

Б. Н. СТЕПАНЕНКО и Е. М. АФАНАСЬЕВА

ИЗУЧЕНИЕ ФРАКЦИЙ КРАХМАЛА КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ИХ СОЗРЕВАНИИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 14 VII 1952)

Благодаря успехам химии полисахаридов стал известен общий тип построения полисахаридов крахмала (1, 2), а в последние годы детально исследуются крахмалы различных видов растений (3). Вполне своевременным представляется изучение вопроса, меняются ли, и в какой мере, полисахариды крахмалов по мере роста растений, а также крахмалов, полученных при различных режимах выращивания растения. Этот вопрос, наряду с теоретическим, имеет, несомненно, и практическое значение.

Известно, что в ряде случаев при высоких агрофонах, при высоких урожаях крахмалистость клубней картофеля снижается (4). При решении проблемы получения высоких урожаев при высокой крахмалистости, наряду с изучением ферментативной активности клубней должно производиться и тонкое изучение крахмалов. По аналогии с высокой пластичностью гликогенов, показанной рядом методов в нашей лаборатории (5), можно предполагать, что крахмал также обладает известной пластичностью в зависимости от условий существования растения.

Необходимые для исследования клубни картофеля сорта «Лорх» мы получали с участков Института картофельного хозяйства Министерства сельского хозяйства СССР (близ станции Малаховка Моск. обл.). Исследовались крахмалы клубней двух сроков: 2 VIII и 10 IX 1950 г., выращенные на участках без удобрений и на участках с высоким агрофоном. 50 т навоза + N, P, K по 60 кг/га (K — в виде K_2SO_4).

В связи с крайней трудоемкостью намеченных исследований (получение кристаллических амилоз, определение молекулярных весов, строения и т. д.) мы были принуждены ограничить число исследованных поворностей, обратив особое внимание на отбор средних проб.

Крахмалистость клубней определялась диастатическим методом.

Содержание крахмала в клубнях, полученных на участках без удобрений, оказалось несколько более высоким, чем в случае выращивания при высоком агрофоне, а именно: для 1-го срока (2 VIII) в среднем 15,04% (без удобрения) и 10,97% (высокий агрофон), а для 2-го срока (10 IX) соответственно 14,86 и 13,8%. Таким образом, в ранние сроки нам удалось довольно отчетливо заметить закономерное снижение крахмалистости при высоком агрофоне; в дальнейшем, однако, указанное различие несколько сглаживалось. Возможно, что это было связано с крайне неблагоприятными для культуры картофеля метеорологическими условиями (сильные дожди в августе 1950 г.). Крахмал для исследований выделялся после измельчения в гомогенизаторе очищенных клубней обычным образом и многократно промывался.

Содержание фосфора в крахмалах определялось после сжигания их; оно колебалось при различных режимах выращивания в пределах от 0,31 до 0,75 мг на 1 г крахмала. На участках без удобрений со-

держание фосфора в крахмалах в сентябре возрастало по сравнению с августом.

Фракционирование крахмала на амилозу и амилопектин производилось по методу Ланской и сотр. (6) с небольшими изменениями при помощи бутанола. Этот метод дает

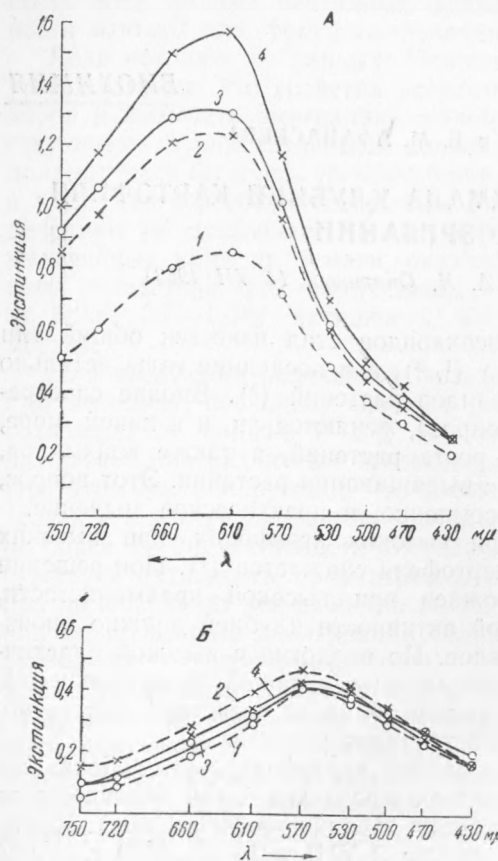


Рис. 1. Абсорбционные кривые амилозы (А) и амилопектинов (Б), полученные в разные сроки при различных условиях выращивания. 8,1 мг сухого препарата в 50 мл. 1— б.у. VIII, 2— б.а. VIII, 3— б.у. IX, 4— б.а. IX

Изучение иодной реакции. С выделенными препаратами кристаллических амилоз, а также амилопектинами прodelьвалась иодная реакция с фотометрическим исследованием растворов иодполисахаридов в условиях, разработанных нами ранее для гликогенов (7).

В случае амилоз, выделенных как при выращивании без удобрений, так и при высоком агрофоне, отмечалась интересная закономерность: иодамилозы более зрелых (сентябрьских) крахмалов давали гораздо более высоколежащие кривые абсорбции, чем иодамилозы «молодых» (августовских) крахмалов (рис. 1). При сравнении амилоз одинаковых сроков вегетации кривые амилоз, полученных при высоком агрофоне, проходят выше, чем при низком агрофоне, причем эта особенность более сильно выражена на ранних сроках вегетации. Упомянутые различия были выражены весьма резко, в несколько раз превышая ошибки опыта. На основании этого можно думать, что по мере созревания, а также при высоком агрофоне происходит увеличение средней длины амилозных цепей или же увеличение числа молекул субфракции тяжелой ами-

на амилозу и амилопектин преимущественно высокомолекулярные фракции амилоз. Нами был получен ряд препаратов кристаллических амилоз, дважды перекристаллизованных и даже после хранения довольно легко растворимых в горячей воде. В процессе выделения фракций крахмалов нами отмечено, что в то время как фракционирование «зрелых» крахмалов производится без особых трудностей, фракционирование «молодых» (августовских) крахмалов провести путем упомянутой методики не удается: успех был достигнут лишь при изменении методики — увеличении количества применяемого бутанола.

Содержание фракции амилозы определялось путем препаративного выделения амилозы (при строгой стандартизации условий выделения) и взвешивания. Оно колебалось в исследованных крахмалах в пределах 18,5—19,75%; сделать какие-либо определенные выводы из полученных цифр мы не считаем возможным: создается впечатление, что между амилозой и амилопектином сохраняется довольно постоянное соотношение; этот вопрос, однако, подлежит более детальному изучению на более обширном материале.

лозы, или оба эти процесса одновременно. При изучении иодной реакции препаратов амилаопектинов разных сроков вегетации и при различных агрофонах мы не встретились со столь резкими отличиями, как в случае амилоз: кривые лежали сравнительно близко; однако и здесь сравнительно более высокое положение занимали амилаопектины с участков с высоким агрофоном.

Определение молекулярного веса фракций крахмала после тщательного диализа мы производили по методу Мейера (8), в основе которого лежит окисление полимальтозида 3,5-динитросалициловой кислотой, о степени восстановления которой судят фотометрически. Как было показано (8), этот метод дает результаты, весьма близкие к получаемым при помощи других методов. Динитросалициловая кислота была нами синтезирована по Самнеру (9).

Молекулярные веса были найдены в пределах 68 900—82 600 для амилаз, молекулярные веса амилаопектинов — в пределах 142 400—222 700. Как отчетливо показали многократно повторяемые опыты (из табл. 1), амилозы «зрелых крахмалов во всех случаях при различных агрофонах обладают большим молекулярным весом, чем соответствующие амилозы «незрелых» крахмалов. Возможно, что более низкие молекулярные веса незрелых амилоз являются одной из упомянутых выше трудностей при фракционировании незрелых крахмалов.

Молекулярные веса амилоз, полученных с участков с высоким агрофоном, оказались более высокими, чем амилоз, полученных с неудобренных участков.

Обращает на себя внимание большое совпадение результатов, полученных при изучении иодной реакции, и результатов определения молекулярных весов. Как правило, более высокому значению величины абсорбции зрелых иодамилоз соответствуют и более высокие молекулярные веса, хотя строгой пропорциональности между величинами экстинкции и молекулярными весами не наблюдается. В случае амилаопектинов не удается отметить столь простой зависимости молекулярных весов и экстинкций иодамилопектинов от степени «зрелости» полисахаридов. Хотя и в случае амилаопектинов большим молекулярным весам соответствует большая экстинкция при иодной реакции, однако, принимая во внимание небольшие различия экстинкций, сложность строения амилаопектинов и, наконец, сложный двойственный характер их взаимодействия с иодом (10), толкование результатов следует производить лишь после изучения строения этих полисахаридов.

Таким образом, нам удалось показать принципиальную возможность обнаружения различий фракций крахмала при его созревании, а также различий, связанных с различным агрофоном.

Таблица 1

Иодная реакция и молекулярные веса фракций крахмалов

Фракции крахмала	Иодная реакция — экстинкция в точке максимума	Средний мол. вес
Амилоза		
б.у. — VIII	0,85	68 900
б.у. — IX	1,3	71 100
в.а. ⁵⁰ VIII	1,23	77 900
в.а. ⁵⁰ IX	1,57	82 600
в.а. ³⁰ VIII	1,55	72 900
в.а. ³⁰ IX	1,57	75 800
Амилаопектин		
б.у. — VIII	0,39	177 000
б.у. — IX	0,41	222 700
в.а. — VIII	0,47	211 600
в.а. — IX	0,42	142 400

Обозначения: б.у. — с участка без удобрений
в.а.⁵⁰ — с участка с высоким агрофоном — 50 т навоза
в.а.³⁰ — с 30 т навоза, VIII — клубни взяты 2 VIII 1950 г.
IX — 10 IX 1950 г.

Принимая во внимание пластичность полисахаридов, нельзя, однако, забывать, что степень постоянства найденных различий необходимо проверить в течение нескольких вегетационных периодов, так как, например, метеорологические и другие условия могут оказывать здесь то или другое влияние.

В заключение считаем долгом выразить благодарность А. И. Тамман за содействие в получении исследованных нами клубней и Г. С. Жуковой за помощь при отборе материала.

Лаборатория физиологической химии
Академии наук СССР

Поступило
10 VII 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. Н. Степаненко, Е. Л. Розенфельд и др., Усп. соврем. биол., **32**, 193 (1951). ² С. Я. Френкель, Усп. хим., **19**, 489 (1950). ³ A. Potter, W. Hassid, J. Am. Chem. Soc., **70**, 3488 (1948); **71**, 4075 (1949). ⁴ Б. М. Виноградский, Тр. Всесоюз. н.-и. ин-та спирт. пром., в. 1 (1950). ⁵ Б. Н. Степаненко, А. Н. Петрова, Е. Л. Розенфельд, Изв. АН СССР, сер. биол., **1**, 89 (1951). ⁶ S. Lansky, M. Koos, T. Schoch, J. Am. Chem. Soc., **71**, 4066 (1949). ⁷ Б. Н. Степаненко, Е. М. Афанасьева, Биохимия, **12**, 111 (1947). ⁸ K. Meyer, J. Phys. Coll. Chem., **53**, 319 (1949). ⁹ J. B. Sumner, J. Biol. Chem., **47**, 5 (1921). ¹⁰ Б. Н. Степаненко, Усп. хим., **16**, 708 (1947).