 0,5—0,6 г/г<sup>(2)</sup>, а по нашим данным 0,9 г/г; связывание дубового экстракта при pH 6,0 составляет по методу вымывания 0,3—0,4 г/г<sup>(2)</sup>, а по нашим данным 0,5 г/г и т. д. Напротив, для минеральных дубителей по нашему методу получаются несомненно более низкие значения связывания дубителя, чем по методу невымываемого остатка, например, 0,02 г  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  или  $\text{Al}_2\text{O}_3$  на 1 г желатины вместо обычно получаемых 0,035—0,05 г/г (в зависимости от условий дубления)<sup>(2)</sup>.

Это различие, повидному, объясняется тем, что в определяемое потенциометрическим методом количество связанного растительного дубителя входит, помимо невымываемого остатка, также некоторая часть водовымываемых продуктов, тогда как при минеральном дублении количество невымываемого остатка определяется втягиванием в координационную сферу атомов хрома, соединяющих различные

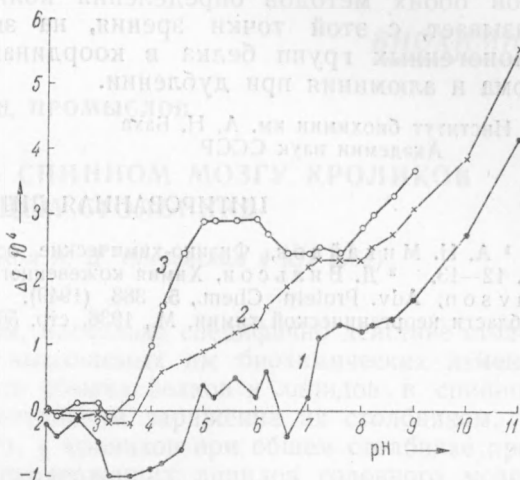


Рис. 2. 1 — желатина — хромик; 2 — желатина — хромовые квасцы; 3 — желатина — алюминиевые квасцы

белковые цепи, не только ионогенных групп, учитываемых потенциометрическим методом, но также гидроксильных, пептидных и других неионогенных групп белковых цепей<sup>(3)</sup>. Теория дубления алюминиевыми квасцами разработана еще весьма слабо, но, учитывая возможность координационной связи с атомом алюминия 6—12 молекул воды<sup>(4)</sup>, можно предполагать, что и в данном случае с атомом алюминия могут координироваться полярные неионогенные группы белка (гидроксильные, пептидные и другие группы). Сопоставление результатов обоих методов определения количества связанного дубителя указывает, с этой точки зрения, на значительную роль полярных неионогенных групп белка в координационном связывании атомов хрома и алюминия при дублении.

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

Поступило  
19 XI 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> А. Н. Михайлов, Физико-химические основы технологии кожи, М., 1949, стр. 12—13. <sup>2</sup> Д. Вильсон, Химия кожевенного производства, М., 1929. <sup>3</sup> K. Gustavson, Adv. Protein Chem., 5, 388 (1949). <sup>4</sup> А. Вернер, Новые воззрения в области неорганической химии, М., 1936, стр. 56.