

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН ПРОСТОРОВОЇ ТА ЕЛЕКТРОННОЇ БУДОВИ КРОХМАЛЮ ПРИ ГІДРОЛІЗІ

Качковський О.О., Грабовська О.В., Штангеева Н.І., Дегтярьов Л.С.

Вступ

Процеси каталітичного гідролізу крохмалю покладені в основу ряду важливих технологій, наприклад, отримання глюкози, патоки, харчових сиропів, мальтози тощо. Але ряд аспектів механізму гідролізу ланцюгів амілози та амілопектину залишається практично не вивчений. Ферментативний гідроліз – специфічний, тому при його проведенні (при правильному виборі фермента та високій його чистоті) отримують гідролізати практично без домішок. Кислотний вважається некерованим та жорстким, оскільки при його проведенні паралельно відбувається ряд небажаних процесів, таких як: утворення забарвлених речовин; накопичення в гідролізатах продуктів неповного гідролізу, зокрема α -гентіобіози, яка має α -1,6 глюкозидний зв'язок, та інших.

Метою нашої роботи було вивчення електронної будови фрагментів амілози та амілопектину із зв'язками α -1,4 та α -1,6 з метою виявлення передумов утворення забарвлених речовин в процесі гідролізу внаслідок розриву C-C зв'язків з утворенням спряжених систем (хромофорів).

Електронна будова модельних фрагментів крохмалю

Квантово-хімічні розрахунки електронної будови фрагментів молекули крохмалю проводилися в стандартному наближенні AM1 і CNDO/2. Досліджувались фрагменти, які складаються з двох залишків глюкози, достатні для вивчення реакції гідролізу α -1,4 та α -1,6 зв'язків. Оптимізацію молекулярної геометрії модельного фрагмента крохмалю (з точністю градієнта 0,5 ккал/моль) було проведено в наближенні AM1 (що коректно передає геометрію молекули), а електронна будова отримана в наближенні CNDO/2 (що найкраще корелює з експериментальними оцінками зарядів).

З метою вивчення моделі реакції гідролізу α -1,4 глюкозидного зв'язку була розрахована вихідна молекула, протонована форма (по кисню O_g) і фрагмент з протоном H^+ і OH^- , який моделює гідроліз крохмалю при каталітичній дії ферментів (одночасному створенні надлишку кислоти і лугу в розчині). Дослідження процесу гідролізу крохмалю α та β -амілазами [1,4] в $H_2^{18}O$ підтверджують саме такий механізм і уможливають прийняте наближення (протонування по O_g та OH^- по C_1) для ферментативного гідролізу).

Довжини зв'язків і заряди на атомах, що задіяні в реакції гідролізу, представлені на рис.1

При ферментативному гідролізі (рис.2в.) зв'язок O_g-C_6 подовжується з 1.43Å до 2.63Å (за прийнятих умов наближення) та може легко дисоціювати на іони.

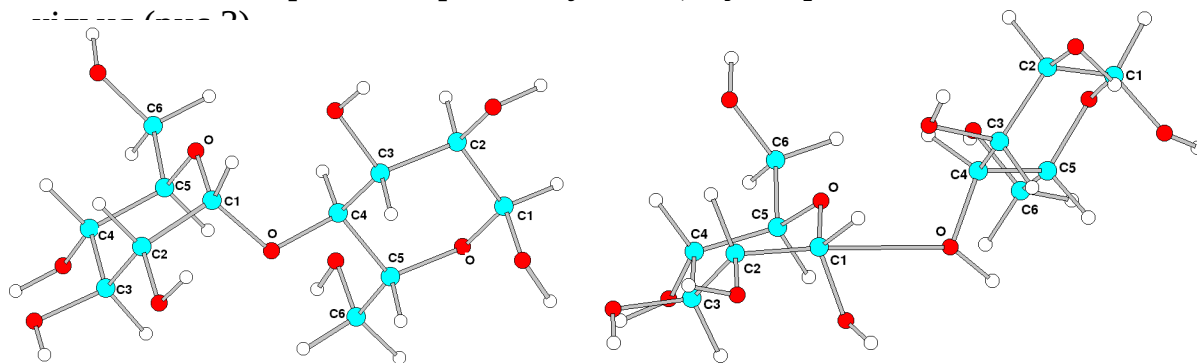
Привертають увагу помітні зміни у значеннях валентних кутів $\alpha-1,4$ та $\alpha-1,6$ глюкозидного зв'язків (таблиця 1).

Таблиця 1.

Позначення	Значення кутів, °		
	Вихідна модель	Протонована форма	За умов дії ферменту
При $\alpha-1,4$ глюкозидному зв'язку			
$C_1 - O - C_4$	114,107	116,105	109,387
$C_2 - C_1 - O$	109,702	103,857	175,859
При $\alpha-1,6$ глюкозидному зв'язку			
$C_6 - O - C_1$	116,465	113,099	96,273

При протонуванні помітно, що кут $C_1-O_g-C_4$ змінюється з 114.107° (вихідна модель) до 116.105° , що свідчить про незначне відхилення від оптимального значення 117° [2,3]. Зміни в $\alpha-1,6$ зв'язку аналогічні. Проте, при моделюванні ферментативного гідролізу кут $C_1-O_g-C_4$ змінюється з 114.107° до 109.387° , а $C_1-O_g-C_6$ з 116.465° до 96.273° .

Ще більш глибокі зміни відбуваються при ферментативному гідролізі для кута $C_2-C_1-O_g$. Він змінюється з 109.7° (вихідна модель) до 175.86° , вивертаючи при цьому площину першого глюкозидного зв'язку.



а.

б.

Рис.3. Зміни просторової будови фрагменту з $\alpha-1,4$ зв'язком при ферментативному гідролізі
а.- вихідна модель
б.- фрагмент при дії ферменту

Такі зміни є результатом того, що вуглець C_1 зв'язаний з трьома киснями, кожен з яких має неподілену пару електронів, які створюють сильне відштовхування. Таке зміщення кутів та площини

молекули енергетично не вигідне, тому молекула прагне зайняти конформацію з мінімумом енергії, а це можливо при дисоціації на іони (за прийнятих умов наближення).

Значні зміни в площинах та значеннях валентних кутів, на наш погляд, свідчать про подовження ланцюгів амілози та розкручування спіралей амілози та амілопектину (лінійних ділянок та ділянок з незначним розгалуженням) за умов ферментативного гідролізу, що може сприяти підвищенню реакційної здатності молекули та більшій доступності її. Таких змін при кислотному гідролізі практично не відбувається (за прийнятого наближення: протонування лише по кисням у глюкозидних зв'язках). Ми вважаємо це також причиною жорстких умов кислотного гідролізу (недоступність реакційних центрів) та необхідністю нагрівання для проходження гідролізу.

Енергія активації ферментативного гідролізу $32.7 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ [4], чи $54.34\text{-}66.88 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ [5]. Відмінності у значеннях, очевидно, зумовлені не розбіжністю в розрахунках, а, можливо, іншими факторами при проведенні досліджень.

Енергія активації для кислотного гідролізу становить $138.6 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ при рН 1.0 [4], чи $127.49 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ [5].

Така різниця у значеннях енергії активації ферментативного та кислотного гідролізу, на наш погляд, свідчить про те, що за умов ферментативного гідролізу нагрівання необхідне для активації ферменту.

Енергія активації розкладання глюкози $124.98 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ [5]. Цим же автором вказано на неможливість гальмування реакції розкладання глюкози ні зміною температури, ні зміною концентрації кислоти. За іншими даними енергія активації в середовищах з рН < 3 та рН > 4 відповідно становить 138.2 та $110.8 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ [6].

Енергія активації кислотного гідролізу близька до енергії активації розкладання глюкози, що зумовлює появу в гідролізатах забарвлених речовин за рахунок розриву зв'язків С-С з утворенням спряжених систем. Це добре узгоджується з встановленим нами подовженням зв'язку $\text{C}_1\text{-O}_8$ в $\alpha\text{-1,6}$ глюкозидному зв'язку до 1.54Å і відповідністю довжині зв'язку С-С (1.54Å).

Висновки. Співпадання енергії активації кислотного гідролізу з енергією активації кислотного розкладання глюкози (переважно за рахунок деградації С-С зв'язків) та недоступність молекули свідчать про неможливість у виробничих умовах уникнути стрімкого наростання забарвленості при кислотному гідролізі. Недоступність ланцюгів крохмалю сприяє створенню локальних переокислювань, що також важко не допустити на виробництві.

На незначне наростання забарвленості при ферментативному гідролізі чинники, розглянуті в цій роботі, практично не впливають.

Література.

1. Степаненко Б.Н. Химия и биохимия углеводов (полисахариды). – М.: Высшая школа, 1978. – 256 с.
2. Дашевский В.Г. Конформационный анализ макромолекул. – М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит., 1987(Физика жизненных процессов). – 288 с.
3. Cael J.J., Koenig J.L., Blackwell J. Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. Part 3. // Carbohydrate research. – 1973. – 29. – p. 123-134.
4. Жеребцов Н.А., Руадзе Н.Д. Особенности кислотного и ферментативного гидролиза крахмала. // Изв. вузов. Пищевая технология. – 1994. – № 3-4. – с. 14-18.
5. Технология крахмала и крахмалопродуктов. Трегубов Н.Н., Бычков Б.К., Векслер Б.А. и др. – М.: Пищевая пром.-сть, 1970. – 572 с.
6. Сапронов А.Р., Колчева Р.А. Красящие вещества и их влияние на качество сахара. – М.: Пищевая пром.-сть, 1975. – 348 с.

