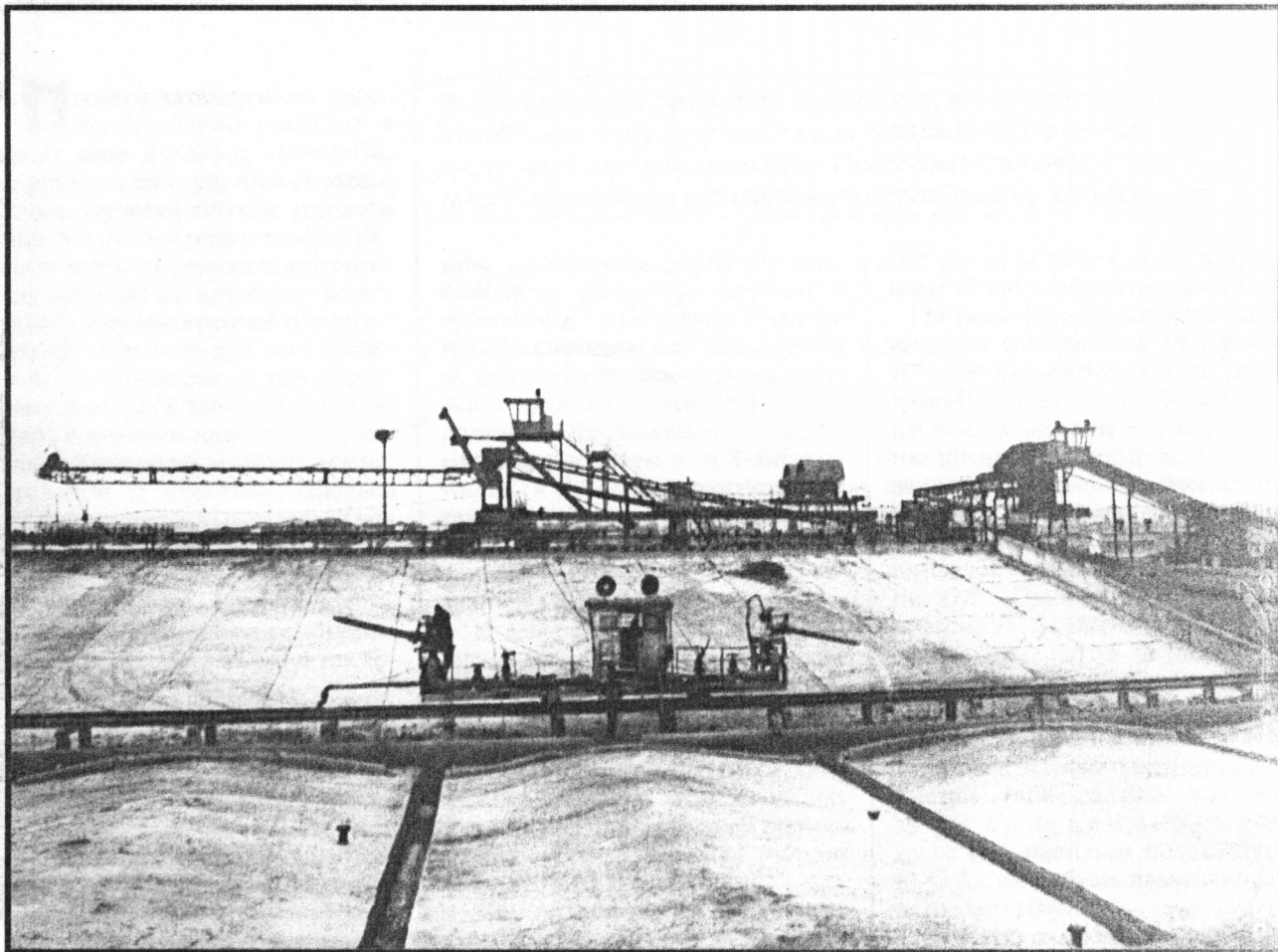


ЦУКОР УКРАЇНИ

Науково-практичний галузевий журнал



Научно-техническое общество "Бирюза-4"
01024, г. Киев, ул. Лютеранская 20,
УкрНИИСП, к.308, 309
т/ф. (044) 229-4068, т. 228-8133
E-mail: bum@carrier.kiev.ua
<http://www.sugar-ukr.com>

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН ПРОСТОРОВОЇ ТА ЕЛЕКТРОННОЇ БУДОВИ КРОХМАЛЮ ПРИ ГІДРОЛІЗІ

Качковський О.О. — Український НДІ цукрової промисловості

Грабовська О.В., Штангеева Н.І., Дегтярьов Л.С. — Український державний університет харчових технологій

Процеси каталітичного гідролізу крохмалю покладені в основу ряду важливих технологій, наприклад: при отриманні 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 ферменту 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 барвних речовин, накопичення в гідролізатах продуктів неповного гідролізу, зокрема, α -гентиобіози, яка має α -1,6 глюкозидний зв'язок, та інших.

Метою дослідження було вивчення електронної будови фрагментів амілози та амілопектину із зв'язками α -1,4 та α -1,6 для виявлення передумов виникнення барвних речовин в процесі гідролізу внаслідок розриву C—C зв'язків з утворенням спряжених систем (хромофорів).

Квантово-хімічні розрахунки електронної будови фрагментів молекули крохмалю велися 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. Оптимізація молекулярної геометрії модельного фрагмента крохмалю (з точністю градієнта 0,5 ккал/моль) була проведена 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 були розраховані вихідна моле-

В статті наведені результати досліджень, які показали неможливість запобігання стрімкому зростанню забарвленості в процесі кислотного гідролізу крохмалю. При ферментативному гідролізі такого підвищенню забарвленості гідролізатів не відбувається.

кула, протонувана форма (по глюкозидному кисню O_g) і фрагмент з протоном H^+ і OH^- , який моделює гідроліз крохмалю при каталітичній дії ферментів та 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.

У вихідній молекулі на атомах кисню зосереджений суттєвий негативний заряд, зумовлений індуктивним ефектом. Тому на сусідніх атомах вуглецю виникають позитивні заряди, особливо на вуглеці C_1 , який зв'язаний з двома атомами кисню. Такий розподіл електронної густини створює передумови для розриву зв'язку $C_1—O_g$ при гідролізі.

При моделюванні кислотного гідролізу розрахунки були виконані для протонуваної форми по атому кисню в α -1,4 глюкозидному зв'язку. Встановлено значне зменшення величини негативного заряду на атомі кисню в α -1,4 глюкозидному зв'язку і дещо менше — на атомі кисню в піранозному кільці. Водночас відбулося деяке збільшення величини позитивного заряду на атомі вуглецю C_1 ; заряди на інших атомах менш чутливі до протонування.

Встановлено також, що протонування веде до суттєвого подовження зв'язку $C_1—O_g$ в α -1,4 глюкозидному зв'язку (1,59 Å), що сприяє остаточному його розриву. Деякого подовження зазнає і зв'язок $O_g—C_4$ в α -1,4 глюкозидному зв'язку (1,47 Å), в

той час як зв'язок $C_1—O$ в піранозному кільці зменшується на 0,05 Å.

За умов ферментативного гідролізу при одночасному приєднанні H^+ і OH^- зміни в просторовій і електронній будові значно більші. Так, наприклад, негативні заряди на атомах кисню, на відміну від протонування, дещо зростають порівняно з вихідною молекулою. Значно зменшується заряд на атомі вуглецю C_1 внаслідок приєднання до нього групи OH^- . Одночасне приєднання протона H^+ і негативно зарядженої групи OH^- ліквідує дефіцит електронної густини на атомах вуглецю C_3 , C_4 і C_5 другого піранозного кільця. Така електронна будова веде до того, що в результаті оптимізації геометрії (при заданій точності) зв'язок $C_1—O_g$ в α -1,4 глюкозидному зв'язку настільки подовжується (2,43 Å), що набуває практично іонного характеру.

У зв'язку α -1,6 встановлено глибші зміни, зокрема зв'язок $C_1—O_g$ при протонуванні подовжується з 1,43 Å до 1,54 Å і відповідає довжині зв'язку C—C (1,54 Å).

При ферментативному гідролізі зв'язок $O_g—C_6$ подовжується з 1,43 Å до 2,63 Å (за прийнятих умов наближення) та може легко дисоціювати на іони.

Привертають увагу помітні зміни у значеннях валентних кутів α -1,4 та α -1,6 глюкозидних зв'язків (табл. 1).

При протонуванні 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]. Аналогічні і зміни в α -1,6 зв'язку. Проте, при моделюванні ферментативного гідро-

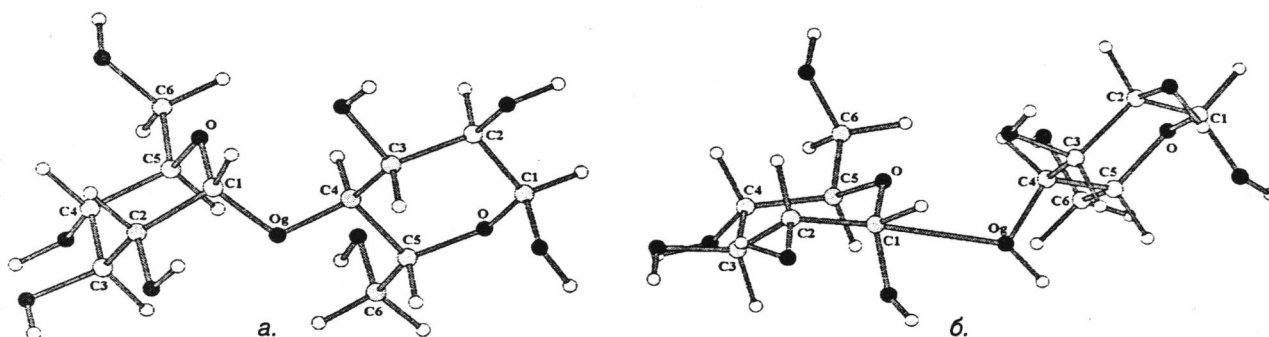


Рис. 1. Зміни просторової будови фрагменту з α -1,4 зв'язком при ферментативному гідролізі: а) – вихідна модель; б) – фрагмент при дії ферменту.

лізу кут $C_1-O_8-C_4$ змінюється з $114,107^\circ$ до $109,387^\circ$, а $C_1-O_8-C_6$ – з $116,465^\circ$ до $96,273^\circ$.

Ще більш глибокі зміни відбуваються при ферментативному гідролізі для кута $C_2-C_1-O_8$. Він змінюється з $109,7^\circ$ (вихідна модель) до $175,86^\circ$, вивертаючи при цьому площину першого глюкозидного кільця (рис.1).

Ці 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 невигідне, 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). Вважаємо це також причиною

жорстких умов кислотного гідролізу (недоступність реакційних центрів) та необхідності нагрівання для проходження гідролізу.

Енергія активації ферментативного гідролізу, за різними джерелами становить або $32,7 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ [4], або $54,34\text{--}66,88 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ [5]. Розбіжність у значеннях, очевидно, зумовлена 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 pH 1,0 [4] чи $127,49 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ [5].

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

Енергія активації розкладання глюкози – $124,98 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ [5]. Цим же автором вказано на неможливість гальмування реакції розкладання глюкози ані зміною температури, ані зміною концентрації кислоти. За іншими даними, енергія активації в середовищах з $pH < 3$ та $pH > 4$ 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 барвних речовин за рахунок розриву зв'язків $C-C$ з ут-

воренням спряжених систем. Це добре узгоджується з встановленим нами подовженням в α -1,6 глюкозидному зв'язку C_1-O_8 до $1,54 \text{ \AA}$ і відповідністю довжини зв'язку $C-C$ ($1,54 \text{ \AA}$).

Таким чином, збіг величин енергії активації кислотного гідролізу та енергії активації кислотного розкладання глюкози (переважно за рахунок деградації $C-C$ зв'язків) та недоступність молекули свідчать про неможливість у виробничих умовах уникнути стрімкого наростання забарвленості при кислотному гідролізі. Недоступність ланцюгів крохмалю сприяє створенню локальних перекислювань, що також важко не допустити на виробництві.

На незначне зростання 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. – р. 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.

Табл. 1.

Позначення	Значення кутів, °		
	Вихідна модель	Протонована форма	За умов дії ферменту
При α -1,4 глюкозидному зв'язку			
$C_1-O_8-C_4$	114,107	116,105	109,387
$C_2-C_1-O_8$	109,702	103,857	175,859
При α -1,6 глюкозидному зв'язку			
$C_6-O_8-C_1$	116,465	113,099	96,273