

БИОХИМИЯ

С. И. ПРОНИН и Б. М. ДАХ

**ВЗАИМООТНОШЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ЗОН рН
И ТЕМПЕРАТУРЫ ДЛЯ ДЕЙСТВИЯ β -АМИЛАЗ
ПШЕНИЦЫ И РЖИ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 17 I 1951)

Вопрос о влиянии температуры на значение оптимума рН для зерновых амилаз до сих пор остается неясным.

Ольсен и Файн⁽¹⁾ установили, что при осахаривании муки солодом оптимум рН смешается в щелочную сторону с повышением температуры. Так, при изменении температуры осахаривания с 25 до 70° оптимум рН смешается с 4,3 до 6,0. Авторы приписали это явление возрастанию активности кислоты с повышением температуры и склонны были заключить, что такая зависимость имеет общее значение для ферментов.

Однако Люэрс и Нишимура⁽²⁾ не смогли подтвердить наблюдения Ольсена и Файна. Никакого смещения в щелочную сторону при повышении температуры в опытах Люэрса и Нишимура не происходило; наблюдалось лишь, что при поднятии температуры оптимальная зона рН становилась уже. При низких температурах кривые имели плоский вид, при более высоких они заострялись, приобретая резко выраженный максимум.

Вопрос о влиянии температуры на оптимум рН для действия зерновых амилаз имеет актуальное значение для технологии хлебопечения. В процессе выпечки действуют амилолитические ферменты при возрастающей температуре, и положение оптимума рН в зависимости от температуры приобретает в силу этого существенное значение.

Мы в своей работе решили проверить соотношение оптимума рН и температуры для β -амилаз пшеницы и ржи, играющих основную роль при осахаривании крахмала в тесте. Нужная степень активной кислотности (рН) создавалась буфером Мак-Ильвена (фосфатно-цитратный буфер), позволяющим варьировать рН в широких пределах. Исследование проводилось при трех температурах: 40, 50 и 60°.

Для получения вытяжки мука экстрагировалась 30 мин. при 30°, затем центрифугировалась и фильтровалась через вату.

Реакционная смесь состояла из 80 мл 2% растворимого крахмала, 10 мл буферного раствора и 10 мл мучной вытяжки. Гидролиз продолжался 10 мин., редуцирующие вещества определялись феррицианидным методом. Реакция осахаривания останавливалась вливанием отобранной пробы в щелочной феррицианидный раствор.

Активность амилаз выражалась в процентах от максимальной активности, обнаруженной для данного опыта. Из ряда аналогичных опытов выводилась средняя относительная активность для данного значения рН (при данной температуре).

Для определенности заключений мы фиксировали понятия оптимальной зоны и собственно оптимума следующим образом. За оптимальную

зону мы принимали тот интервал рН, в котором активность β -амилазы не ниже 90% максимальной, максимальная же активность отвечает, очевидно, оптимуму рН. Поскольку положение этого оптимума довольно непостоянно, более надежным и характерным является положение оптимальной зоны.

В виде примера приводим данные одного опыта для пшеницы при 50° (в качестве источника β -амилазы применялась 0,5% мучная вытяжка) (см. табл. 1).

Таблица 1
Зависимость образования мальтозы
от рН

рН	Образовалось мальтозы в мг	Относит. активность в % от максимальн.
3,43	0,5	5,4
3,76	4,7	51,0
4,23	7,6	82,6
4,66	9,2	100,0
5,14	8,7	94,5
5,44	8,4	91,3
5,86	7,2	84,8
6,13	7,1	76,5

Результаты дальнейших опытов, ради краткости, приводим в виде сводных таблиц значений относительной активности и их средних величин. Для пшеницы эти данные приведены в табл. 2—4.

Таблица 2
Влияние рН на активность β -амилазы пшеницы при 40°

рН	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 3	Средн. активность
3,13	—	13,2	—	(13,2)
3,54	77,3	26,4	77,4	60,4
3,76	80,0	77,0	96,4	84,5
4,23	97,3	86,8	100,0	94,7
4,66	100,0	91,2	96,4	95,9
5,11	90,7	100,0	92,9	94,5
5,38	90,7	91,2	89,3	90,3
5,86	84,0	80,2	48,8	71,0
6,13	76,0	—	36,9	56,4

Таблица 3
Влияние рН на активность β -амилазы пшеницы при 50°

рН	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 3	Оп. 4	Оп. 5	Оп. 6	Средн. активность
3,43	12,7	22,2	5,4	—	5,8	—	11,5
3,76	53,7	58,1	51,0	—	36,0	—	49,9
3,85	—	—	—	57,2	—	59,3	58,3
4,23	94,1	94,0	82,6	87,2	93,7	93,2	90,8
4,66	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
5,14	98,0	95,7	94,5	100,0	95,5	97,4	96,8
5,44	95,1	91,5	91,3	94,5	93,7	94,8	93,5
5,86	77,4	88,0	84,8	87,2	85,7	88,1	85,2
6,13	—	78,6	76,5	—	76,7	—	77,3

Из табл. 2—4 видно, что повышение температуры с 40 до 50° не оказывается существенно на положении оптимальной зоны и оптимальной точки.

Иначе обстоит дело при повышении температуры с 50 до 60° — здесь оптимальная зона становится уже (с интервала 4,23—5,38 она переходит к интервалу 5,14—5,44), и оптимальная точка смещается в щелочную сторону (с pH 4,66 к pH 5,44).

Переходим к рассмотрению отношений, наблюдающихся в случае действия рожаной β -амилазы. Представление о них дают табл. 5—7.

Из табл. 5—7 видно, что как оптимальные зоны, так и оптимальные точки pH закономерно смещаются в щелочную сторону с повышением температуры.

Таблица 4

Влияние pH на активность β -амилазы пшеницы при 60°

pH	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 3	Средн. активность
4,20	35,8	46,0	39,1	40,0
4,66	76,5	80,0	51,0	69,2
5,15	97,5	96,6	97,4	97,2
5,44	100,0	100,0	100,0	100,0
5,86	87,6	88,7	89,0	88,4
6,13	65,4	76,6	75,4	72,5
6,55	28,4	—	—	(28,4)

Таблица 5

Влияние pH на активность β -амилазы ржи при 40°

pH	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 3	Средн. активность
3,13	—	69,0	71,2	70,1
3,54	83,9	77,5	95,4	85,6
3,76	92,0	100,0	96,6	96,2
4,23	100,0	100,0	100,0	100,0
4,66	96,8	95,8	95,4	96,0
5,11	92,0	81,6	87,3	87,0
5,38	67,9	69,0	66,6	67,8
5,86	60,0	59,2	—	59,6

Таблица 6

Влияние pH на активность β -амилазы ржи при 50°

pH	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 3	Средн. активность
3,54	44,6	54,2	51,7	50,2
3,76	68,7	86,5	71,3	75,5
4,23	90,4	100,0	100,0	96,8
4,66	100,0	95,8	100,0	98,6
5,14	88,0	92,7	95,4	92,0
5,38	74,7	67,7	72,4	71,6

Кроме того, при переходе от 50 к 60° оптимальная зона сужается. Авторы настоящей работы считают (в противоположность взглядам Ольсена и Файна), что причиной обнаруженного в работе смещения оптимума pH с повышением температуры является неодинаковое оптимальное значение pH для активности и стабильности. Именно, оптимум стабиль-

Таблица 7

Влияние рН на активность β-амилазы ржи при 60°

pH	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 3	Средн. активность
4,43	48,3	54,4	42,5	48,4
4,66	95,0	92,7	95,4	94,4
5,14	100,0	100,0	100,0	100,0
5,44	81,6	80,9	86,2	82,9
5,86	60,0	61,8	57,5	59,8

ности лежит в более щелочной области pH, чем оптимум активности. При относительно низких температурах максимум кривой естественно совпадает с оптимумом активности, при более же высоких температурах, когда уже проявляется действие термического инактивирования, максимум кривой перемещается к оптимуму стабильности.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
хлебопекарной промышленности

Поступило
19 XII 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ A. Olsen and M. Fine, Cer. Chem., 1, 215 (1924). ² H. Luegs u. S. Nishimura, Wochenschr. f. Brauerei, 43, 415 (1926).