

Ю. Н. КРЕМЕР

ВЛИЯНИЕ СЕРНИСТОГО ГАЗА НА СОХРАНЯЕМОСТЬ ТРИПТОФАНА ПРИ КИСЛОТНОМ ГИДРОЛИЗЕ БЕЛКОВ

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 7 VII 1954)

Важнейшим условием биологической полноценности белковых гидролизатов является сохранение в них всех незаменимых аминокислот исходного белка. По ряду причин кислотному гидролизу отдают предпочтение перед другими видами гидролиза, но при таком способе гидролиза происходит значительное разрушение незаменимой аминокислоты триптофана. Сохранность триптофана зависит от условий гидролиза. Как нами было показано ⁽³⁾, можно подобрать такие условия гидролиза, при которых потери триптофана были бы минимальны, но все же и при лучших известных до сих пор условиях проведения гидролиза потери триптофана довольно значительны.

Вторым существенным недостатком кислотного гидролиза белков является то, что продукты окрашены в темнокоричневый цвет, обусловленный образованием так называемых гуминовых веществ в результате разложения триптофана. Удаление гуминовых веществ требует применения значительного количества угля. Уголь же вместе с гуминами адсорбирует некоторое количество аминокислот и, кроме того, содействует окислению цистина. Предложенные методы для предотвращения образования гуминов, например проведение гидролиза в присутствии хлористого олова, не предохраняют триптофан от разрушения ⁽²⁾. И. Педерсен и сотр. ⁽⁴⁾ сообщили, что казеин можно расщепить жидким ангидридом сернистой кислоты; при этом получают неокрашенные гидролизаты, дающие качественные реакции на триптофан. Мы занялись изучением влияния сернистого газа на сохраняемость триптофана при проведении гидролиза серной кислотой.

Методика работы. В качестве белковых субстратов мы пользовались свежееотмытыми фибрином и казеином. Эти белки предварительно подвергались перевариванию пепсином для перевода их в раствор. Затем в кьелдалевские колбы на 100 мл вносилось по 20 мл пептолизата и в течение 10 мин. растворы насыщались на холоду сернистым газом; затем в каждую колбу приливалось столько конц. серной кислоты, чтобы содержание ее в колбах соответствовало 2, 4, 6, 8 и 10%. Колбы закрывались ватной пробкой и автоклавировались в течение 3 час. при 1 атм (120°). Затем гидролизаты переносились количественно в мерные колбы на 200 мл. В гидролизатах определялся общий азот микрокьелдалем, аминный азот по Попу и Стивенсу и триптофан по методу Гопкинс — Винклера. Для контроля проводился гидролиз в тех же условиях, но без насыщения сернистого газа. В контрольных пробах определялись те же показатели. Полученные данные отражены в табл. 1.

Полученные результаты показывают, что проведение гидролиза с серной кислотой в атмосфере сернистого газа в значительной степени способствует сохранению триптофана исходного белка. Пользуясь небольшими концентрациями серной кислоты, удается почти полностью сохранить триптофан; но и при более высоких концентрациях кислоты

H ₂ SO ₄ , %	В атмосфере SO ₂			Без SO ₂		
	$\frac{N NH_3}{N \text{ общий}}$, %	% триптофана	% сохр. триптофана	$\frac{N NH_3}{N \text{ общий}}$, %	% триптофана	% сохр. триптофана

Опыт № 1*

Пептолизат				25,0	1,85	100,0
2	28,2	1,84	99,5	28,5	1,53	82,6
4	35,8	1,68	90,7	36,8	1,58	82,6
6	47,3	1,66	89,5	47,3	1,38	74,5
8	52,7	1,57	84,8	52,7	1,21	65,3
10	56,7	1,57	84,8	58,8	0,87	46,4

Опыт № 2**

Пептолизат				15,2	3,18	100,0
2	27,5	3,14	98,7	29,3	2,66	83,7
4	36,5	3,08	97,8	37,0	2,53	79,5
6	48,2	2,95	92,7	46,2	2,06	64,8
8	52,8	2,64	83,0	51,7	2,06	64,8
10	54,1	2,36	74,2	54,0	1,96	61,6

Опыт № 3***

Пептолизат					3,58	100,0
4	46,0	3,58	100,0	47,2	3,35	94,3
6	48,9	3,50	98,7	47,5	3,21	90,6
8	55,9	3,28	92,3	54,5	2,75	77,4
10	55,7	3,16	89,0	56,5	2,29	64,5

* Глубина гидролиза и сохраняемость триптофана в зависимости от концентрации серной кислоты. Субстрат казеин. Продолжительность автоклавирования 3 часа. Т-ра 120°.

** Глубина гидролиза и сохраняемость триптофана в зависимости от концентрации серной кислоты. Субстрат фибрин. Продолжительность автоклавирования 3 часа. Т-ра 120°.

*** В отличие от предыдущих двух опытов, гидролиз проводился при обычном давлении в течение 6 час. в непрерывном токе SO₂. Субстрат фибрин.

сохраняемость триптофана весьма значительна. Это особенно относится к сохранению триптофана казеина, который обычно легче разрушается. Таким образом, путем применения этого метода гидролиза создаются условия для выделения из белков природного *l*-триптофана. Как известно, изоляция триптофана происходит из щелочного гидролизата, но при этом *l*-триптофан рацемизируется, переходя частично в неприродный *d*-триптофан. Следует также указать, что продукты, получаемые в результате гидролиза в атмосфере сернистого газа, значительно менее окрашены, чем при его отсутствии. Гидролизаты с 2 и 4% кислотой почти бесцветны. Эти обстоятельства имеют большое значение для изготовления полноценных белковых гидролизатов для клинических целей. Однако сохранение триптофана в гидролизате при гидролизе в атмосфере сернистого газа не дает гарантии, что полученные гидролизаты биологически полноценны, так как не исключена возможность, что под влиянием сернистого газа происходит разрушение других аминокислот. Сохраняемость других аминокислот при проведении гидролиза в атмосфере сернистого газа нами в настоящее время изучается.

Поступило
10 XII 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Р. Блок, Д. Боллинг, Аминокислотный состав белков и пищевых продуктов, М., 1949. ² Ф. Гауровиц, Химия и биология белков, М., 1953. ³ Ю. Н. Кремер, Здравоохранение Советской Латвии, № 8, 50 (1953). ⁴ J. Wismer, Pedersen, Bruce, E. Baker, Nature, 169, No. 4309, 928 (1952).