

Из кафедры биохимии. Зав. проф. Ф. Я. Беренштейн.

К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ НЕКОТОРЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА КОАГУЛЯЦИЮ БЕЛКА

Ф. Я. Беренштейн и Л. Н. Айзенберг.

Изучение физико-химических свойств веществ и в частности вопрос о коагуляции белков и о предохранении их от свертывания имеет не только большое теоретическое значение, но также играет значительную практическую роль, как в промышленности, так и в биологии и медицине.

Так Кауе и Lioud показали, что при сушке кож путем нагревания может наблюдаться коагуляция белков межфибрилярной лимфы, в результате чего вокруг волокон образуется нерастворимый, везластический слой. Образование указанного слоя влечет за собой задержку абсорбции воды, необходимой для дальнейшей обработки кожи. Если в дальнейшем разрушить оболочку коагулированного белка при помощи трипсина или действием цитрата натрия, то волокна снова приобретают возможность абсорбировать воду и набухать как свежая кожа. Точно также важно избежать денатурации белков при приготовлении сухих препаратов молока, яиц, потому, что денатурация белков значительно снижает питательную ценность сухих препаратов.

Schanz считает, что наступление катаракты у стариков, есть результат денатурации белковых веществ хрусталика (α и β кристаллинов); указанная денатурация происходит под действием лучей света. Целый ряд исследователей (Лихвиц, Бехгольд, Ружечка и др.) придают большое биологическое значение изменению дисперсности биокolloидов. Ружечка на основании своих экспериментов даже объясняет наступление старости уменьшением дисперсности коллоидов. Ясно, что согласиться с теорией Ружечки относительно того, что можно так упрощенно объяснить сложное биологическое явление, нельзя, однако его эксперименты, подтвержденные и другими авторами, безусловно показывают, что степень дисперсности биокolloидов, большинство которых являются белками, играет значительную роль в течении физиологических процессов.

Изучение методов предохранения белков от коагуляции должно, повидимому, сыграть немалую роль также в технике приготовления вакцин.

Исходя из всего вышеизложенного, мы решили изучить, как влияют некоторые органические вещества на коагуляцию белков.

Уже давно известно, что целый ряд органических веществ способны вызывать коагуляцию и денатурацию белков, но наряду с этим имеются в литературе указания, что некоторые органические вещества задерживают коагуляцию белков. Так, согласно сведениям, приведенным в статье Handowsky'ого, глицерин, маннит, глюкоза, лактоза задерживают температурное свертывание белков. Этот же автор указывает, что денатурированный белок не оседает из раствора, если там находится одно из следующих соединений: холин, пиридин, анилин, пиперидин, ортолуидин, ксилидин, мочевины, сульфо-мочевина, и уретан. Мочевина также задерживает коагуляцию желатины под влиянием солей легких металлов, при чем эффект мочевины особенно резко проявляется при употреблении в качестве осадителя хлоридов и ацетатов, и значительно слабее при осаждении желатины сульфатами; мочевины также в состоянии растворять уже образовавшиеся осадки. Handowsky также приводит данные, что глюкоза и сахароза оказывают слабо задерживающие действие на коагуляцию белков солями

В имеющейся литературе мы совершенно не встретили указаний о влиянии сахаров на коагуляцию белков солями тяжелых металлов, спиртом и некоторыми ароматическими соединениями.

Исходя из этого, мы решили пополнить указанный пробел постановкой соответствующих экспериментов. На изучении влияния сахаров на коагуляцию белков мы остановились потому, что сахара играют значительную биологическую роль, а некоторые из них (например глюкоза) применяются и в качестве терапевтического средства. Кроме того нами для сравнения были поставлены опыты с изучением влияния на коагуляцию белков солями тяжелых металлов и спиртом мочевины и хлорал-гидрата. Прежде чем перейти к изложению полученных нами результатов, коротко остановимся на методике наших исследований.

Для наших опытов мы использовали белок куриного яйца, приготавливая его на физиологическом растворе NaCl. Таким образом, наш раствор содержал в своем составе смесь альбуминов и глобулинов. Содержание белков в растворе колебалось в отдельных опытах от 1, 2, до 1, 4 проц. РН нашего солевого раствора был 6, 8—6, 9.

Для изучения влияния сахаров мы поступали следующим образом: в пробирку брали по 2 к/с. белкового раствора, затем добавляли туда либо 2 к. с. дистиллированной воды либо 2 к/с раствора, влияние которого на коагуляцию белков мы желали изучить; затем добавляли 1 к/с коагулирующего раствора в уменьшающейся концентрации. Та-

ким образом мы определяли ту минимальную концентрацию исследуемого вещества, при которой еще может наблюдаться коагуляция. Сравнивая пороги коагуляции белка в отсутствие сахаров мочевины и хлорал—гидрата с данными, полученными при наличии указанных веществ, мы и делали заключения о том, в какой степени исследованные нами вещества оказывают влияние на коагуляцию белков. Средние данные из наших опытов мы приводим в виде таблиц.

Т а б л и ц а № 1.

Влияние глюкозы на коагуляцию белков куриного яйца солями тяжелых металлов.

Наимен. соли Концентр. глюкозы	Минимальная коагулирующая доза соли в гр-молях					
	HgCl ₂	CuCl ₂	Cu(NO ₃) ₂	CuSO ₄	Ur(NO ₃) ₂	ZnSO ₄
Контроль	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000
1,2%	1/4000	1/4500	1/5000	1/5000	1/5000	1/4000
2,4%	1/3500	1/4000	1/4500	1/4500	1/4000	1/3500
3,6%	1/3000	1/3500	1/3500	1/3500	1/3000	1/3000
4,8%	1/2500	1/3500	1/2500	1/3000	1/2500	1/2500
6%	1/2500	1/3000	1/2500	1/3000	1/2500	1/2500
7,2%	1/2500	1/2500	1/2500	1/2500	1/2500	1/2500
8,4%	1/2000	1/2500	1/2000	1/2000	1/1500	1/2500

Т а б л и ц а № 2.

Влияние сахарозы на коагуляцию белков куриного яйца солями тяжелых металлов.

Наименов. соли Концентр. сахарозы	Минимальная коагулирующая доза соли в гр-молях					
	HgCl ₂	CuCl ₂	Cu(NO ₃) ₂	CuSO ₄	Ur(NO ₃) ₂	ZnSO ₄
Контроль	1/5000	1/4500	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000
1,2 проц.	1/5000	1/4000	1/5000	1/5000	1/5000	1/4500
2,4	1/4500	1/4000	1/4000	1/5000	1/5000	1/4500
3,6	1/3500	1/3500	1/3500	1/4500	1/5000	1/4000
4,8	1/3000	1/2500	1/3500	1/3500	1/4500	1/3500
6	1/2500	1/2500	1/3000	1/3500	1/4500	1/3000
7,2	1/2000	1/2500	1/2500	1/2500	1/4000	1/2500
8,4	1/2000	1/2000	1/2000	1/2500	1/3500	1/2000

Влияние лактозы на коагуляцию белков куриного яйца солями тяжелых металлов

Наименование соли Концентрац лактозы	Минимальная коагулирующая доза соли в гр.-молях.					
	HgCl ₂	CuCl ₂	Cu(NO ₃) ₂	CuSO ₄	Ur(NO ₃) ₂	ZnSO ₄
Контроль	1/4500	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000
1,2 проц.	1/4500	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000
2,4 проц.	1/4000	1/4500	1/5000	1/4500	1/4500	1/5000
3,6 проц.	1/4000	1/4500	1/4500	1/4000	1/4000	1/4500
4,8 проц.	1/4000	1/3500	1/4000	1/4000	1/3500	1/4500
6 проц.	1/3500	1/3500	1/3500	1/3500	1/3500	1/4000
7,2 проц.	1/3000	1/3000	1/3000	1/3500	1/3500	1/3500
8, 4 проц.	1/2500	1/3000	1/3000	1/3000	1/3000	1/3500

На основании данных, приведенных в таблицах № 1—3, мы можем сделать следующие заключения:

1) Глюкоза задерживает коагуляцию белков под влиянием солей тяжелых металлов, при чем максимальное действие глюкоза оказывает при коагуляции белков азотно-кислой и серно-кислой медью; минимальный эффект оказывает глюкоза на коагуляцию белков CuCl₂ и ZnSO₄.

2) Сахароза, оказывая незначительное влияние на коагуляцию белков азотно кислым ураном, довольно интенсивно понижает способность белков коагулироваться солями меди (CuCl₂, CuSO₄ и Cu(NO₃)₂) сулемой и серно-кислым цинком.

3. Способность белков осаждаться под влиянием солей тяжелых металлов задерживается также молочным сахаром, но эффект от добления к белковому раствору лактозы бывает значительно менее выражен чем от добавления глюкозы и сахарозы.

Дальнейшие наши исследования касались вопросов о влиянии сахаров на коагуляцию белков ароматическими соединениями. Полученные нами результаты опытов мы приводим в таблицах № 4—6.

Т а б л и ц а № 4.

**Влияние глюкозы на коагуляцию белков куриного яйца
ароматическими соединениями.**

Наимен. аромат. соединен. Концентрац глюкозы	Минимальная коагулирующая доза в ‰			
	Фенол	Резорцин	Пирогал- лол	Сульфур- салициловая кислота
Контроль	1,6‰	1,0‰	1,2‰	0,1‰
1,2 проц.	1,6 .	1,0 .	1,2 .	0,1 .
2,4	2,0 .	1,0 .	1,2 .	0,1 .
3,6	2,0 .	1,0 .	1,2 .	0,1 .
4,8	2,0 .	1,0 .	1,2 .	0,1 .
6	2,0 .	1,0 .	1,2 .	0,1 .
7,2	2,0 .	1,0 .	1,2 .	0,1 .
8,4	2,0 .	1,0 .	1,2 .	0,1 .

Т а б л и ц а № 5.

**Влияние лактозы на коагуляцию белков куриного яйца
ароматическими соединениями**

Наимен. аромат. соединен. Концентрац. лактозы	Минимальная коагулирующая доза в ‰			
	Фенол	Резорцин	Пирогал- лол	Сульфур- салициловая кислота
Контроль	1,7‰	1,0‰	1,0‰	0,1‰
1,2 проц.	1,7 .	1,0 .	1,0 .	0,1 .
2,4	1,7 .	1,0 .	1,0 .	0,1 .
3,6	1,7 .	1,0 .	1,0 .	0,1 .
4,8	1,7 .	1,0 .	1,0 .	0,1 .
6	2,0 .	1,1 .	1,5 .	0,1 .
7,2	2,0 .	1,2 .	1,5 .	0,1 .
8,4	2,6 .	1,4 .	1,5 .	0,1 .

**Влияние сахарозы на коагуляцию белков куриного яйца
ароматическими соединениями.**

Концент. сахарозы	Наименов. аромат соедин.	Минимальная коагулирующая доза в проц.			
		Фенол	Резорцин	Пирогаллол	Сульфосалициловая кислота
Контроль		1,6 проц.	0,9 проц.	1,1 проц.	0,1 проц.
1,2 проц.		1,6 .	0,9 .	1,1 .	0,1 .
2,4		1,6 .	0,9 .	1,1 .	0,1 .
3,6		1,6 .	0,9 .	1,1 .	0,1 .
4,8		1,6 .	0,9 .	1,1 .	0,1 .
6		1,6 .	1,0 .	1,1 .	0,1 .
7,2		1,6 .	1,0 .	1,1 .	0,1 .
8,4		1,6 .	1,2 .	1,1 .	0,1 .

Рассматривая материал, приведенный в таблицах № 4—6, мы видим следующее:

1) Глюкоза не оказывает никакого влияния на коагуляцию белка резорцином, пирогаллолом и сульфосалициловой кислотой, и лишь незначительно снижает коагулирующее действие фенола.

2) Лактоза, не оказывая никакого влияния на степень коагуляции белков под влиянием сульфо-салициловой кислоты, незначительно снижает коагулирующий эффект других ароматических соединений.

3) Добавление сахарозы не оказывает заметного влияния на осаждение белков фенолом, пирогаллолом и сульфо-салициловой кислотой и лишь незначительно задерживает коагуляцию белков резорцином.

Установив, что сахара оказывают задерживающее действие на коагуляцию белков солями тяжелых металлов, мы задумались целью проверить насколько специфично в этом отношении действие сахаров.

С этой целью мы изучали влияние мочевины и хлорал-гидрата на коагуляцию белков солями тяжелых металлов. Для этого мы брали исследуемые вещества с таким расчетом, что концентрация мочевины не превышала 2,8 проц. (что соответствовало в граммах максимальной концентрации глюкозы), концентрация хлорал—гидрата 3,6 проц,

Надо отметить, что брать хлорал-гидрат в большей концентрации для наших исследований нельзя было, вследствие того, что большие дозы сами вызывают коагуляцию белка.

Результаты опытов с мочевиной и хлорал-гидратом мы приводим в таблицах № 7 и 8.

Т а б л и ц а № 7.

Влияние мочевины на коагуляцию белков куриного яйца
солями тяжелых металлов

Наимен. соли Концентрац. мочевины	Минимальная коагулирующая доза соли в гр-молях					
	HgCl ₂	CuCl ₂	Cu(NO ₃) ₂	CuSO ₄	Ur(NO ₃) ₂	ZnSO ₄
Контроль	1/5 00	1/50 0	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000
0,4 проц.	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000
0,8	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000
1,2	1/5 00	1/5000	1/5 000	1/5000	1/5000	1/5000
1,6	1/5000	1/4500	1/5000	1/4 00	1/4500	1/5000
2	1/4500	1/4000	1/5000	1/35 0	1/4500	1/5000
2,4	1/40 0	1/3500	1/4500	1/3500	1/4500	1/5000
2,8	1/3500	1/3500	1/4000	1/3000	1/4500	1/5000

Т а б л и ц а № 8.

Влияние хлорал-гидрата на коагуляцию белков куриного яйца
солями тяжелых металлов

Наимен. соли Концентрац. хлор. гид.	Минимальная коагулирующая доза соли в гр-молях					
	HgCl ₂	CuCl ₂	Cu(NO ₃) ₂	CuSO ₄	Ur(NO ₃) ₂	ZnSO ₄
Контроль	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000
0,6 проц.	1/5000	—	1/5000	—	1/5000	1/5000
1,2	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000
1,8	1/5000	—	1/5 00	—	1/5000	1/5000
2,4	1/5000	1/5000	1/5 000	1/5000	1/5000	1/5000
3,0	1/5000	—	1/5000	—	1/5 00	1/5000
3,6	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000	1/5000

На основании материалов, приведенных в таблицах № 7 можно сделать следующие выводы:

1) Добавление хлорал-гидрата к раствору белка в концентрации от 0,6 проц. до 3,6 проц. не оказывает никакого влияния на осаждение белков солями тяжелых металлов.

2) Добавление мочевины к раствору белка, не оказывая никакого влияния на коагуляцию белков сернокислым цинком задерживает осаждение белков сулемой, медными солями и азотнокислым ураном.

В последней серии наших опытов мы исследовали вопрос влияния сахаров, мочевины и хлорал-гидрата на коагуляцию белков этиловым спиртом. Результаты данных наших опытов мы приводим в таблице № 9.

Т а б л и ц а № 9
О влиянии некоторых органических веществ на коагуляцию белков куриного яйца этиловым спиртом.

Наименов действ. веществ. Концентрац. веществ в %	Минимальная коагулирующая доза спирта в проц.				
	Глюкоза	Сахароза	Лактоза	Мочевина	Хлорал-гидрат
Контроль	6,0 проц.	6,0 проц.	3,0 проц.	3,0 проц.	6,0 проц.
0,4	—	—	—	3,0 "	—
0,6	—	—	—	—	3,0 "
0,8	—	—	—	3,0 "	—
1,2	15 "	9 "	3,0 "	3,0 "	3,0 "
1,6	—	—	—	6,0 "	—
1,8	—	—	—	—	3,0 "
2,0	—	—	—	6,0 "	—
2,4	18 "	12 "	6,0 "	9,0 "	3,0 "
2,8	—	—	—	9,0 "	—
3,0	—	—	—	—	3,0 "
3,6	18 "	12 "	9,0 "	—	3,0 "
4,8	18 "	15 "	12 "	—	—
6,0	13 "	15 "	15 "	—	—
7,2	18 "	15 "	8 "	—	—
8,4	18 "	15 "	18 "	—	—

На основании материалов, приведенных в таблице № 9, можно сделать следующие заключения:

1) Добавление сахаров к раствору белка снижает в значительной

тельной мере способность белка коагулироваться под влиянием этилового спирта.

2) Антиденатурирующее действие мочевины, хотя и проявляется, но бывает выражено слабо.

3) Хлорал-гидрат в малых концентрациях почти не оказывает никакого действия на коагуляцию белков этиловым спиртом.

На основании приведенных в работе экспериментальных данных мы позволим себе сделать следующие общие выводы.

В ы в о д ы.

1. Сахара задерживают коагуляцию белков куриного яйца солями тяжелых металлов и этиловым спиртом при чем сила антиденатурирующего действия зависит, как от природы сахара, так и от особенностей вещества, вызывающего коагуляцию.

2. Влияние сахаров на коагуляцию белков ароматическими соединениями либо совсем отсутствует, либо бывает выражено очень слабо.

3. Мочевина в очень слабой степени задерживает коагуляцию белков солями тяжелых металлов и спиртом.

4. Хлорал гидрат в малых концентрациях не оказывает никакого влияния на коагуляцию белков, в больших же концентрациях хлорал-гидрат сам вызывает осаждение белка.

В заключение надо отметить, что факт антиденатурирующего действия сахаров имеет по нашему мнению не только теоретическое значение, но может быть использован как в ветеринарии и медицине (для получения вакцин, и при лечении животных в тех случаях, когда патологический процесс сопровождается уменьшением дисперсности белков в организме и др., так и при технической обработке продуктов растительно и животного происхождения для предохранения их от денатурации.

Л и т е р а т у р а.

- 1) Kaye и Lloyd. — Biochem J. т. 18 1924.
 - 2) Schantz. — Biochemische Zeitschrift т. 71 1915.
 - 3) Schantz. — Arch. ges. Physiol т. 164 1916.
 - 4) Ruzicka. — Pflüg. Archiv. Bd. 194 1922.
 - 5) Bechhold. — Die Kolloide in Biologie u. Medizin 1929.
 - 6) Lichtwitz. — Klinische Chemie 1930.
 - 7) Handowsky. — Oppenheimer's Handbuch der Biochemie т. I 1924.
-

Prof. F. Berenstein und L. Aisenberg.

**„Über die Wirkung einiger organischer Verbindungen
auf die Koagulation des Eiweisses“.**

(Biochemische Laborium).

Auf Grund einiger Versuche kommen die Autoren zu folgenden Schlussfolgerungen.

Kohlenhydrate hemmen die Koagulation des Hühnereiweisses mit Salzen der Schwermetalle und Ethylalkohol, diese Hemmung fehlt vollkommen oder ist sehr schwach bei der Eiweisskoagulation durch aromatische Verbindungen; das Letztere trifft auch für Harnstoff zu. Chloral-Hydrat in schwachen Konzentrationen hat keine Einwirkung; in grösseren Mengen wirkt es selbst koagulierend. Dieser antidenaturierender Wirkung der Kohlenhydrate gegenüber Eiweisskoagulation schreiben die Autoren eine grosse Wichtigkeit in der Human und Tiermedecin zu.
