

УДК 543.554.4;535.015; 665.939.129

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВОГО ГИДРОЛИЗАТА С ЭКСТРАКТАМИ СОСНЫ

Сячинова Н.В., Гончарова Н.В.

ФГБОУ ВПО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления»,
Улан-Удэ, e-mail: c-h-v@mail.ru

Таннины – дубильные материалы растительного происхождения, широко используются при выделке шкур. Замена природы растворителя в процессе экстракции приводит к увеличению селективного выхода веществ из растительного сырья и как следствие – к изменению химических свойств получаемых экстрактов. В процессе лесозаготовительных работ, при окорке древесины, главным образом сосны, образуется большое количество отходов, которые могут быть интересны как альтернативное сырье для производства таннинов. Исследование дубящих свойств полученных из коры сосны экстрактов проводили на продуктах растворения коллагена (ПРК), моделирующих поведение кожаной ткани в процессе дубления, с привлечением методов потенциометрического титрования и спектроскопии. Проведенные исследования, связанные с определением характера взаимодействия в процессе дубления экстрактов коры сосны, полученных растворителями различной природы, с белковыми веществами, содержащимися в кожаной ткани, указывают на наличие значительного влияния способа экстракции на химическую активность таннинов.

Ключевые слова: таннины, сосновая кора, потенциометрическое титрование, спектроскопия

THE INTERACTION OF PROTEIN HYDROLYSATE WITH PINE EXTRACTS

Syachinova N.V., Goncharova N.V.

East Siberia State University of Technology and Management, Ulan-Ude, e-mail: c-h-v@mail.ru

The tannins are tanning materials of plant origin widely used in hide processing. Changing the type of a solvent in the extraction process increases the selective release of substances from plant raw material and, as a consequence, changes chemical properties of the produced extracts. During forest harvestings operation, wood debarking brings to a large amount of mainly pine waste, which may be of interest as an alternative raw material for the tannin production. Tanning properties of pine trees bark research was carried out using collagen solution products (CSP), simulating leather tanning process and involving potentiometric titration methods and spectroscopy. The studies have shown that the kind of the pine bark extracts (obtained by solvents of different nature) interaction with the protein substance of the leather material during the tanning process indicates a significant impact of the extraction method on the tannins' chemical activity.

Keywords: tannins, pine bark, potentiometric titration methods, spectroscopy

Таннины – дубильные материалы растительного происхождения, широко используются при выделке шкур. В России для промышленного получения дубильных экстрактов используются кора и древесина дуба, кора ели, ивы, лиственницы, корни ба- дана, тарана и некоторых других растений. Однако с развитием и совершенствованием технологий глубокой переработки растительного сырья появляется возможность получения дубильных экстрактов из нетрадиционных и/или низкосортных видов сырья. Замена природы растворителя в процессе экстракции приводит к увеличению селективного выхода веществ из растительного сырья и, как следствие, к изменению химических свойств получаемых экстрактов.

В Бурятии в процессе лесозаготовительных работ, при окорке древесины образуется большое количество отходов, главным образом сосны, преобладающей в видовом соотношении в лесах республики. Образующиеся отходы могут быть интересны как альтернативное сырье для производства таннинов.

Целью исследования явилось изучение дубящей способности экстрактов коры сосны, полученных различными способами.

Объектами исследования были сосновые экстракты, полученные методом традиционной водной экстракции, а также водно-спиртовые и водно-щелочные [8, 3].

Исследование дубящих свойств, полученных из коры сосны экстрактов, проводили на продуктах растворения коллагена (ПРК), моделирующих поведение кожаной ткани в процессе дубления методами потенциометрического титрования и спектроскопии [2].

Методом потенциометрического титрования нативных ПРК и ПРК, обработанных экстрактами, можно определить характер взаимодействия экстрактов с белком [1]. Изменение соотношения количества функциональных групп, содержащихся в дубленых и недубленых белковых соединениях, позволяет определить характер преимущественного взаимодействия экстрактивных веществ с ПРК (табл. 1).

Таблица 1

Количество функциональных групп, содержащихся в дубленых и недублёных белках

Объект исследования	pH = 1,5–6 боковые карбоксильные группы, ммоль/г	pH = 6–8,5 α – аминокислоты, ммоль/г	pH = 8,5–12 ϵ – амино- и гидроксильные группы, ммоль/г	Содержание амидного азота
ПРК	62,691	0,982	58,451	61,709
ПРК, обработанный водным экстрактом сосны	47,311	5,943	19,062	36,492
ПРК, обработанный водно-спиртовым экстрактом сосны	36,492	0	60,743	36,492
ПРК, обработанный водно-щелочным экстрактом сосны	47,379	0	63,154	47,379

Значительное уменьшение количества свободных функциональных групп у дубленых ПРК, по сравнению с нативными продуктами, свидетельствует об их взаимодействии с экстрактами сосны.

Химический состав полученных экстрактов в значительной степени влияет на характер взаимодействия и степень преимущественного связывания их с функциональными группами белка. При этом происходит переориентация активных центров ПРК, в результате чего часть функциональных групп высвобождается из-за разрушения межмолекулярных, водородных и координационных связей белковой спирали. Связывание водного экстракта сосны происходит преимущественно с карбоксильными группами (COO^-), ϵ -аминогруппами и амидным азотом белка, свободными остаются концевые α -аминогруппы. Таннины водно-спиртового экстракта связываются с группами амидного азота, α -аминогруппами и карбоксильными группами. Связывание таннинов водно-щелочного экстракта происходит преимущественно с карбоксильными (COO^-) и α -аминогруппами белка, а также с амидным азотом, при этом в значительной степени высвобождаются ϵ -аминогруппы.

Как видно из табл. 1, наибольшую химическую активность к продуктам растворенного коллагена проявляет водный экстракт сосны, на это указывает общее снижение количества функциональных групп у дубленых ПРК по отношению к нативным ПРК на 1 г белка: со $\sim 185,833$ ммоль/г до $\sim 108,808$ ммоль/г. Меньшая активность наблюдается у водно-спиртового экстракта сосны, который снизил общее количество функциональных групп у дубленого ПРК до $\sim 133,727$ ммоль/г. Водно-щелочной экстракт сохранил в дубленном ПРК до $\sim 157,912$ ммоль/г функциональных групп.

Однако, если оценивать эффективность взаимодействия экстрактов сосны по общему количеству образовавшихся связей с концевыми карбоксильными и α -аминогруппами белка, отвечающими, по мнению А.Н. Михайлова [5], за превращение шкуры животного в кожу, то, как видно из таблицы, наибольшую активность проявляет экстракт, полученный спиртовой экстракцией, немного уступает ему водно-щелочной экстракт сосны, в то время как традиционный водный экстракт является аутсайдером данной тройки. Взаимодействие же с другими функциональными группами большого влияния на процесс дубления коллагена не оказывает, так как в структуре дермы они прочно фиксированы внутри трехспиральной спирали межмолекулярными связями, и для экстрактивных веществ, проникающих через плотную структуру дермы, остаются недоступными.

Природу взаимодействия дубителей с белковым гидролизатом изучали методом ИК-спектроскопии [8].

ИК-спектроскопический анализ образцов был проведен в лаборатории молекулярной спектроскопии ЦКП «Прогресс» ФГБОУ ВПО ВСГУТУ на приборе ИК-Фурье спектрометр Nicolet-380, приставка Smart Multi-Bounce HATR.

Известно, что сдвиг полосы пропускания происходит в результате сопряжения электронно-донорного эффекта соседнего заместителя, ван-дер-ваальсовских сил, водородных связей. Мерой концентрации вещества служит интенсивность линий ИК-спектров. Образование водородных связей сопровождается понижением частоты и повышением интенсивности колебания —NH— группы. Ослабление связи может быть вызвано поляризацией другими полярными группами. Это приводит к уменьшению

частоты и увеличению интенсивности поглощения, т.е. уменьшению пропускания [4, 6].

Каждой химической группе соответствуют определенные частоты колебания, а следова-

тельно, и полосы пропускания в ИК-спектре. Различают интенсивность в максимуме поглощения и интегральную интенсивность (площадь под кривой поглощения) (рис. 1).

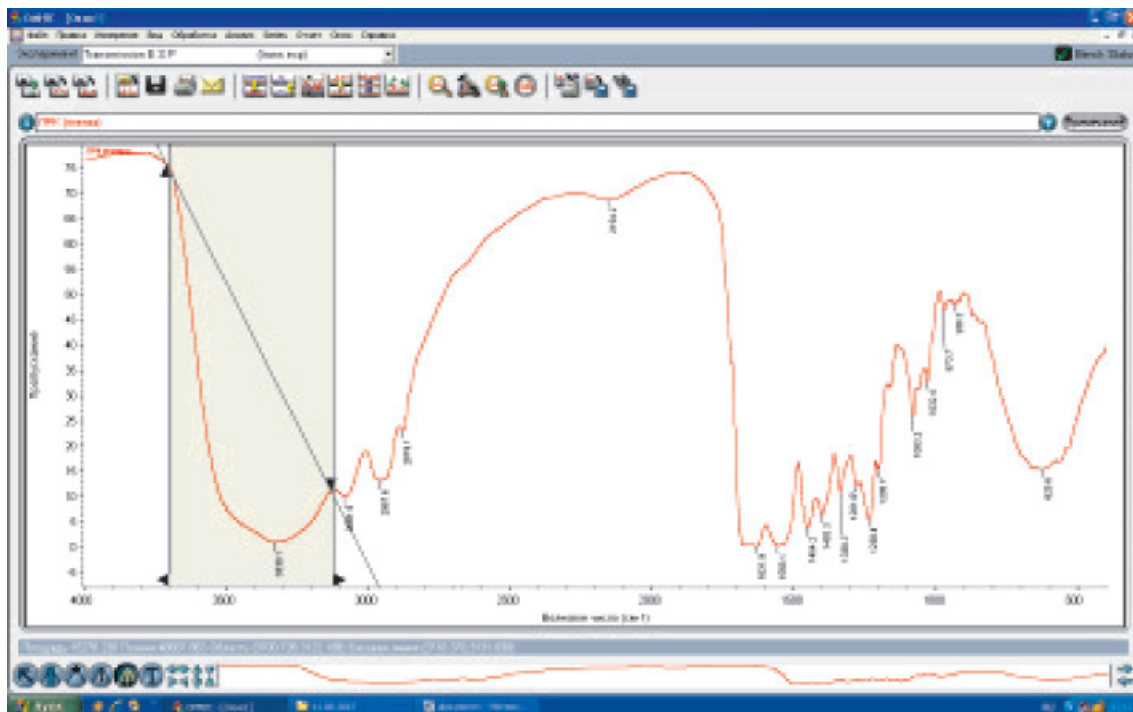


Рис. 1. Определение интегральной интенсивности

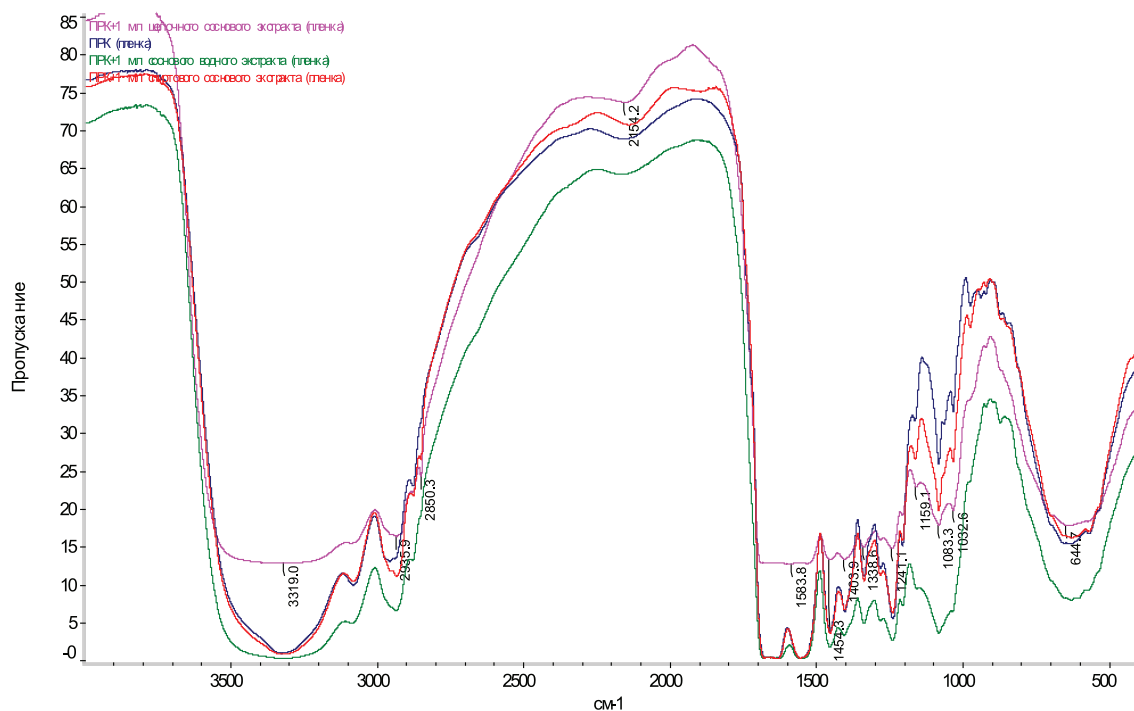


Рис. 2. ИК спектры белкового гидролизата и белкового гидролизата, обработанного экстрактами сосны

Интегральная интенсивность характеризует молекулярные процессы. Наиболее интенсивными в спектре являются пики, отвечающие валентным колебаниям функциональных групп.

ИК спектры нативных ПРК и ПРК, обработанных сосновыми экстрактами, извлеченными из растительного сырья растворителями различной химической природы, характеризуются интенсивными полосами в области валентных колебаний функциональных групп NH_3^+ , OH , межмолекулярные водородные, C-H , CH_2 , наблюдается увеличение интегральной интенсивности при обработке ПРК дубителями, а группы C-H , CH_3 при взаимодействии ПРК с экстрактами практически исчезают (рис. 2).

В области деформационных колебаний функциональных групп (CO , полоса амид-1, NH_2 , полоса амид-2, NH_3^+ аминокислотная полоса-1, $\text{OH}-\text{C} \leq \frac{\text{O}^-}{\text{O}}$) происходит

уменьшение интегральной интенсивности. Полученные данные свидетельствуют о том, что происходит увеличение молекулы ПРК за счет связывания дубителем NH_2 , OH , $\text{C}=\text{O}$ групп белка.

Увеличение интенсивности полос колебания в области $1350\text{--}900\text{ см}^{-1}$ происходит, по-видимому, вследствие разрыва связей между спиралями белка под действием экстрактов дубителя.

Таблица 2

Интегральная интенсивность поглощения функциональных групп ПРК и ПРК, обработанных сосновыми экстрактами

Область поглощения	Колебания функциональных групп	ПРК	ПРК, обработанный водным экстрактом сосны	ПРК, обработанный спиртовым экстрактом сосны	ПРК, обработанный водно-щелочным экстрактом сосны
		Интегральная интенсивность поглощения			
Валентные колебания					
3669–3000	– Колебания NH_3^+ – – Колебания <i>ОН межмолекулярные водородные связи</i>	15278,23	15134,396	15902,854	15071,013
3019–2883	Колебания C-H CH_3	607,58	430,729	692,102	342,998
Деформационные колебания					
1751–1582	– Полоса поглощения CO , Полоса амид-1-третичны емиды – Полоса поглощения <i>амид1 (CO) – другие кислоты</i> – Колебания NH_3^+ – аминокислотная полоса1	2486,28	2460,962	2422,457	–
1587–1477	Колебания NH_2 , Полоса амид 2 –	685,509	473,615	781,786	6173,166
1484–1351	– Колебания NH_3^+ – <i>(Неплоские) колебания</i> $\text{OH} - \text{C} \leq \frac{\text{O}^-}{\text{O}}$	246,043	94,556	204,641	60,574
1351–1290	Колебания OH и C-H Третичные спирты, фенолы	184,94	67,986	143,665	38,646
1290–1207	Колебания $\text{C} = \text{O}$, – колебания C-O или колебания OH	278,761	116,692	264,041	100,678
1124–930	– Внеплоскостные колебания CH_2 , – Колебания $\text{C} = \text{O}$, – <i>(вне плоскостные) колебания ОН</i>	120,812	1018,434	281,123	152,327
910–555	– Колебания. – $\text{O-N} = \text{O}$ – Колебания C-H 1-3-т	6725,442	5413,035	6596,510	5656,018

Уменьшение количества групп и интегральной интенсивности $-\text{NH}_2$, $-\text{C}=\text{O}$ групп и усиление интегральной интенсивности $-\text{OH}$ группы (табл. 1) свидетельствуют о том, что при добавлении экстрактов дубителей к белковому гидролизату происходит взаимодействие $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ и $-\text{C}=\text{O}$ групп гидролизата с экстрактами. Это взаимодействие, как показало потенциометрическое титрование, сопровождается уменьшением количества свободных функциональных групп в молекуле белка.

Таким образом, проведенные исследования, связанные с определением характера взаимодействия в процессе дубления экстрактов коры сосны, полученных растворителями различной природы, с белковыми веществами, содержащимися в кожаной ткани, свидетельствуют о значительном влиянии способа экстракции на химическую активность таннидов. Спиртовые и щелочные экстракты сосны согласно полученным результатам потенциометрического титрования и ИК-спектроскопии проявляют большую химическую активность с конче-

выми карбоксильными и α -аминогруппами белка, что позволяет их рассматривать как перспективные дубители.

Данная работа выполнена в рамках государственного задания № 01201462824.

Список литературы

1. Аналитические методы белковой химии. – М.: Изд-во «Иностранная литература», 1963. – 643 с.
2. Гончарова Н.В., Сячинова Н.В., Думнова Е.А. Изучение влияния природы экстрагента на качественные характеристики сосновых экстрактов // Кожа и мех в XXI веке: технология, качество, экология образование: материалы V Международной научно-практической конференции 14–18 сентября. – Улан-Удэ, 2009. – С. 68–73.
3. ГОСТ 28508–90. Экстракты дубильные растительные. Методы определения.
4. Казицина Л.А., Куплетская Н.Б., Применение УФ, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. – М.: Высшая школа, 1971. – 386 с.
5. Михайлов А.Н. Коллаген кожного покрова и основы его переработки. – М.: Легкая индустрия, 1971. – 528 с.
6. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. – М.: Мир, 1965. – 420 с.
7. Пермякова Г.В., Лоскутов С.Р., Семенович А.В. Экстракция коры хвойных пород водно-органическими экстрагентами // Химия растительного сырья. – 2008. – № 2. – С. 43–46.
8. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия. – М.: Мир, 1982. – 340 с.