

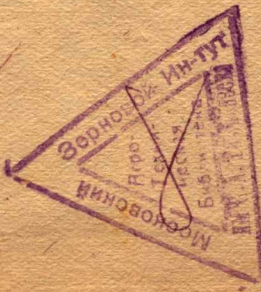
547

п. 859 б. 8

6853.



63.154
54.160
17-85



X

433

ВОЗВРАТИТЕ КНИГУ МНЕ, ПО
ОБОЗНАЧЕННОМУ ЗДЕСЬ СРОКУ

6853

3:54
~~547.630~~

Д. Н. Прянишников

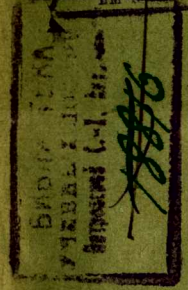
17.76
ПРОВЕРЕНО
1935 г.

~~17-85~~
547
17-85 б. в.

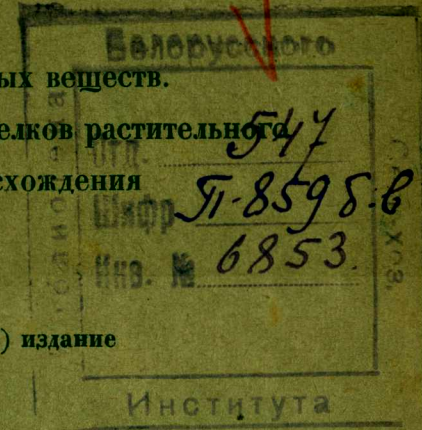
~~547.96~~
~~17-85~~

6853, 5.6X24.

БЕЛКОВЫЕ ВЕЩЕСТВА

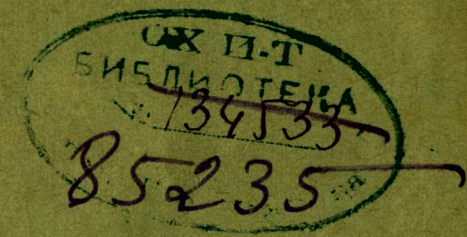


Общая химия белковых веществ.
Главные представители белков растительного
и животного происхождения



2-е (переработанное) издание

75233



Издание М. и С. Сабашниковых
1926

Оглавление.

Общая характеристика белковых веществ.

Предисловие	V
Значение белков, их элементарный состав	1
Реакции окрашивания	6
Свертывание и осаждение	9
✓ Соединения белка с кислотами и основаниями	14
Сера в белковой молекуле	19
О кристаллизации белковых веществ	21
Белки, как коллоиды	23
Ближайшие компоненты белковой молекулы	36
✓ Учет продуктов гидролиза	46
Вопрос о строении белковой молекулы	52
✓ Синтетические полипептиды Фишера и вопрос о синтезе белка ¹⁾	60
Конечные продукты гидролиза белковых веществ	71
(Одноосновные моноаминокислоты жирного ряда 73. Одноосновные моноамино-оксикислоты 77. Двухосновные моноаминокислоты 78. Моноаминокислоты ароматического ряда 81. Ди-аминокислоты (гексоновые основания) 84. Тио-аминокислоты 87).	
✓ Альбумозы и пептоны	88
Участие углеводной группы в построении белковой молекулы	93
Действие на белки галоидов и окислителей	96
Молекулярный вес	96

Классификация растительных белков; описание отдельных представителей.

Краткая историческая справка	99
Классификация Риттгаузена; ее видоизменения, предложенные автором и Осборном	102

¹⁾ К этой главе относится дополнение, помещенное в конце книги (стр. 163).

Выделение белковых веществ из семян.	115
Белки зерен злаков	118
Белковые вещества семян бобовых	131
Белковые вещества семян, богатых маслом	138

Главные представители белков животного происхождения.

Альбумины (152), глобулины (153), гистоны (154), протамины (155), склеропротеиды (156), фосфопротеиды (158), нуклеопротеиды (158), глюкоропротеиды (161), гемоглобин (162).

Дополнение к стр. 70	163
Список пособий по химии белковых веществ	168

ПРЕДИСЛОВИЕ.

Первое издание «Белковых веществ» появилось в 1914 году в качестве одного из выпусков серии, носившей общее заглавие «Химии растения»¹⁾; но в настоящем (2-м) издании, кроме ряда дополнений в общей части, введено еще и краткое описание белков животного происхождения, при чем известное несоответствие объемов этого отдела и отдела о растительных белках частью смягчается тем обстоятельством, что первая часть (общая химия белковых веществ), занимающая большую часть книги, относится одинаково к белкам как растительного, так и животного происхождения.

По прежним предположениям автора «Белковые вещества» должны были бы являться одной из глав некоторой общей серии,

¹⁾ Эта серия выпусков возникла из лекций по агрономической химии, которые читал автор в Московском Университете с 1892 г. и на Голицынских курсах (1908—1920); в эти лекции входил обычно отдел химии растения, на-ряду с химией удобрения, тесно связанной с химией почвы. Такой цикл (растение — почва — удобрение) требует тесной увязки с точки зрения учебного плана агрономической школы, в особенности такая увязка важна для успеха исследовательской работы, необходимой в интересах земледелия, а одновременно она многое дает и для физиологии растения; однако, при иных целевых заданиях отдельные звенья такого цикла вступают в иные комбинации. В частности глава о белковых веществах является таким звеном, которое может относиться к разным курсам (органическая химия, биохимия медицинская, агрономическая химия и т. д.), сообразно учебному плану каждой школы. Но с точки зрения книжного рынка представляется удобным сделать такое звено общего значения, как «Белковые вещества», более подвижным, независимым от местных рамок, чтобы оно было доступно в отдельности читателям разнообразных кругов и различных интересов. Если настоящая форма издания не вполне еще отвечает этой цели, то все же те изменения, которые мог ввести автор, направлены в означенную сторону.

посвященной тем группам органических соединений, которые представляют наибольшую важность с точки зрения биологической; таким звеном этой серии являются также «Углеводы», выпущенные автором в 1917 году вторым изданием; если автор по ряду причин не мог осуществить составление других частей этой серии, то теперь этот пробел пополнен в отношении жиров книгой проф. Н. Я. Демьянова и Н. Д. Прянишникова «Жиры» (Химия и анализ, Госиздат, 1924 г.) и в отношении алкалоидов выпуском другой части лекций Н. Я. Демьянова по агрономической химии, носящим заглавие «Азотистые гетероциклы»¹⁾.

В виду того, что за время, протекшее между сдачей рукописи в печать и выходом книги, высказаны были некоторые новые соображения о строении белковой молекулы, а по техническим условиям печатания упоминание о них не могло быть уже вставлено в текст, соответственное дополнение помещено в конце книги (стр. 163).

Д. Прянишников.

12 X 1925.

¹⁾ Н. Я. Демьянов. Азотистые гетероциклы (из лекций по агрономической химии — конспект, составленный Н. Д. Прянишниковым). М. 1923 г.

547:630
Ж-85

Белковые вещества.

Белковые вещества присутствуют в каждой живой клетке и являются главной составной частью протоплазмы, представляя из себя непреходящую материальную основу жизненных явлений (по крайней мере до сих пор мы не знаем жизни без белка); поэтому изучение химической природы белков представляет первостепенный интерес для химика и биолога.

Нельзя, конечно, непосредственно отождествлять задачу выяснения химического строения белков с отысканием ключа к пониманию жизненных явлений в целом, как думали еще недавно некоторые биологи, полагавшие, что синтез белка вскроет тайну живой клетки, и пытавшиеся даже определить различие между строением «живого» и «мертвого» белка, понимая здесь под строением структуру молекулы (Loew 1900). Между тем ясно, что отдельный белок, как и любое химически однородное вещество, не может быть живым, а тем более не может существовать «живых молекул» (о которых недавно говорили некоторые зоологи); особенность жизненных явлений состоит не в существовании специфических молекул, а в согласовании превращений тех же самых молекул, с которыми имеет дело и химик. Части живой клетки (ядро, плазма, хлоропласты) имеют различный состав, и сама плазма не есть химический индивидуум, но сложная смесь белков и иных коллоидов разной консистенции; изучение этого сложного механизма есть задача биологии, и вот на этом пути понимание химического строения белковой молекулы и знание основных свойств белков являются тем необходимым этапом, без которого нельзя вообще изучать обмена веществ в живой клетке, нельзя в частности составить представления о про-

цессах синтеза и распада белков в растительном и животном организмах.

Белковыми назвали всю эту группу веществ только потому, что белок куриного яйца, богатый альбумином, является издавна излюбленным объектом для воспроизведения обычных реакций на белки вообще и удобным материалом для изучения свойств альбуминов, т. е. одной из главных групп белковых веществ. Столь же охотно (а некоторыми авторами даже предпочтительно) употребляется для обозначения этой группы другой термин — *протеиновые* вещества, (от греческого *πρωτος* — первый, важнейший ¹⁾).

Белки встречаются в растении в различном состоянии, именно, в небольшом количестве они находятся растворенными в клеточном соке, в коллоидальных массах разной консистенции они находятся в плазме деятельных клеток, а в виде твердых отложений (иногда в кристаллах), они скопляются в качестве резервных веществ в семенах напр. эндосперме злаков, в семенодольях бобовых, масличных растений.

В отличие от животного организма, где белки преобладают по массе над углеводами и жирами, в растениях белки представляют обычно по количеству лишь меньшую часть, по сравнению с суммой безазотистых веществ, образующих главную массу большинства органов, но это не мешает белкам играть главную роль в жизни растения; они одни ничем незаменимы, тогда как остальные вещества могут замещать друг друга (так, запас безазотистой пищи может быть отложен или в виде растворимых углеводов, или в виде крахмала, жиров, резервной клетчатки; в других случаях типичная клетчатка может замещаться пентозанами и другими видами гемицеллюлоз, маннозо-целлюлозой и пр.).

Вот несколько примеров, указывающих на содержание белков в различных объектах.

Хлебные зерна содержат чаще всего около 12% белковых веществ (главная масса их состоит из крахмала, составляющего около $\frac{2}{3}$ от веса зерен); значительное отступление вверх представляют зерна твердой пшеницы (*Triticum durum*), которая может содержать 18—20% белка; а отступление вниз имеем в случае риса, где со-

¹⁾ Это обозначение употребляется со времени Мульдера (1840), который полагал, что все белковые вещества суть производные одного радикала — протейна; хотя существование протейна в смысле Мульдера не подтвердилось, но общее обозначение этой группы веществ, как *протеиновых*, удержалось.

держание белков опускается до 7% ¹⁾. Семена бобовых богаче белками, но и в них белки составляют обычно не больше чем $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ от веса семян (горох — 23%, вика — 28%, желтый люпин — 35%); если от органов, богатых белками, перейти к таким, которые их содержат немного, то на этом противоположном конце списка мы найдем такие водянистые и богатые углеводами объекты, как корни и клубни; так в клубнях картофеля содержится лишь 2% белка ²⁾, в свекловице содержание это может опуститься до 1%, в репе — до 0,8%.

Если взять для одного и того же растения органы разного возраста, то молодые, растущие и деятельные органы обычно более богаты белком, чем отживающие; так богаты белками почки, молодые листья; в стволе деревьев камбий богаче белком, чем прилегающие к нему древесина и кора. При отмирании листьев белки из них перемещаются в те вегетативные части растения, которые являются зимующими, или в семена; так, при созревании хлебных злаков главная масса белков, первоначально находящаяся в листьях, позднее оказывается перемещенной в зерна, так что засыхающие листья уже бедны белками; вот пример из давно известной работы Isidore-Pierre'a (1866 г.):

	22 июня.	25 июля.	
Колич. белка в колосьях	17,0 килогр.	50,0 килогр.	} на одинаковой величины деланках.
Колич. белка в листьях	42,7 »	16,3 »	

Точно также перед опадением листьев с деревьев, белковые вещества из них перемещаются в другие органы; наибольшее количество белков содержится в молодых листьях весной; чем ближе к осени, тем беднее листья белками.

¹⁾ Отсюда видно, что зерно твердой пшеницы по содержанию белков может приближаться к мясу, взятому с обычным содержанием воды, а по «калорийности» зерно пшеницы много выше мяса (ибо в нем по массе преобладает крахмал, а в мясе — вода); с другой стороны, рис содержит чуть не в три раза меньше белков, чем мясо. Таким образом, и в пределах вегетарианского питания, возможны большие колебания в белковом режиме.

²⁾ На самом деле еще меньше, ибо приведенные цифры относятся к так наз. «сырому протейну», количество которого приближенно определяют по содержанию азота, помножая последнее на коэффициент 6,25%; но корни и клубни содержат значительную часть азота в виде амидосоединений, что не учтено в приведенных данных.

Будучи важнейшими для физиологической химии веществами, белки однако представили как раз наибольшие трудности при исследовании; они трудно поддаются индивидуализации, так как наиболее употребительные в лабораториях методы, как раз здесь, оказались не приложимыми; так, белки не только не могут быть очищаемы и разделяемы перегонкой, так как они не летучи (при нагревании разлагаются, давая запах жженных перьев), но в большинстве случаев они и не кристаллизуются; да и самая кристаллизация их, если она удастся, не дает уверенности в полной однородности получаемого материала (см. ниже). Что касается элементарного состава, то хотя он не вполне одинаков для разных видов белка, но в нем недостаточно отражаются различия в природе отдельных представителей этой группы.

Нередко, желая подчеркнуть главную особенность элементарного состава белков, их обозначали как соединения «четверного типа» (combinaisons quaternaires), т. е. состоящие из четырех органогенов (C, O, H, N), в противоположность соединениям «тройного типа» (combinaisons ternaires), не содержащим азота, каковы углеводы и жиры; но кроме названных четырех элементов, являющимися главными, в состав белков входит еще сера (правда, в меньших и не столь постоянных количествах); кроме того, обычно препараты белка содержат большие или меньшие количества фосфорной кислоты (отчасти и других зольных элементов), но фосфор не является составной частью самой белковой молекулы — он входит в состав кислот (как нуклеиновая), дающих соединения с белком.

По процентному содержанию названных элементов (C, O, H, N, S) белки не могут быть вполне строго охарактеризованы, так как, для разных представителей этой группы, анализ дает не совпадающие цифры.

Вот наиболее обычные пределы колебаний в содержании главных элементов, входящих в состав белковой частицы, для разных белков:

Углерода	50 — 55 %
Водорода	6,5 — 7,2 »
Азота	15,2 — 19,2 »
Кислорода	20 — 23,7 »
Серы	0,3 — 2,4 »

Либеркюн, предполагая, что в состав белковой молекулы входит лишь один атом серы, пытался выразить этот элементарный состав альбумина крови формулой $C_{72}H_{112}N_{18}O_{22}S$, что отвечало бы моле-

кулярному весу в 1612; ниже мы увидим доказательства того, что на самом деле величина молекулярного веса для белка должна быть значительно большей (может быть, в десять раз), что в состав белковой молекулы входят сложные ядра в изменяющихся количественных соотношениях, поэтому элементарный состав и не является постоянным; но с другой стороны различия в нем не настолько велики, чтобы на них можно было строить классификацию белков. При большой сложности молекулы различия в построении отдельных ее звеньев, вызывающие ясные качественные различия (как, наприм., наличие гидроксильной группы в ароматическом ядре, от которой зависят некоторые важные реакции на белки) могут очень мало сказываться на элементарном составе.

Происхождение белка, нахождение его в той или иной группе организмов, само по себе также не накладывает непременно отпечатка на элементарном его составе, как видно из следующего его сопоставления состава различных белков растительного и животного происхождения:

	C%	H%	N%	S%
Лейкозин (Triticum)	53,01	6,83	16,93	1,30
Глиадин (Triticum)	52,72	6,86	17,66	1,02
Зеин (Zea Mays)	55,23	7,26	16,13	0,60
Легумин (Pisum)	51,72	6,95	18,04	0,41
Легумелин (Pisum)	53,31	6,97	16,26	1,08
Эдестин (Cannabis)	51,26	6,86	18,69	0,94
Альбумин (жив.)	53,36	7,31	15,06	1,01
Миозин	52,79	7,12	16,86	1,26
Гистон	52,37	7,70	18,35	0,62
Желатина	49,38	6,80	17,97	0,70
Кератин	50,65	6,36	17,14	5,00
Казеин	52,96	7,05	15,65	0,75

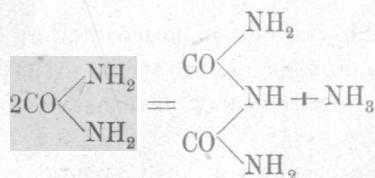
Теплота сгорания для белков колеблется от 5358 до 5916 (для крахмала — 4132, для жиров — от 8999 до 9489, глюкозы 3692); таким образом белки стоят между углеводами и жирами по степени окисления.

Дать общее определение того, что такое белки нелегко, обычно такие определения слишком мало говорят начинающему; можно, например, сказать, что белки это высокомолекулярные вещества с коллоидальными свойствами водных растворов при чем очень сложная

молекула этих веществ построена из более простых молекул определенных кристаллоидов (аминокислот), связанных друг с другом некоторой характерной связью менее прочной, чем связь, между атомами внутри каждой такой молекулы; химические свойства сложной молекулы отражают на себе известные основные черты общие всем компонентам.

При изменчивости в количественных соотношениях для отдельных составных групп белковой молекулы, все же белки обладают рядом близких черт и известным единством построения, благодаря чему имеется ряд *общих реакций для белков*; правда бывает не достаточно отдельной реакции для утверждения, что мы имеем дело с белком, но нужна их совокупность, ибо отдельная реакция обычно зависит от наличия какой-либо одной группы или комплекса, способного давать ту же реакцию и вне белковой молекулы; сравнительно реже реакции эти обуславливаются тем особым характером связи, в которой находятся отдельные простейшие члены белковой молекулы, сами по себе не дающие такой реакции. Эти реакции можно разделить на реакции окрашивания, пригодные для качественного распознавания (ими пользуются охотно и при микроскопических исследованиях) и реакции осаждения, из которых некоторые применимы и для количественного определения белковых веществ. Из реакций *окрашивания* чаще других употребляются следующие:

1) *Биуретовая реакция*. Если к раствору белка в присутствии избытка щелочи прилить несколько капель слабого раствора медного купороса (чтобы синий цвет не затухивал реакции), то получается фиолетовая окраска при настоящих белках, при пептонах и альбумозах приближающаяся к красной¹⁾. Эта реакция отличается большой чувствительностью; название свое она получила от того, что производное мочевины, биурет, дает такое же окрашивание, как и белки; биурет получается из мочевины путем выделения NH_3 (при нагревании):



¹⁾ Рекомендуется на 100 к. с. 10% едкого натра брать 2,5 к. с. 3% раствора CuSO_4 ; чувствительность реакции может быть повышена, если не смешивать обе жидкости, а наблюдать появление окрашенного кольца на границе их.

Кроме биурета, известен еще ряд тел, дающих эту реакцию; эти тела характеризуются близостью нескольких амидных (или имидных) групп к карбонильной; сюда относят малонамид, оксамид, глицинамид, саркозинамид, отвечающий аспарагину ди-амид и др. вещества. Так как белковые вещества при гидролизе распадаются на аминокислоты, сами по себе не дающие биуретовой реакции, то и в них естественно объяснить наличие этой реакции тем же накоплением амидных групп в близком соседстве с карбоксильными группами. При разрушении белковой частицы (напр., при гидролизе, происходящем под влиянием нагревания с кислотами) биуретовая реакция постепенно ослабевает и в конце почти исчезает, так что по ее интенсивности можно следить за ходом гидролиза. В этом отличие биуретовой реакции от большинства других реакций окрашивания, зависящих от наличия определенных стойких групп в белковой молекуле и потому не исчезающих и после гидролиза¹⁾.

2) *Реакция Миллона*. Если нагревать белок в растворе (или кусочек твердого белка) с так называемым Миллоновым реактивом, то получается красное окрашивание осадка (отчасти и раствора). Миллонов реактив получается растворением ртути в азотной кислоте; существенным в нем является присутствие на ряду с азотнокислой ртутью азотистой кислоты. Реакция окрашивания зависит от присутствия в частице белка вещества ароматической группы, содержащего гидроксил, именно *тирозина* (оксифенил-аминопропионовая кислота); тирозин сам по себе дает кровавокрасное окрашивание раствора при нагревании с Миллоновым реактивом; с другой стороны те группы подобных белкам тел, которые не содержат тирозина (как напр. клей), не дают и реакции Миллона.

3) *Ксантопротеиновая реакция*. Под действием крепкой азотной кислоты иногда уже на холоду, а более верно и скоро — при нагревании, белок окрашивается в желтый цвет (отсюда желтые пятна на руках работающих с азотной кислотой); если слить избыток кислоты и прибавить аммиака, то окраска переходит в оранжевую.

¹⁾ Впрочем, исчезновение биуретовой реакции можно вызвать еще одним приемом, не связанным с глубоким распадом белковой молекулы, а именно: действием азотистой кислоты на белок; при этом отчасти разрушаются группы $-\text{NH}_2$ (с выделением свободного азота), и полученный продукт («дезаминоальбумин») при гидролизе дает меньше гексоновых оснований (см. ниже). Общее количество азота при действии азотистой кислоты понижается, но не резко (напр. до 15% вместо исходных 16%).

Наличие этой реакции также связано с присутствием в частице белка ароматического ядра, подвергающегося нитрованию, но гидроксильная группа в этом ядре может отсутствовать; поэтому, напр., клей дает ксантопротеиновую реакцию, хотя он содержит фениламинопропионовую кислоту $C_6H_5CH_2CH(NH_2)COOH$, а не тирозин, т. е. $C_6H_4OH \cdot CH_2CH(NH_2)COOH$.

4) *Реакция Адамкевича*. Если приливать смесь крепкой серной и уксусной кислоты к раствору белка, то получается краснофиолетовое окрашивание; при подведении смеси кислот снизу под раствор белка получают яркие кольца разных оттенков. Эта реакция, как оказалось, вызывается, с одной стороны, присутствием в белке группы *триптофана* (см. ниже), с другой — примесью глиоксиловой кислоты к продажной уксусной. Точно также к наличности триптофана свелась так называемая *реакция Либерманна* — фиолетовое окрашивание, которое наблюдается при нагревании с соляной кислотой препаратов белка, перед тем подвергавшихся сушке спиртом и эфиром; здесь участвует также глиоксиловая кислота, находящаяся в небольших количествах в продажном эфире.

5) *Реакция на серу*. Если нагревать белок в щелочном растворе с какой либо солью свинца, то получается постепенное почернение или побурение осадка вследствие отщепления серы (сероводорода) и образования сернистого свинца; эту реакцию дают все типичные белки, но не пептоны¹⁾.

Вышеописанные реакции применимы как к твердому белку, так и к растворенному; только к последнему относятся другого рода реакции, основанные на свертывании и иного рода выпадения белка из растворов.

Некоторые белки растворимы в воде (альбумины) другие в растворах солей (глобулины), в разведенных щелочах; вообще говоря белки нерастворимы в спирту, эфире, хлороформе, бензоле, сероуглероде и подобных растворителях (для водного спирта наблюдаются

¹⁾ Здесь слово пептоны, согласно терминологии Kühne, противопоставляется альбумозам (см. ниже). Что касается реакции Молиша (темнокрасное окрашивание раствора содержащего белок с α -нафтолом в присутствии серной кислоты), то она объясняется как реакция на какую-нибудь *углеводную* группу, сопровождающую белок (как пентозы в нуклеопротеидах); для других же случаев эта реакция (очень чувствительная) будет указывать на загрязнение препарата белка углеводами; достаточно напр. на 50 mgf. белка, не дающего реакции Молиша, прибавить $\frac{1}{10}$ mgf. декстрина, чтобы получить сильную реакцию.

некоторые отступления). Сильные щелочи и кислоты уже действуют на белки разлагая или, во всяком случае, существенно изменяя их.

При осторожном высушивании нейтральные растворы белка дают аморфную роговидную массу, вновь растворяющуюся в воде, если избегнуто было свертывание (напр. если выпаривание раствора шло при t^0 не выше 50^0 при уменьшенном давлении), при измельчении получается белый или желтоватый порошок.

Для тех реакций на белки, которые основаны на их *осаждении* из растворов, пользуются минеральными кислотами и спиртом, а также солями тяжелых металлов и так назыв. реактивами на алкалоиды; осаждение, связанное с изменением свойств белка (свертывание) вызывается действием температуры.

Из *кислот* чаще всего пользуются азотной кислотой, осадки от которой у типичных белков не растворяются ни при прибавлении избытка кислоты, ни при нагревании (соляная и серная более наклонны за известным пределом вновь растворять образовавшийся при подкислении осадок); в случае альбумоз, напротив, и для осадка вызванного азотной кислотой, наблюдается растворение при нагревании и обратное выпадение при охлаждении (Cohnheim). Чтобы сделать пробу с азотной кислотой более чувствительной, помещают азотную кислоту под слоем испытуемого на белок раствора; тогда получается кольцеобразное помутнение или выпадение осадка в месте соприкосновения жидкостей.

Другим важным средством осаждения белков является *спирт*; в абсолютном спирту все белки нерастворимы, но и прибавление спирта к водному раствору также вызывает выпадение белка, только разные белки требуют различной концентрации спиртового раствора для своего осаждения¹⁾.

Из солей *тяжелых металлов* чаще других употребляют ртутные соли (сулема, азотнокислая ртуть), медный купорос (с прибавлением щелочи) и уксусно-медная соль, свинцовый уксус, уксусно-кислое железо, цинк и пр.

Соли тяжелых металлов являются сильными осаждающими средствами для белков; влияние кислоты отступает при этом на второй

¹⁾ Высшие спирты обладают большей осаждающей способностью, чем низшие; так, метиловый спирт осаждает при концентрации 17—20%, этиловый 16—18%, пропиловый 11—13%, бутиловый 4—6%, амиловый при 2—4% (но дальше возрастание прекращается).

план; осаждающее действие может быть настолько большим, что уже при десятичных долях нормального раствора соли металлов способны вызвать выпадение белка из раствора, при чем эта реакция необратима — осадки в избытке воды не растворяются (имеются случаи растворения в избытке солей металла). Трехатомные металлы осаждают сильнее двухатомных, вообще валентность катионов играет видную (хотя, быть может, и не исключительную) роль в определении их способности к осаждению белков.

Так как белки содержат азотистые основные группы, то они осаждаются, при известных условиях, *реактивами на алкалоиды*; так осаждение *таннином* является одной из чувствительных проб на белок, но вообще говоря, реактивы на алкалоиды осаждают белки при условии кислой реакции раствора; так как белки по сравнению с алкалоидами являются очень слабыми основаниями, то соли их легко подвергаются гидролитическому расщеплению в водном растворе. Тем не менее присутствие групп NH_2 , в некоторых продуктах распада белков, собранных по несколько (гексоновые основания), дает возможность образования солей, достаточно постоянных в кислом растворе. Поэтому белки осаждаются фосфорновольфрамовой, фосформолибденовой кислотой, таннином, пикриновой кислотой, также раствором подной ртути (висмута, кадмия) и иодистого калия в присутствии соляной кислоты (реактив Brücke).

Не все из этих названных выше веществ относятся одинаково к белкам и пептонам; так $\text{Sn}(\text{OH})_2$ применяется для количественного определения белков, но не осаждает пептонов; сулема и таннин осаждают как белки, так и пептоны (фосфорно-вольфрамовая кислота в кислом растворе вызывает осаждение не только белков и пептонов, но также органических оснований и аммиака).

Характерной особенностью настоящих белков (в отличие от альбумоз и пептонов) является *свертывание*, т. е. выпадение из раствора при нагревании выше известной температуры (напр. $55-60^\circ$), при чем выпадающий сгусток уже не растворяется вновь — это *процесс необратимый*; при нем белок «денатурируется», теряет свои свойства безвозвратно. Наиболее полным бывает выпадение при слабо кислой реакции. Сильно кислая и щелочная реакция или совершенно устраняют свертывание или делают выпадение неполным.

Температура свертывания неодинакова у разных белков, отчасти она может служить для их характеристики, но однако она колеблется также в зависимости от состава среды; особенное значение

имеет присутствие солей, влияя на полноту выпадения, так и на температуру свертывания; для испытания на присутствие свертывающегося белка обычно перед нагреванием прибавляют немного поваренной соли и подкисляют уксусной кислотой, так как она не столь легко гидролизует белок, как минеральные кислоты при нагревании. Если продолжительным диализом по возможности удалить все соли из раствора альбумина, то можно нагревать раствор без того, чтобы свертывание наступило; но стоит в нагретый раствор ввести немного нейтральной соли, белок выпадает.

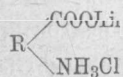
Свернувшийся белок, из какого бы первоначального белка он ни происходил, растворим в щелочи, но не в воде и не в растворах солей.

Какие ближайшие химические изменения претерпевает белок при свертывании, неизвестно; нужно думать, что вода принимает участие в реакции, так как те же самые белки, которые легко свертываются в растворе, в сухом состоянии выносят нагревание без заметных изменений. Если свертывание происходит в кислой среде, то замечается легкое понижение кислотности, а если в слабо-щелочной среде, то понижение щелочности (см. ниже об амфотерности белков). Кроме свертывания под влиянием нагревания и подкисления среды, то же самое явление может иметь место под влиянием фермента; на этом основано употребление сыгуча при приготовлении сыра (в этом случае выпадение казеина происходит без образования молочной кислоты, которая вызывает обычное свертывание молока при развитии бактерий молочнокислого брожения).

Другой характер, нежели свертывание, имеет выпадение известных белков (преимущественно глобулинов) из растворов под влиянием нейтральных солей (*высаливание*); при этом белок не теряет своих первоначальных свойств и по удалении избытка соли снова может быть переведен в раствор. Обратимость этого процесса делает его важным для многих случаев, когда приходится разделять смесь белков, одновременно находящихся в растворе. Hofmeister высказал утверждение, что та концентрация соли, при которой белковое вещество начинает выпадать из раствора, характерна для него, как степень растворимости для какого-либо кристаллического тела. Здесь не образуется какого-либо стойкого соединения белка с солью, но имеет место случай подвижного равновесия, с передвижением белка из соляного раствора в осадок при возрастании концентрации до известного предела. Причины этих явлений многообразны; мы

отметим здесь лишь два обстоятельства: 1) возможность образования химических соединений белков с солями; такие соединения известны для отдельных аминокислот, так гликоколь (аминоуксусная кислота) дает два определенных соединения¹⁾ с хлористым литием (с одной частицей гликоколя и с двумя на 1 ч. LiCl), а с хлористым кальцием гликоколь дает три рода соединений, с разным соотношением молекул (1 : 1, 1 : 2 и 1 : 3), 2) изменение соотношений между свойствами частичек коллоида, взвешенных в жидкости, и самой жидкостью; при больших концентрациях соли возможно отнятие части воды от агрегатов белка, связанные с изменением величины и свойств поверхности этих агрегатов. Не все белки ведут себя в данном случае одинаково и не все соли одинаково активны в этом случае, эмпирически можно установить известную градацию их по энергии действия; так, при известной концентрации, натрий хлористый, серно-уксусно- и азотнокислый уже осаждает часть белков наиболее легко «отсаливаемых»; сильнее действует $MgSO_4$, но наиболее полное осаждение дают $(NH_4)_2SO_4$ и $ZnSO_4$, которые осаждают при достаточной концентрации раствора не только настоящие белки, но даже альбумозы (но не пептоны). Обыкновенно предварительный опыт дробного высаливания ведут так: берут серию пробирок одинакового диаметра, вливают в каждую одинаковое количество раствора белка, подлежащего фракционированному осаждению; и возрастающие (1, 2, 3, 4 к. с.) количества насыщенного раствора соли (напр. $(NH_4)_2SO_4$); затем вливают такие количества воды, чтобы общий объем жидкости был одинаков (10 к. с.). Уже при таком грубом опыте обнаруживается, при каком количестве соли появляется обильный осадок (приблизительная нижняя граница высаливания); верхняя граница фракции определяется тем, что прибавка нового (небольшого) количества соляного раствора к фильтрату от осадка не вызывает нового осаждения. К этой обстановке опыта относится обычная скала высаливания различных белков; так, если говорят, что верхняя граница для фибриногена, казеина и др. — 3, 0, то это значит, что казеин выпадает, если на 10 к. с. раствора введено 3 к. с. насыщенного раствора $(NH_4)_2SO_4$; для глобулинов верхняя граница лежит при 4, 6, для альбумина при 9.

¹⁾ Образование такого соединения может быть представлено следующим образом:



БИБЛИОТЕКА
УЧЕБНЫХ ДОСОВЕДИЙ

В параллель с этим альбумины не осаждаются вовсе такими солями, как NaCl, $MgSO_4$, которые осаждают однако казеин; так что обнаруживается известное согласие между скалой, построенной на возрастающей концентрации $(NH_4)_2SO_4$ и скалой действия разных солей, расположенных по возрастающей энергии осаждения.

В кислой среде границы высаливания сдвигаются книзу, в щелочной — кверху (кислотные альбуминаты высаливаются легче, щелочные — труднее, чем те белки, из которых они образовались).

Вот несколько примеров, характеризующих отношение растительных глобулинов к растворам сернокислого аммония разной концентрации:

	Граница осаждения	
	верхняя	нижняя
Эдестин (из конопля)	3,0 к. с.	4,2 к. с. $(NH_4)_2SO_4$
Глобулин семян льна	3,1	4,7
Амандин (глобулин из миндаля)	3,5	5,3
Конглоутин (из люпина)	4,2	7,3
Легумин (из гороха)	5,4	7,5

При дальнейшем изучении этого процесса обнаружилось, что анионам принадлежит большая роль, чем катионам. В опытах Гофмейстера, с осаждением яичного альбумина для различных солей натрия, обнаружилась такая последовательность (цифры означают число грамм-молекул соли на литр в момент помутнения раствора альбумина):

Натрий лимонно-кислый	0,56	Натрий азотнокислый	5,42
» винно-кислый	0,78	» хлорнокислый	5,52
» серно-кислый	0,80	» иодистый	∞
» уксусно-кислый	1,69	» роданистый	∞
» хлористый	3,62		

Таким образом, энергия осаждения убывает к концу ряда настолько, что иодистые и роданистые соединения могут вовсе не вызвать осаждения альбумина. Что касается оснований, то соли щелочных металлов действуют слабее, чем соли Ca, Sr Ba (Mg стоит ближе к щелочным металлам).

По Loew'y, основным фактором, вызывающим в рядах Hofmeister'a различное положение анионов и катионов, является их валентность; отступления зависят от того, что в то время, когда работал Hof-

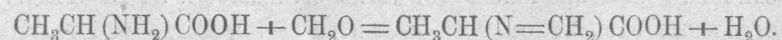
meister, не была еще разработана методика точного учета реакции среды (см. об этом ниже).

Белки способны вступать в соединения как с основаниями, так и с кислотами; их отношение к тем и другим в сильной мере определяется отношением главных компонентов белковой молекулы, т. е. аминокислот.

Аминокислоты характеризуются как «амфотерные электролиты» (амфолиты); одновременное присутствие в частице группы NH_2 и COOH ослабляет основной характер одной и кислотный — другой, делая аминокислоты слабыми кислотами и слабыми основаниями; но тем не менее они способны давать соли и с основаниями, и с кислотами, подчиняющиеся в растворах общим законностям растворения солей и обнаруживающие явления диссоциации. Основной чертой этих солей является именно сильная гидролитическая диссоциация.

Так, если мы имеем соединение гликоколя с HCl [$\text{HCl} \cdot (\text{NH}_2) - \text{CH}_2 \text{COOH}$], то в водном растворе наступает диссоциация, раствор будет кислым и способен проводить электрический ток (частью благодаря присутствию HCl в растворе, частью потому что неразложившаяся часть соли будет способствовать этому). Также и натриевая соль гликоколя $\text{CH}_2(\text{NH}_2)\text{COONa}$ в растворе будет в значительной мере диссоциировать гидролитически, давая свободный гликоколь и NaOH . Раствор же гликоколя сам по себе имеет реакцию близкую к нейтральной и не проводит электрического тока. Накопление группы NH_2 в частице дает перевес основному характеру, как это мы видим, например, в случае лизина (ди-аминокапроновая к.); и наоборот, увеличение числа групп COOH придает более ясный кислотный характер, как это мы имеем для глутаминовой кислоты ($\text{C}_5\text{H}_7(\text{NH}_2)(\text{COOH})_2$); но в той же глутаминовой кислоте сохраняется все же способность группы NH_2 соединяться с частицей минеральной кислоты, напр., с HCl образуется мало растворимая соль, получением которой пользуются для выделения глутаминовой кислоты из смеси с другими аминокислотами.

Точно также кислотный характер получает преобладание, если группа NH_2 вступает с чем либо в соединение и оказывается связанной; это наблюдается, например, в продуктах реакции аминокислот с формальдегидом; так, аминопропионовая кислота нейтральна, а метил-аланин имеет сильно кислую реакцию:



При образовании из аминокислот сложной белковой молекулы часть групп NH_2 и COOH оказывается связанной, но часть, оставаясь свободной, может придавать также амфотерный характер или, при известном неравенстве в числе деятельных групп NH_2 и COOH , давать перевес то кислотным, то основным свойствам; но та же сильная гидролитическая диссоциация имеет место и для солей белка.

Степень диссоциации меняется, как и вообще, в зависимости от относительных количеств белка, кислоты (или щелочи) и воды; достаточно изменить одно из этих условий, равновесие нарушится и количество неразложившейся соли изменится. Так, если взять белок и кислоту в эквивалентных количествах, то от 80 до 90% соли будет диссоциировано; но при значительном избытке кислоты диссоциация мала (почти 0); например, 1 грамм эдестина при избытке кислоты связывает 212 mgr. HCl , без избытка же — лишь 26 mgr.; в соляной кислоте 0,05 норм. диссоциация достигает 20%. Как общее количество связываемой кислоты, так и ход кривой, показывающей зависимость диссоциации от концентрации и избытка кислоты, для разных белков неодинаковы.

Точно также ведет себя белок, если он играет роль кислоты и образует соли с основаниями. Поэтому нельзя определить простым титрованием степень кислотности (или щелочности) такого раствора; если, например, мы будем титровать щелочью раствор, содержащий белок и соляную кислоту, то с каждым кубич. сантиметром щелочи будет уменьшаться избыток кислоты в растворе, но одновременно будет расти гидролитическая диссоциация, так как в конце концов титрование дает кислотность, отвечающую всей соляной кислоте, как-будто белка и нет в растворе¹⁾.

1) Если же мы хотим отличить в растворе, содержащем белок, активную кислотность (концентрацию ионов водорода), обусловленную наличием свободной минеральной кислоты, электролитически диссоциированной, от кислотности потенциальной, определяемой титрованием, то для этого возможны следующие приемы:

1. учет скорости инверсии тростникового сахара при нагревании с данным раствором и сравнение этих данных с действием кислоты в отсутствии белка,

2. прямой учет концентрации ионов водорода методом электрометрическим или колориметрическим (с помощью серии соответственно подобранных индикаторов),

3. менее употребителен прием Sahnheim'a, который предложил еще или осаждать соединения белка с HCl высаливанием и в фильтрате от осадка опре-

Благодаря той же склонности к гидролитической диссоциации могут разлагаться осадки белка с реактивами на алкалоиды; так например, соединение белка с фосфорновольфрамовой кислотой выпадает довольно полно из раствора в присутствии избытка кислоты; если начать промывать осадок водой, то он может постепенно разлагаться водой и часть белка перейдет в раствор; во избежание этого приходится промывать раствором кислоты (только гистоны, богатые основными группами, осаждаются и в нейтральной среде; протамины, подобно алкалоидам, выпадают даже в щелочной среде).

Как мы выше видели, белок способен связать (при наличии избытка кислоты в растворе) довольно большие количества кислоты, например, на 1 гр. эдестина 0,212 гр. HCl; отсюда выходит, что эквивалентный вес для эдестина есть 169 (так как $X = \frac{36,5 + 1}{0,212}$); принимая во внимание, что молекулярный вес белка не может быть ниже 5000, приходим к выводу, что белок должен присоединить до 29—30 частиц HCl на одну молекулу (5000 : 169), т. е. что в качестве основания он является 30-значным; пока трудно сказать, какие группы участвуют в этой реакции; считать, что это указывает на присутствие 30 действительных групп NH_2 в молекуле, вряд ли возможно, принимая во внимание участие групп NH_2 во взаимной спайке аминокислот.

Подобный же расчет показывает, что при отсутствии избытка кислоты в растворе белок (эдестин) связывает всего 3—4 молекулы HCl на одну молекулу (принимая для белка молекулярный вес около 5000 и отношение веса белка к кислоте 1 : 0,026). Для других белков цифры будут иные; так, яичный альбумин в пределе связывает на 1 мол. до 35 мол. HCl, альбумин крови до 56 мол. Все сказанное по отношению к кислотам приложимо с другой стороны и к щелочам. Правда, по отношению к основаниям связывающая способность белка не столь велика, но все же и здесь расчет показывает, что в качестве кислоты белок является многоосновным (на-

делять избыточную кислоту титрованием, или же осаждают белок нейтральным реактивом, как фосфорновольфрамовокислый кальций; тогда реакция должна идти по следующей схеме, например: солинокислый альбумин + фосфорновольфрамовокислый кальций = фосфорновольфрамовокислый альбумин + хлористый кальций; белок выпадает в нерастворимом соединении, и по Cohnheim'у, фильтрат можно титровать без помех, обычно имеющих место благодаря гидролитической диссоциации солей белка (см. однако ниже приведенную цитату из Loew'a).

пример, казеин не менее как 30 основан при избытке основания, но лишь одна десятая часть от всего количества основания в казеинатах остается более прочно связанной при отсутствии избытка щелочи.

Кроме нестойких соединений белковой молекулы с значительными количествами кислоты (или основания), о которых только что шла речь, несколькими авторами описаны более постоянные соединения белка с малыми количествами оснований или кислот; так, известно довольно стойкое медное и натриевое соединение белка (альбумина), для которых эквивалентный вес белка высчитывается в 4748 (т. е. близко к предполагаемому молекулярному), также для казеина описаны соединения с Ca и NH_4 , дающие эквивалентный вес в 5100, тогда как в соединениях выше описанного типа, при избытке основания, эквивалентный вес получается не свыше 1200, т. е. гораздо ниже предполагаемого молекулярного. Из растительных белков такие соли изучены для эдестина (Осборн). Эти более стойкие соединения с малым количеством оснований отличаются от предыдущих еще нейтральностью своих растворов.

Высказываются различные соображения для объяснения существования этих более стойких соединений: разные карбоксильные группы в белке могут давать соединения разной степени стойкости, разной склонности диссоциировать, при чем стойкие соли образуются небольшим числом или одной лишь карбоксильной группой; кроме того постоянство солей с малым количеством основания может быть условным, обозначающим просто замедление диссоциации на известном уровне, при известных условиях опыта. Нам кажется более вероятным первое объяснение, в виду значительного постоянства цифр, полученных разными авторами и для различных белков.

Хотя все белки способны давать соединения и с основаниями, и с кислотами (как и аминокислоты), тем не менее у отдельных представителей может преобладать кислотный характер над основным или наоборот. Так, глобулины обычно описываются как слабые кислоты, у нуклеоальбуминов кислотный характер резче выражен (казеин вытесняет углекислоту, красит лакмус в красный цвет), тоже относится к нуклеопротеидам; альбумины близки к нейтральности (или есть слабая склонность к щелочности); ясно выражены основные свойства у гистонов и особенно у протаминов, в частице которых обильно представлены гексоновые основания. Но при всем

том каждый белок не теряет своего характера в качестве амфотерного электролита.

При работе с белковыми веществами приходится не упускать из виду, что кроме образования солей с кислотами и щелочами, допускающего обратное получение белка с сохранением первоначальных свойств, при более долгом соприкосновении с реактивами могут наступать такие изменения в свойствах белковой молекулы, при которых первоначальные свойства утрачиваются безвозвратно. Так, например, один из растительных глобулинов, эдестин, при стоянии в кислом растворе постепенно теряет основное свойство — быть растворимым в соляных растворах; это превращение касается обычно небольшой доли вещества; оно обнаруживается, если нейтрализовать раствор и выделившийся осадок эдестина растворять в 10% растворе NaCl; тогда оказывается, что белок растворяется не весь — остается известный процент нерастворимого остатка. При повторении опыта опять известная часть белка изменится под влиянием кислоты, утративши растворимость, и т. д.

При применении более крепких кислот, изменения могут быть более быстрыми и резкими; так, осадок белка, образовавшийся при подкислении раствора, может растворяться в избытке кислоты, при чем также могут измениться свойства взятого белка; из кислого раствора при нейтрализации выпадет тело, белковая природа которого сохранилась, но отношение к растворителям уже иное; эти изменения недостаточно изучены и если было принято такие измененные продукты называть *кислотными альбуминами*, то несомненно под этим обозначением объединялись вещества в разной мере отличающиеся от исходного белка.

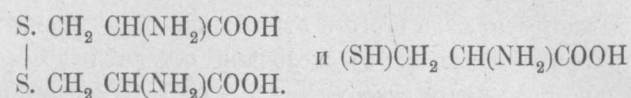
При дальнейшем нагревании с кислотами начинается более глубокий распад белковой молекулы, при чем сначала образуются промежуточные некристаллические продукты (альбумозы и пептоны), а в конце концов получаются более простые способные кристаллизоваться тела (аминокислоты), об этом процессе гидролитического распада мы будем говорить ниже более подробно.

Точно также и под влиянием щелочей могут изменяться свойства белка, при чем продукты, сохраняющие белковую природу, но изменившие отношение к растворителям, носят условное название *щелочных альбуминатов*: при нагревании со щелочью частью наступают также явления гидролиза, как и в случае кислот, но здесь они осложняются еще явлениями частичного разрушения отдельных групп,

что сказывается прежде всего в отщеплении серы, аммиака и углекислоты; при сплавлении со щелочами остаются более стойкие группы (оксибензойная кислота, индол, скатол, меркаптан), отвечающие видоизмененным под влиянием щелочи отдельным продуктам гидролиза (тирозин, триптофан, цистин и др.).

Сера в молекуле белковых веществ. Со времени Шееле известно, что белковые вещества под влиянием щелочи отщепляют элементы сероводорода, давая сернистую щелочь. В лаборатории Либиха получены были данные для содержания серы в различных белках (в связи с полемикой против Мульдера, выставившего теорию «протеина», как радикала, не содержащего серы, но способного вступать в соединения как с ней, так и с другими веществами) и сделано было наблюдение, что не вся сера легко отщепляется под влиянием щелочи, но лишь известная часть ее ($\frac{1}{3} - \frac{2}{3}$); отсюда первоначально сделано было заключение, что сера в белке находится в двух формах, напр., в неокисленной и окисленной, или, вообще говоря, легко отщепляемой в виде сероводорода и неотщепляемой; так эдестин, при содержании S в 0,88, отщепляет со щелочью лишь 0,36%, для альбумина крови имеем 1,89 и 1,28%; для яичного альбумина 1,62 и 0,49. Общее содержание и различное отношение серы многократно пытались использовать для суждения о молекулярном весе белков; так, исходя из предположения, что в молекуле белка содержится лишь один атом S, высчитывали для альбумина молек. вес в 1900, а для бедного серой казеина в 4000—4500; объясняя неполное отщепление S наличием нескольких (напр. 3-х) атомов серы, находящихся в разных комплексах, пришли к выводу, что атомный вес альбумина должен быть по крайней мере утроен (5700). Если в общем оказалось верным, что молекулярный вес альбумина не может быть менее 5000, то этот вывод теперь основывают на сумме различных других показаний, но не на отношении S к щелочи, так как выяснилось, что количество отщепляемой серы не стоит в столь простых отношениях ко всей сере белка и не вполне постоянно (зависит от времени нагревания); затем получены были содержащие серу продукты гидролиза белка с совершенно определенным положением S в их молекуле, которые тем не менее при кипячении со щелочью вели себя как и белки, т. е. только часть серы оказывалась в виде сернистой щелочи.

Таковыми продуктами оказались цистин и цистеин.



При кипячении со щелочью цистин отщепляет только часть именно (50—75%) всей серы в виде H_2S , хотя оба атома серы в цистине находятся в одинаковом положении; с обнаружением этого факта утратила значение прежняя аргументация за присутствие двух форм (не окисленной и окисленной или прочно и непрочно-связанной) серы в белке: но с другой стороны, нахождение цистина, содержащего 2 атома серы среди продуктов гидролиза, при допущении, что это есть продукт первичный, само по себе говорит за то, что частица белка содержит не один атом серы, а два (или 2n).

Были сделаны попытки (Mörner) сравнить отщепление серы из белка и цистина при одинаковых условиях и на основании таких данных сделать приблизительный расчет, вся ли сера в белке находится в виде цистина; для альбуминоидов, особенно богатых серой (кератины), получились цифры, согласные с таким предположением; тоже относится к альбумину крови, но в яичном альбумине, повидному, есть другие составные части, заключающие серу, помимо цистина (однако эти расчеты очень приблизительны; другие содержащие серу вещества если и найдены, то в небольшом количестве; таковыми являются тиомолочная кислота и этилсульфид, но первичность их происхождения подвергается некоторому сомнению).

Для растительных белков подобное сопоставление сделано Осборном; если принять, что цистин отдает $\frac{2}{3}$ серы в виде сернистой щелочи, то получается такое сопоставление серы цистина с общим содержанием серы в разных видах белка:

	Всей серы (%)	Сера цистина.	Разность.
Оксигемоглобин	0,385	0,285	0,100
Виньпин	0,426	0,321	0,105
Амандин	0,429	0,326	0,103
Глицинин	0,710	0,480	0,230
Легумин	0,385	0,248	0,137
Эдестин	0,880	0,519	0,361
Зеин	0,600	0,318	0,282
Вителлин (жив.)	1,028	0,522	0,506
Фибрин	1,100	0,570	0,530

	Всей серы (%)	Сера цистина.	Разность.
Эксцельзин	1,086	0,525	0,561
Альбумин (жив.)	1,616	0,737	0,879
Фазеолин	0,312	0,108	0,204
Казеин молока	0,800	0,150	0,650

Таким образом отношение серы цистина к остальной сере весьма различно; оно то приближается к отношению 3 : 1, то 2 : 1, 1 : 1, или даже 1 : 2 и 1 : 4.

О кристаллизации белковых веществ. Как выше было отмечено, белки в общем мало склонны кристаллизоваться и тем обычно затрудняют суждение о чистоте их препаратов, об индивидуальности того или иного белка; однако для некоторых белков давно было известно отложение в виде кристаллов в клетках некоторых растений (частью и животных), а в последнее время удалось получить в кристаллах и некоторые из белков, в природе не встречающихся в кристаллической форме. Так, ботаникам давно известно кристаллические образования в семенах *Bertholetia*, *Ricinus*'a, тыквы, конопля, в ростках картофеля, *Lathraea squamaria* и др. растений; эти кристаллы алеуриновых зерен описывались Hartig'ом в 1850 г., Radlkofer'ом в 1858 г.; последний указал на белковый характер этих кристаллов. Schimper, в своей работе 1878 г., поставил вопрос: следует ли считать это образование настоящими кристаллами или лучше назвать их кристаллоидами (подобными кристаллам); два обстоятельства казались дающими повод к такому осторожному обозначению, именно: способность кристаллоидов набухать с одной стороны, и указание на неоднородность их, с другой.

Под влиянием воды и разведенных щелочей заметно увеличивается объем кристаллоидов, уменьшается светопреломляющая способность, но контуры остаются ясными; увеличение не одинаково по разным направлениям, так что набухший кристалл отличается несколько по форме от ненабухшего. При действии глицерина кристаллоид отчасти растворяется в нем, но остается как бы остов, сохраняющий первоначальные контуры; по преломляющей способности, однако, вещество это мало отличается от воды. Schimper поэтому счел, что кристаллоид состоит из 2 различных веществ (это возможно или путем увлечения примесей при кристаллизации, или же при выделении изоморфной смеси двух веществ). Пфеффер же высказал

мнение, что глицерин расщепляет первоначально однородное вещество кристаллоида на два различных вещества.

Кристаллоиды можно не только наблюдать отложенными в клетках растений, но можно их перевести в раствор и из него вновь выкристаллизовать; так, если обезжиренные семена конопли извлечь теплым (60°) раствором поваренной соли, то по охлаждении выпадает кристаллический осадок белка (эдестина), который можно дальше перекристаллизовывать и получить в значительных количествах (Osborne)¹⁾.

В животном царстве отложение белковых кристаллов не является столь частым и обильным, как в растениях; но за то удалось искусственно получить в кристаллах такие белки, для которых раньше считалось характерной именно неспособность кристаллизоваться. Так, из яичного белка Hofmeister'у удалось получить кристаллический альбумин след. способом: яичный белок содержит кроме альбуминов еще глобулины, легче выделяющиеся под влиянием «высаливания», чем альбумины; если ввести столько насыщенного раствора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, чтобы выпали только глобулины, а фильтрат, содержащий альбумины, сгущать при комнатной температуре, путем постепенного испарения в плоских сосудах, то при наступлении достаточной концентрации раствора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ выпадает альбумин, в шарообразных кристаллических агрегатах (сферолитах); при перекристаллизации получают альбумин в конце концов в виде отдельных мелких иглообразных кристаллов. Вместо медленного испарения пользуются еще легким подкислением раствора альбумина (в присутствии $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), ускоряющим кристаллизацию. Подобным же образом получен в кристаллах альбумин кровяной сыворотки; но из группы глобулинов животного происхождения пока еще не получен ни один белок в кристаллах, в то время как в растительном царстве именно белок этой группы и склонен отлагаться в виде кристаллоидов.

Самый процесс выделения белка в кристаллах протекает несколько иначе, чем постепенный процесс осаждения кристаллов какой-либо соли по мере сгущения раствора; здесь, раз только перейдена известная граница, быстро наступает выделение значительных масс, подобно тому, как при высаливании по достижении известной концентрации почти количественно выделяется тот или иной белок;

¹⁾ См. Griessmayer, Die Proteide, 271.

последние капли введенной соли (или перейденная ступень концентрации) вызывают эффект несоответственный количественным изменениям в составе раствора.

Как выше было отмечено, кристаллизация белков не всегда дает возможность освободить изучаемый белок от примесей — они способны увлекать с собой при кристаллизации другие коллоиды. Это хорошо иллюстрируется следующим искусственным примером: белки способны удерживать коллоидальное золото в растворе, «защищая» его от осаждающего действия солей; можно эту защитную способность даже выразить численно («золотое число»), напр., глобулин способен при известных условиях удержать в растворе количество золота в 20 раз превышающее его собственный вес. Когда осаждают белок, золото выпадает вместе с ним, получается однородный красный осадок, при растворении белка золото также переходит в раствор. Также и при кристаллизации, напр., яичный альбумин, увлекает с собой золото и перекристаллизовывая альбумин мы не отделим его от золота; тоже возможно и для других коллоидальных примесей.

Белки, как коллоиды.

Основатель учения о коллоидах, Graham (1861) наметил два главных отличающих признака, именно: 1) выпадение из воды (или вообще растворителя) не в кристаллах, а в аморфных, студенистых массах, характеризующее иной тип образования агрегатов («physical aggregation»); 2) неспособность (или мало выраженную способность) проходить через перепонки, проницаемые для кристаллоидов (иная «diffusive mobility»).

Последующие исследования показали, что коллоидное состояние не присуще только какой-либо особой группе веществ, но что и кристаллоиды могут давать коллоидные растворы, если взять другой растворитель (напр. NaCl и бензол), поэтому правильнее говорить не о коллоидах, как особой группе веществ, а коллоидальном состоянии веществ вообще. Характерным для этого состояния считается, что последние отдельности или мельчайшие частицы, взвешенные в растворе, представляют из себя не одиночные молекулы (или ионы), но группы молекул (агрегаты, мицеллы), однако таких размеров, что они невидимы под микроскопом и оптически только ультрамикроскоп обнаруживает неоднородность среды в коллоидальных растворах.

Растворы белков обнаруживают характерные особенности коллоидальных растворов, однако с двумя оговорками, из которых первая относится к формулировке Graham'a, а вторая к позднему учению о коллоидальных растворах, а именно: 1) хотя бы мы имели дело с кристаллизующимся белком, коллоидные свойства раствора сохраняются 2) даже и тогда, когда мы имеем дело с молекулярно-дисперсным раствором белка и даже с ионизированным белком, ионы эти, благодаря громадному числу атомов, в них входящих, сохраняют известные коллоидальные свойства, напр., не проходят через перепонки, проницаемые для обыкновенных ионов.

По одним представлениям эти ионы притягивают большее число частиц воды, чем не-ионизированный белок (теория гидратации Pauli), другие же это отрицают (Loëb).

По общепринятой в коллоидной химии терминологии, белки относятся к *гидрофильным коллоидам*, так как их частицы проявляют значительное сродство к частицам воды, в противоположность, напр., коллоидальным растворам металлов (серебра, золота, платины), ~~частицы которых относятся к противоположной группе коллоидов — гидрофобным~~; в то время, как тончайшие частицы последних (агрегаты молекул), взвешенные в воде, сохраняют даже кристаллическую структуру металла, по существу неизмененного, только находящегося в состоянии большого измельчения, у коллоидов гидрофильных мы имеем дело с явлениями набухания: частицы белка притягивают к себе частицы воды, последняя абсорбируется ими или входит внутрь агрегатов, располагаясь между молекулами, их слагающими.

Поэтому в коллоидальных растворах белков можно различать свободную воду от воды, соединенной с агрегатами молекул белка, хотя бы и не непременно прочной связью, однако движущейся вместе с частицами коллоида (часть «дисперсионной среды» входит в «дисперсионную фазу»); можно представить, что при этом получаются как бы мельчайшие капли «раствора воды в белке», взвешенные в остальной части воды, оставшейся свободной. Отсюда еще другое название таких коллоидов — *эмульсоиды*, в противоположность *суспенсоидам*, т. е. гидрофобным коллоидам, частицы которых не гидратированы или мало гидратированы (если у первых дисперсная фаза жидкая, то у вторых она в пределе твердая). Благодаря этому сродству к воде (гидрофилии), эмульсоиды осаждаются солями из растворов только при значительных концентрациях; в известных случаях коллоиды данного типа после выпадения из

раствора (под влиянием избытка солей), затем при изменении условий, способны вновь переходить в раствор (если соли будут удалены диализом); для коллоидов же гидрофобных (суспенсоидов) процесс выпадения наступает при малых концентрациях солей, и выпадение является окончательным, они более в раствор не переходят; таким образом, *обратимость* или *необратимость* процесса осаждения солями также является признаком, отличающим друг от друга две названные группы коллоидов.

В связи с сказанным, растворы гидрофильных коллоидов в отличие от гидрофобных, обнаруживают значительную *вязкость*, вследствие повышения внутреннего трения раствора, так один процент желатины повышает вязкость на 29%, тогда как один процент поваренной соли дает повышение вязкости лишь на 1,6% и для тростникового сахара в тех же условиях получается повышение лишь на 2,45%. Благодаря вязкости затрудняется прохождение растворов гидрофильных коллоидов через фильтр, по крайней мере за известным пределом концентрации раствора.

Согласно вышеизложенным представлениям, с повышением концентрации все большая и большая часть растворителя оказывается связанной с частицами коллоида, при чем образуются агрегаты значительно большей величины, чем в случае безводных или бедных водой суспенсоидов; в то же время уменьшается расстояние между агрегатами и они начинают при движении прикасаться и отчасти деформировать друг друга, так что часть давления при фильтрации затрачивается на преодоление эластичности частиц; принимают, напр., что в 6% растворе казеината только 40% объема занимает «свободная вода», а 60% объема занимают частицы белка вместе с связанной с ними водой; при 9,4% казеината только 12% воды должна оставаться вне этих агрегатов (Höber).

В известных случаях, по мере сближения частиц и возрастания вязкости, наблюдается потеря подвижности раствором коллоида; постепенно затвердевая, жидкость дает эластичную массу, способную сохранять приданную ей форму — типичный случай такого образования геля мы имеем в случае клея (желатины), дающего при застывании студень. В этом случае процесс является обратимым — известно, что застывший клей при нагревании разжижается, так как часть воды вновь делается свободной, объем частиц уменьшается и они получают возможность движения; при охлаждении имеет место обратное увеличение объема частиц (усиление гидратации)

и за известным пределом масса теряет основное свойство жидкости — способность частиц изменять свое положение по отношению друг к другу.

Влияние коллоидов на изменение вязкости стоит в связи с влиянием на поверхностное натяжение воды; в то время, как суспензии (гидрофобные коллоиды) не меняют заметно поверхностного натяжения воды, гидрофильные коллоиды (в частности — белки) понижают величину этого натяжения и повышают вязкость раствора. Для определения поверхностного натяжения прибегают или к определению высоты капиллярного поднятия раствора белка, или чаще к сравнению объема капель, которые образует данный раствор при медленном вытекании из капиллярного отверстия; при постоянном диаметре отверстия, объем этот пропорционален величине поверхностного натяжения (следовательно, обратно пропорционален вязкости).

Вместо измерения объема отдельных капель удобнее брать определенный объем жидкости и считать число капель, которые образуются за время стекания данного объема жидкости через капиллярное отверстие; число капель будет обратно пропорционально поверхностному натяжению. Простой прибор для такого определения носит название *сталагмометра* (приборы, с помощью которых определяют время, потребное для истечения данного объема измеряемой жидкости, сравнивая ее с водой, носят название *вискозиметров*).

В связи с вязкостью и понижением поверхностного натяжения стоит способность растворов белка давать стойкую пену; в этом отношении яичный белок и желатина ведут себя подобно мылам, декстрину и другим коллоидам, понижающим поверхностное натяжение воды.

По *оптическим свойствам* белки (и вообще гидрофильные коллоиды) отличаются от суспензий; в то время как у последних коэффициент преломления резко отличается от такового для воды, здесь, вследствие обильного впитывания или абсорбирования воды самими частицами, разница эта сглажена, а потому отграничение частиц от окружающей среды не резко; и в то время, как для суспензий граница видимости в ультрамикроскопе опускается до 4 μ (что только в 40 раз превышает величину молекулы водорода), для гидрофильных коллоидов видимыми являются лишь частицы больше 30—40 μ . (Höber).

Плоскость поляризации белки обычно отклоняют влево, но в различной степени:

Вот несколько примеров:

Белок.	Растворитель.	(α) D.
Эдестин (из конопли) . .	10% NaCl	— 43°
Глобулин из сем. льна . .	10% NaCl	— 38°
Глиадин (из пшеницы) . .	80% спирт	— 92°
Глиадин (из риса) . . .	55% „	— 121°
Зеин (из кукурузы) . .	90% „	— 28°

Разведенные растворы белков, как и других коллоидальных веществ, проходят через обыкновенный фильтр; однако, можно подобрать такие перепонки, которые будут задерживать частицы коллоидов и пропускать свободный от них растворитель. Так как частицы коллоидов бывают разной величины (от границы с обыкновенными суспензиями или эмульсиями, с одной стороны, и до границы с молекулярной дисперсностью настоящих растворов, с другой), то и такие фильтры (*ультрафильтры*) должны в разных случаях иметь разную степень плотности; это достигается, напр., тем, что фильтровальную бумагу пропитывают раствором желатины разной концентрации или пользуются пленками из коллодиума; при затвердевании (определенным образом вызванном) эти гели дают равномерные сетки, тем бо́льшую плотность, чем концентрированнее был взятый раствор; фильтровальная бумага, как грубая сетка, играет только роль поддержки для более нежной сетки ультрафильтра, образованной затвердевшей желатиной или коллодиумом.

С помощью соответственного набора ультрафильтров можно разделить смесь нескольких коллоидов на ее компонентов; так Бехгольд, смешивая раствор гемоглобина с раствором берлинской лазури и пропуская затем грязно-зеленую жидкость через соответствующий ультрафильтр, мог «отсеять» берлинскую лазурь, как коллоид с более крупными частицами, от гемоглобина, красный раствор которого проходил через фильтр; можно также подобрать такой фильтр, который задерживает частицы белков, но пропускает начальные продукты их гидролиза, альбумозы, которые имеют еще коллоидальный характер¹⁾, но частицы которых (аггрегаты) имеют меньшую величину, чем частицы белка.

¹⁾ В отличие от конечных кристаллических продуктов гидролиза белков, какими являются аминокислоты.

Бехгольд установил следующий ряд по возрастающей способности к фильтрации (или убывающей «различия частиц»), для различных коллоидов:

Суспенсоиды.



Берлинская лазурь
Колл. платина
Гидрат окиси железа
Казеин (в молоке)
Сернистый мышьяк
Колларгол¹⁾
1% раствор желатины.

Гемоглобин (1% раствор)
Альбумин (кровяная сыворотка)
Протальбумозы
Колл. кремниевой кислоты
Дейтероальбумозы А.
Дейтероальбумозы В.
Декстрин



(Кристаллоиды).

При прохождении растворов белка, как и вообще в случае гидрофильных коллоидов, наблюдается та особенность по сравнению с суспенсоидами, что здесь часто требуются значительные давления для отсасывания жидкости. С первого взгляда это может показаться неожиданным, ибо ультрафильтрация состоит прежде всего в преодолении осмотического давления, а оно у коллоидов, как известно, очень мало. На деле же только первые порции жидкости проходят легко, а для дальнейшего отделения ее нередко требуется давление в несколько атмосфер, хотя бы имели дело с относительно разведенными растворами коллоидов. Это объясняется тем, что согласно вышеизложенному, среда, в которой рассеяны частицы гидрофильного коллоида, только отчасти свободна, значительная же ее часть связана, благодаря набуханию частиц коллоида, и по вязкости растворов заключают, что за известным пределом концентрации уже большая часть воды входит в эти крупные эластичные комплексы; и что для отделения этой воды и приходится преодолевать то притяжение между водой и частицами белка, которое с такой силой сказывается в явлениях набухания.

Измерение осмотического давления раствора в случае белков с одной стороны, казалось бы, облегчается тем обстоятельством, что очень многие перепонки пригодны для такого опыта, так как здесь для «полупроницаемости» (т. е. проницаемости только для растворителя, а не для растворенного вещества) далеко не тре-

¹⁾ Коллоидальный раствор серебра.

буется той тонкости строения, с какой приходится иметь дело в случае кристаллоидов; но, с другой стороны, здесь встречаются свои затруднения, так как приходится иметь дело с очень малыми величинами осмотического давления и возможны заметные погрешности от влияния ничтожных примесей электролитов, которые иногда очень трудно удалить (благодаря явлениям адсорбции, образованию соединений с белком и др. причинам¹⁾).

Поэтому для белков часто не констатируется должного согласия с законами газов и в частности с правилом ван-Гоффа, по которому осмотическое давление растет пропорционально концентрации раствора.

Если же теми или иными приемами удастся избежать погрешностей, то и для растворов белка обнаруживается подчинение этому правилу, установленному на молекулярно-дисперсных растворах; но так как в коллоидальных растворах число частиц (в широком смысле слова) в единице объема раствора очень мало, то и для осмотического давления наблюдаются очень малые величины; вот данные для альбумина (по Sørensen²⁾:

‰ белкового азота в растворе:	Осмотическое давление (в сантиметрах водяного столба).
0,5033	20,89
1,0151	40,20
1,5064	61,69
1,9706	85,15

Этим цифрам следует придавать лишь относительное значение, так как опыт проведен в присутствии $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (при постоянной его концентрации), а нейтральные соли понижают осмотическое давление белков²⁾.

¹⁾ Если прямое влияние этих примесей на осмотическое давление парализуется выбором перепонки (для них проницаемой и лишь для белка непроницаемой), то остается косвенное влияние взаимоотношений между коллоидом и электролитами.

²⁾ Тот факт, что введение нейтральных солей понижает осмотическое давление растворов белка, обычно объясняют уменьшением числа агрегатов (мицелл) в единице объема; однако Loeb дал другое объяснение этому явлению, связанное с правилом Доннана, по которому коллоиды оказывают влияние на распределение электролитов по ту и другую сторону перегородки. «Так называемые коллоидальные свойства растворов белка, по сколько идет дело об осмо-

В некоторых случаях на основании осмотического давления можно заключать о приближении коллоидального раствора белка к молекулярной дисперсности; так, для гемоглобина определение молекулярного веса по осмотическому давлению дало величину в 16321, а определение по содержанию железа в гемоглобине приводит к цифре 16700, тоже дает расчет по соединению с окисью углерода; близость этих цифр говорит за то, что в растворе гемоглобина мы имеем дело со степенью рассеяния белкового вещества до предела свойственного настоящим растворам — до отдельных молекул. Также указывается для растворов альбумина, по крайней мере, при известных условиях.

Если идти в сторону все большей концентрации растворов, то за известным пределом для белков (и других эмульсоидов) наблюдается отступление от закона пропорциональности давления с концентрацией, именно: для осмотического давления получаются более высокие числа, чем следовало бы по расчету — здесь присоединяется влияние того рода притяжения частиц коллоида к воде, которое вызывает явления набухания. В наиболее резкой форме это притяжение проявляется, если взять сухой белок и определить гидростатическое давление, которое он способен развить после смачивания водой, обращаясь при набухании в студенистую массу; при этом первые порции воды притягиваются с наибольшей силой, которая является мерой гидрофильности данного коллоида, при следующих же порциях воды развиваемое давление убывает быстро, непропорционально степени разжижения коллоида в образующемся студне.

Малое осмотическое давление, развиваемое белками, стоит в не-
посредственной связи с их *малой способностью к диффузии*, скорость

тическом давлении, являются только следствием тех равновесий, которые известны в классической химии. Эти равновесия зависят от того, что благодаря присутствию перегородки, пропускающей ионы кристаллоидов, но не ионы белка, концентрация первых в растворе белка выше, чем во внешней водной среде. Коллоидальные свойства белков поэтому зависят только от относительной неспособности ионов белка диффундировать через перепонки — это относится к большей части растительных и животных перепонок, поэтому легко себе представить, что при регулировании осмотического давления в организме значение белков должно быть очень большим» (Loëb, Die Erklärung für das kolloidale Verhalten der Eiweisskörper». «Die Naturwissenschaften», 1923, H. 12). О правиле Доннана см. напр. у Michaelis'a, Die Wasserstoffionen konzentration, I, 288 (1922).

которой тем меньше, чем молекулярный вес больше — она убывает обратно пропорционально корню квадратному из величины молекулярного веса. А так как вес белковой молекулы очень велик, то способность их к диффузии очень мала; однако все же она поддается определению.

В виду определенной зависимости скорости диффузии (и осмотического давления) от молекулярного веса (и обратно) можно брать за исходный пункт как одно так и другое; упомянем здесь только, что для яичного белка на основании скорости диффузии вычисляется молекулярный вес равный 32814 (если допустить, что мы имеем дело в растворе с отдельными молекулами альбумина, а не агрегатами их); уже отсюда видно какова медленность диффузии белка по сравнению с такими кристаллоидами, как, напр., мочевины, молекулярный вес которой равен 60.

При изучении влияния реакции среды на различные физические свойства белков, как осмотическое давление растворов, способность к набуханию, вязкость растворов, способность белка осаждаться спиртом, обнаружилась значительная изменчивость этих свойств, при чем действие кислот и щелочей во многих отношениях оказалось аналогичным.

Объяснение этой первоначально казавшейся очень сложной совокупности изменений намечается в связи с основной химической характеристикой белковой молекулы, с ее способностью к электролитической диссоциации в двух направлениях. Основное наблюдение, послужившее к характеристике белков, как амфотерных электролитов (*амфолитов*), заключалось в следующем: если через раствор альбумина, к которому прибавлены следы кислоты, пропускать ток, то частицы белка движутся по направлению к катоду; если же раствор сделать щелочным, то они направляются к аноду¹⁾, т. е. белок ведет себя как некоторый электролит $H.Alb.OH$, который при растворении в кислоте диссоциирует на ионы $H.Alb.$ и OH' , а при растворении в щелочи — на ионы $H.$ и $OH.Alb'$.

Но где то в промежутке между зонами той и другой диссоциации должен лежать нулевой пункт, в котором частицы белка являются электронейтральными; опыт показывает, что такое состояние молекул белка, когда они не проявляют в электрическом поле определенного

¹⁾ Это явление передвижения частиц в электрическом поле носит название *катафореза*.

стремления ни к катоду, ни к аноду, лежит близко от нейтральной точки, но не совпадает с ней вполне: так как кислотный характер в белке слегка преобладает, то *изоэлектрическая точка*, в которой частицы являются электронейтральными, несколько сдвинута в сторону кислой реакции для большей части белков. Большей частью уже внешний вид раствора белка меняется при приближении к изоэлектрической точке он становится более мутным, опалесцирующим; при прибавлении как кислоты, так и щелочи раствор просветляется — растворимость белка повышается наряду с отщеплением ионов, будут ли то катионы или анионы, безразлично.

Давнее наблюдение, что белки легче растворяются в щелочах чем в кислотах, верно таким образом постольку, поскольку отправным пунктом является нейтральная реакция раствора, а не изоэлектрическая точка, характерная для данного белка.

Швейцарский биологический институт в Берне для исследования влияния различных солей на растворимость белков в воде и в спирте, а также на их электропроводность, проводил ряд опытов, результаты которых приведены в следующей таблице.

Вещество	Концентрация (г/100 г воды)	Растворимость (г/100 г воды)
Белок	0,1	0,1
Белок	0,2	0,2
Белок	0,3	0,3
Белок	0,4	0,4
Белок	0,5	0,5
Белок	0,6	0,6
Белок	0,7	0,7
Белок	0,8	0,8
Белок	0,9	0,9
Белок	1,0	1,0

Из этой таблицы видно, что растворимость белка увеличивается с увеличением концентрации солей. Это объясняется тем, что соли разрушают водородные связи, которые удерживают белковые молекулы в агрегированном состоянии. В результате белковые молекулы переходят в раствор. Это явление называется «солевой диссоциацией». Оно наблюдается для всех белков, независимо от их происхождения. Однако степень растворимости белков в солях различна. Так, например, белок, содержащий много отрицательных зарядов, будет более растворим в солях, чем белок, содержащий мало отрицательных зарядов. Это объясняется тем, что соли нейтрализуют отрицательные заряды, что приводит к разрушению агрегатов.

предела, за которым избыток кислоты и щелочи уже действует подавляющим образом).

Все сказанное о возрастании вязкости относится также к осмотическому давлению, набуханию, электропроводности, в то же время убывает наклонность к образованию и к осаждению спиртом («алкогольное число»).

Эти соотношения видны из следующего графического изображения (стр. 34), где на оси абсцисс нанесены концентрация HCl (и соответственные величины pH), а ординаты отвечают величинам осмотического давления, давления развиваемого при набухании и «алкогольным числом» для желатины, имеющей изоэлектрическую точку при pH = 4,7 (по опытам Loew'a).

С влиянием *нейтральных солей* на поведение белков в растворе мы уже отчасти рассмотрели выше, говоря о глицерине. Наименее благоприятно на растворимость белков влияют соли тяжелых металлов. Они вызывают осаждение белков, что объясняется тем, что соли тяжелых металлов образуют прочные комплексы с белковыми молекулами. В результате белковые молекулы теряют свою способность к растворению. Это явление называется «осаждением солями тяжелых металлов». Оно наблюдается для всех белков, независимо от их происхождения. Однако степень осаждения белков солями тяжелых металлов различна. Так, например, белок, содержащий много отрицательных зарядов, будет более осажден солями тяжелых металлов, чем белок, содержащий мало отрицательных зарядов. Это объясняется тем, что соли тяжелых металлов нейтрализуют отрицательные заряды, что приводит к осаждению белковых молекул.

Влияние солей на растворимость белков зависит от их природы. Так, например, соли натрия и калия не вызывают осаждения белков, в то время как соли тяжелых металлов вызывают осаждение. Это объясняется тем, что соли натрия и калия не образуют прочных комплексов с белковыми молекулами, в то время как соли тяжелых металлов образуют такие комплексы.

Влияние солей на растворимость белков также зависит от концентрации. Так, например, при низкой концентрации солей растворимость белков увеличивается, а при высокой концентрации солей растворимость белков уменьшается. Это объясняется тем, что при низкой концентрации солей происходит разрушение водородных связей, а при высокой концентрации солей происходит осаждение белковых молекул.

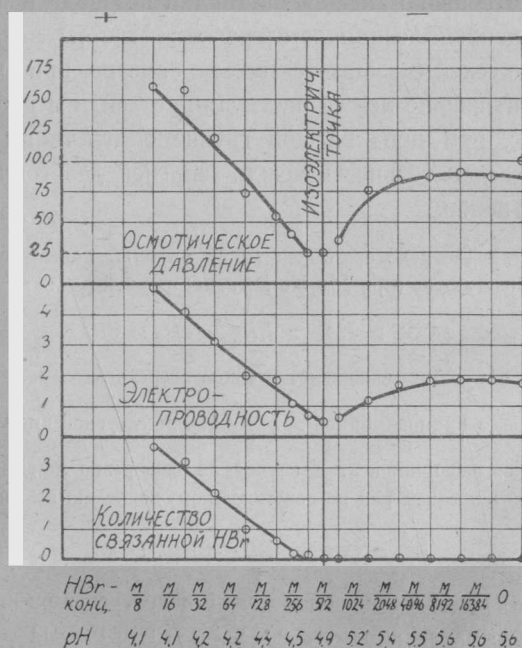
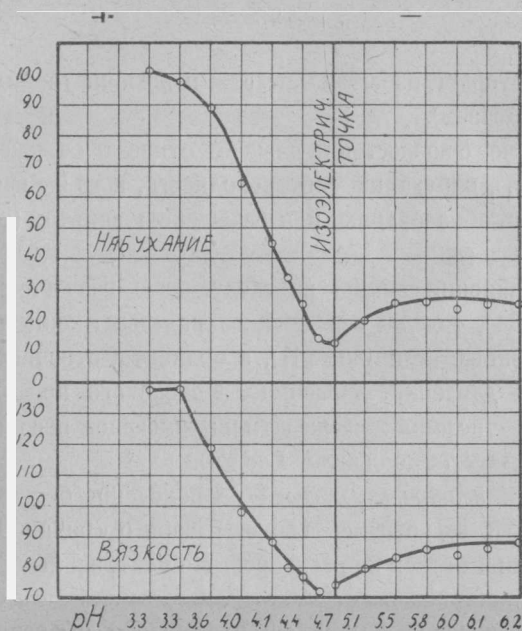
Влияние солей на растворимость белков также зависит от pH раствора. Так, например, при pH, близком к изоэлектрической точке белка, растворимость белков уменьшается, а при pH, далеком от изоэлектрической точки, растворимость белков увеличивается. Это объясняется тем, что при pH, близком к изоэлектрической точке, белковые молекулы теряют свои заряды, что приводит к осаждению.

Влияние солей на растворимость белков также зависит от температуры. Так, например, при высокой температуре растворимость белков уменьшается, а при низкой температуре растворимость белков увеличивается. Это объясняется тем, что при высокой температуре белковые молекулы денатурируются, что приводит к осаждению.

Влияние солей на растворимость белков также зависит от времени. Так, например, при длительном времени выдержки растворимость белков уменьшается, а при коротком времени выдержки растворимость белков увеличивается. Это объясняется тем, что при длительном времени выдержки белковые молекулы денатурируются, что приводит к осаждению.

Влияние солей на растворимость белков также зависит от концентрации белка. Так, например, при высокой концентрации белка растворимость белков уменьшается, а при низкой концентрации белка растворимость белков увеличивается. Это объясняется тем, что при высокой концентрации белка белковые молекулы агрегируются, что приводит к осаждению.

Влияние солей на растворимость белков также зависит от природы белка. Так, например, белки животного происхождения более растворимы в солях, чем белки растительного происхождения. Это объясняется тем, что белки животного происхождения содержат больше отрицательных зарядов, чем белки растительного происхождения.



Влияние реакции среды на физические свойства белка (желатины).

Еще сильнее действие на набухание щелочей и кислот:

На 1 гр. желатины поглощено воды.		На 1 гр. желатины поглощено воды.	
Вода	1,97	Вода	1,097
HCl $\frac{n}{500}$	3,49	NaOH $\frac{n}{500}$	3,42
HCl $\frac{n}{200}$	5,45	NaOH $\frac{n}{200}$	4,2

Но при одновременном введении щелочей (или кислот) и нейтральных солей последние противодействуют влиянию первых и понижают набухание в таком порядке для кислот (при одном и том же основании):

лимонная > фосфорная
винная > серная

Для катионов: Fe > Ca > Sr > Ba > Ca > Mg > NH₄ > Na > K.

Описанные явления осаждения белков (и других гидрофильных коллоидов) солями изменяются, если реакция перестает быть нейтральной (при чем в одном направлении и при кислотности, и при щелочности среды), именно сама по себе слабая осаждающая способность солей щелочных металлов возрастает тем сильнее, чем больше отклонение реакции от нейтральности, далее, при этом проявляется переход к необратимости реакции — осадки становятся за известным пределом нерастворимыми даже после удаления избытка соли. Но если осаждающее действие солей, вообще говоря, усиливается по мере отступления от нейтральной реакции в обе стороны, то порядок, в котором располагаются отдельные соли по энергии осаждения, является прямо противоположным в зависимости от того, происходит ли осаждение при кислой или при щелочной реакции; так при осаждении белка семян *Picea excelsa* разными солями получены такие данные для анионов:

Для осаждения нужно:	Реакция среды:	
	кислая	щелочная
NaCl	0,325	0,148
NaBr	0,200	0,206
NaNO ₃	0,116	∞
NaJ	0,069	∞

В то время как в кислой среде мы имеем восходящий ряд NaCl < NaBr < NaNO₃ < NaJ, в щелочной среде последовательность оказывается обратной.

Точно также обратное расположение получается при смене реакции и для катионов; так для яичного альбумина наблюдалось такое расположение:

в кислой среде (0,03 норм. HCl): Li > Na > K > Rb > CS
в щелочной среде (0,03 норм. NaOH): CS > Rb > K > Na > Li.

По Loew'y все кажущееся разнообразие влияния солей на поведение белков объясняется способностью белков, как амфолитов, давать

соли с основаниями и кислотами, при чем количественные соотношения подчиняются стехиометрическим законностям общей химии, завися от атомного веса и валентности как анионов, так и катионов, при чем роль тех и других меняется, смотря по тому, в какую сторону от изоэлектрической точки сдвинута реакция раствора. Все прежде наблюдавшиеся отступления от этого правила в опытах Гофмейстера и других исследователей сводятся, по Лоёб'у, к тому обстоятельству, что не делалось точного учета реакции среды (рН) и тех изменений ее, какие могут вызывать отдельные соли.

«Было особенно несчастной исторической случайностью, что коллоидальные свойства белков исследовались раньше, чем развились подходящие методы для измерения концентрации ионов водорода», говорит Лоёб.

«Химия белков не отличается от химии кристаллоидов; белки соединяются с кислотами и щелочами в стехиометрических соотношениях и образуют электролитически диссоциированные соли. Необычайно крупные ионы и молекулы белка не диффундируют через гели и через многие перепонки, которые легко проницаемы для мелких ионов кристаллоидов. При известных условиях происходит поэтому неравномерное распределение способных к диффузии ионов между раствором белка и внешним водным раствором, или между белковым гелем и водой. При этом общая концентрация кристаллоидных ионов в белковом растворе или внутри геля всегда больше, чем извне в воде. Этот факт и объясняет коллоидальные свойства белковых растворов и гели. Измерения потенциала вызываемого полупроницаемыми перегородками доказывают, что теория Доннана объясняет обогащение ионами кристаллоида внутренней жидкости. Все действия электролитов на осмотическое давление, набухание, вязкость могут быть вычислены с достаточной точностью из уравнения Доннана, которое представляет теоретическую, а не эмпирическую формулу¹⁾. Таким образом, мы твердо устанавливаем возможность объяснить поведение белков как коллоидов теоретическими обоснованными математическими выводами».

Ближайшие компоненты белковой молекулы. Давно уже было замечено физиологами, что есть какая-то взаимная связь между белками и их постоянными спутниками аминокислотами; в целом ряде случаев, когда убывает количество белка, соответственно растет количество аминного и амидного азота в фильтрате после удаления белков; и наоборот, в других случаях, когда образуются белки, количество амидосоединений убывает. Так, в непроросших семенах люпина приходится на белки около 95% от всего азота и лишь 5% на другие азотистые соединения; после же прорастания в темноте (без введения азотистой пищи извне) картина получается совершенно иная, именно:

¹⁾ Имеется в виду противопоставление уравнению Freundlich'a.

может остаться только, напр., 32% от всего азота в форме белков, а большая часть его (около 68%) окажется в виде соединений, неосаждаемых гидратом окиси меди, т. е. преимущественно amino-и-амидосоединений; наоборот, при процессе созревания семян, в них постепенно накапливаются белки и убывает количество «амидного азота». Отсюда естественно было заключить, что сложная молекула белка способна распадаться на простейшие, кристаллические тела — амидосоединения, и что эти тела в свою очередь способны соединяться в более сложные комплексы и при соответствующих условиях регенерировать белок; этот взгляд постепенно находил все большие и большие подтверждения, как при изучении продуктов гидролиза белков под влиянием кислот, так и при изучении действия различных ферментов, а в последнее время и в реакциях синтеза.

Точно также и в животном организме при процессе пищеварения давно наблюдалось образование определенных кристаллических продуктов расщепления белков, из которых потом вновь регенирируются белки разных типов, соответственно различным органам и отдельным тканям.

Азотистые продукты распада белков, встречающиеся в организмах, содержат группу NH_2 или при окисленном атоме углерода и представляют из себя кислотные амиды типа $\text{R}'\text{CONH}_2$, или же группа NH_2 стоит при неокисленном углероде, тогда мы имеем дело с *аминокислотами* типа $\text{R}''(\text{NH}_2)\text{COOH}$. В первой категории соединений положение группы NH_2 отличается непрочностью, здесь легко отщепляется NH_3 и образуется свободная группа — COOH , благодаря присоединению частицы воды при кипячении с разведенными кислотами; во втором же случае группа NH_2 является более устойчивой и не поддается действию разведенных кислот при нагревании (но может быть разрушена с выделением свободного азота при действии азотистой кислоты).

Возможно однако и совмещение двух названных способов расположения групп NH_2 в одной и той же молекуле, т. е. существуют тела типа $\text{R}''(\text{NH}_2)\text{CONH}_2$, или амиды аминокислот; таковым является самое распространенное в растениях и раньше всех других членов этой группы замеченное вещество, именно *аспарагин*, $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$; это есть амид аминокислоты (аспарагиновой) кислоты, след. строения: $\text{CO}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$. Этот хорошо кристаллизующийся амид был получен впервые французскими химиками Vauquelin и Robiquet в 1805 г. из ростков спаржи (*Asparagus*, отсюда и название), а затем

оказался обычным продуктом превращения белковых веществ в растениях. Pasteur и Boussingault наблюдали обильное образование аспарагина при прорастании в темноте семян бобовых, при чем оно имеет место в тех случаях, когда растения извне не получают азота, следовательно, источником азота для образования аспарагина могут быть только белковые вещества семенодолей; при этом Буссенго первый провел параллель между аспарагином и мочевиной, которую тоже можно рассматривать как амид-аминокислоты (аминомуравьиной или карбаминовой кислоты), или же как ди-амид-угольной кислоты: $\text{NH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$.

Когда мы искусственно разрушаем белок, вызывая гидролиз нагреванием с разведенной кислотой, то в смеси получаемых амидосоединений не находим аспарагина, но лишь *аспарагиновую кислоту* и аммиак; это не является неожиданным; как выше было сказано, группа $-\text{CONH}_2$ отличается нестойкостью по отношению к нагреванию с кислотами, и аспарагин не может быть получен из белка этим путем, так как в случае образования он должен распасться, притом именно с образованием названных продуктов (аспарагиновой кислоты и аммиака); не касаясь здесь вопроса о неответствии количества аспарагина в растениях и аспарагиновой кислоты при гидролизе; это будет разъяснено ниже, когда будет речь об образовании аспарагина вторичным путем¹⁾.

Далее, важным представителем среди продуктов распада белков оказался *лейцин* $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$, аминокaproновая кислота такого строения $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix} > \text{CHCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, найденный в 1820 году Brasconnot среди продуктов распада животных белков, также очень распространенный, но позднее открытый в растениях (1874); он дает гораздо более мелкие кристаллы, чем аспарагин, характеризуется способностью давать возгон при нагревании; обычно лейцин сопровождается своими гомологами с меньшим числом атомов углерода, из них чаще других встречается *аминовалериановая кислота* $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix} > \text{CHCH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, близкая по многим из свойств к лейцину.

¹⁾ В некоторых растениях (напр., в проростках тыквы) аспарагин заменяется или сопровождается своим гомологом, *глутамином* $\text{CO}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$; точно также это соединение распадается при нагревании с кислотами на аммиак и глутаминовую кислоту, и также эту последнюю находят на ряду с аспарагиновой кислотой среди продуктов гидролиза белка.

Но кроме аминокислот жирного ряда, в проростках (и вообще всюду там, где идет распад белков) встречаются аминокислоты ароматического ряда; таков *тирозин*, полученный впервые Либихом из сыра (по гречески — *tyros*, отсюда тирозин), процесс созревания которого сопровождается распадом белка (казеина) и накоплением аминокислот. Тирозин был обнаружен в ростках вики Goup-Beñanez'ом в 1877 г., а затем оказался одним из наиболее постоянных членов той смеси амидов, которая сопровождает белки в растениях. Тирозин представляет оксифениламинопропионовую

кислоту $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{matrix} \text{OH} \\ \text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \end{matrix}$; он очень трудно растворим в холодной воде, кристаллизуется в шелковистых иглах и при нагревании разлагается, давая запах фенола и аммиака. Тирозин дает красное окрашивание с Миллоновым реактивом, и его присутствием обуславливается тоже окрашивание при нагревании белка. Тирозин может заменяться и сопровождаться близкой к нему *фениламинопропионовой* кислотой $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, которая была открыта в 1881 году Шульце¹⁾ в семенодолях люпина (это соединение не дает окраски с Миллоновым реактивом; последняя требует присутствия гидроксильной группы в ароматическом ядре). Кроме амидов и аминокислот, в растениях было найдено Шульце¹⁾ (1886) среди продуктов распада белка еще вещество, очень богатое азотом, с ясно выраженными основными свойствами, так называемый *аргинин*, $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$, который оказался затем постоянной составной частью и растительных, и животных белков; к нему (и другим основаниям) мы еще вернемся ниже, здесь же мы хотели только охарактеризовать, хотя бы в главных чертах, состав той смеси азотистых небелковых соединений, которая образуется при распаде белков в растении и в которой первичные продукты оказались общими с продуктами распада и животных белков.

Не так давно еще видные исследователи (Pfeffer 1892, O. Loew 1905) оспаривали единство в ходе распада белка в разных организмах и

¹⁾ Эрнст Шульце, в течение 40 лет (1872—1912) руководивший лабораторией агрономической химии в Цюрихе, сделал очень много для разъяснения вопроса о превращении белковых веществ в растениях и способствовал установлению черт единства с распадом белков в животном организме; он не только изучил с количественной стороны превращение уже известных химикам веществ в растениях, но им был выделен ряд ранее неизвестных веществ которые оказались затем имеющими общее значение для химии белков.

полагали, что из этой сложной молекулы, атомы в которой располагаются по трем измерениям, живая клетка может отделять разные комплексы атомов, смотря по тому, в каком направлении будет действовать сила расщепляющая белковую молекулу; по этому представлению в белке может вовсе не существовать заранее ни лейцина, ни тирозина, но одни и те же атомы могут войти при одном типе распада в состав одного продукта, при другом же типе распада линия разъединения может пройти в ином направлении, и тот же атом войдет в состав совсем другого кристаллического продукта. Однако, эти представления постепенно должны были уступить свое место другим, по которым сложная молекула белка построена из более простых постоянных и устойчивых ядер, соединенных друг с другом связью менее прочной, чем связь между углеродными атомами в пределах каждой аминокислоты; теперь ясно, что лейцин, тирозин, аргинин заранее существуют в белковой молекуле, а не образуются только в момент ее распада, как нечто совсем новое.

Генетическая связь названного ряда соединений с белками, устанавливаемая на основании изучения количественных соотношений в группе азотистых веществ в разных стадиях прорастания, получает окончательное подтверждение при изучении продуктов распада белковой молекулы, образующихся при действии кислот — здесь наблюдается образование тех же основных групп.

Первые опыты по *разложению белков кислотами* относятся еще к 1822 году¹⁾; затем в лаборатории Либиха пришли к убеждению, что вместо мало дающего элементарного анализа к белкам следует применить систематическое изучение продуктов гидролиза; первоначально однако встретилось препятствие в неразработанности методики, и лишь в 1877 году появилось более законченное исследование Риттгаузена, произведенное к тому же над растительными белками.

Риттгаузен нагревал 1 ч. белка (например, легумина, полученного из семян гороха) с 3 ч. серной кислоты и 6 ч. воды, сначала на водяной бане (до растворения), а затем с обратным холодильником в течение 7—8 часов; при этом количество белка постепенно убывает, под конец весь он распадается на смесь продуктов, не даю-

¹⁾ Именно Врасопот, разлагая клей разведенной серной кислотой, открыл гликоколь и лейцин среди продуктов распада.

щих биуретовой реакции. Если затем удалить кислоту, нейтрализуя ее известью или баритом (после разбавления водой), то при выпаривании фильтрата можно наблюдать кристаллизацию тирозина и лейцина, первого — в виде шелковистых иголок, частью собранных в звездчатые скопления, второго — в виде бородавчатых зернистых масс, под микроскопом также обнаруживающих кристаллическое сложение.

При дальнейшем выпаривании маточного раствора, Риттгаузен получил аспарагиновую и глютаминовую кислоты, при чем им уже было замечено, что выход отдельных веществ для различных белков не вполне постоянен (так, глиадин дал значительно больше глютаминовой кислоты, чем легумин, конглютин и глютенказеин).

В 1873 году Hlasiwetz и Habermann дали описание своих опытов разложения различных белков (как растительных, так и животных); эти авторы применяли соляную кислоту, при чем кипячение продолжалось 72 часа; при выпаривании кислой жидкости в этом случае первой выпадает глютаминовая кислота (в виде хлористоводородной соли, отличающейся малой растворимостью), а затем уже тирозин и лейцин; аспарагиновая же кислота выделена была из маточной жидкости в виде свинцовой соли; образование аммиака при гидролизе белка Hlasiwetz и Habermann объяснили распадом амидов. Эти авторы также отмечают, что разные белки дают различные количества отдельных продуктов распада; они выражают уверенность, что «различные свойства видоизменений белка зависят от различных соотношений *одних и тех же основных групп атомов*, образующих частицу белка», и ставят ближайшей задачей выработку методов для количественного определения отдельных продуктов.

Задача эта оказалась трудной и лишь медленно поддающейся разрешению; как увидим ниже, потребовалось более четверти столетия для достижения удовлетворительных результатов. Отметим несколько этапов на этом пути.

В 1883 г. Шульце выделил при гидролизе одного из растительных белков фениламинопропионовую кислоту, которую за два года до этого он же обнаружил в семени подорожника.

Приблизительно к тому же периоду относятся работы Шютценбергера над действием барита на белки, обнаружившие, что основания вызывают распад белка в общих чертах сходный с распадом под влиянием кислот.

ная роль в построении белковой молекулы; но уже приведенное выше строение аргинина обнаружило, что в нем нет сплошной цепи 6 углеродных атомов; тоже относится и к гистидину. Поэтому теперь термин «гексоновые основания» если и употребляется, то без того значения, которое ему придавалось первоначально.

В построении молекулы разных видов белка основания принимают разную степень участия; о ней можно получить суммарное представление, если небольшую навеску белка подвергнуть гидролизу, из смеси продуктов отогнать аммиак при нагревании с магниевой, а на оставшуюся часть подействовать фосфорновольфрамовой кислотой, тогда осадят все основания (аргинин, гистидин и лизин), а в растворе останутся моноаминокислоты (лейцин, тирозин и др.); определяя весь азот в осадке и в фильтрате (по Кньюдалю), мы можем судить о соотношении между количествами оснований и аминокислот, входящих в состав данного белка; вот несколько подобных данных (в % от общего количества N).

	N аммиака.	N оснований (ди-амино- кислот).	N аминокислот.
Альбумин (кур. яйцо).	8,5%	21,3%	67,8%
Казеин (молоко).	10,3	22,4	66,0
Клей (животн.).	1,6	35,8	62,5
Эдестин (конопля).	10,1	31,6	57,7
Легумин (чечевица, горох) . . .	9,3	28,3	61,5
Глиадин (пшеница)	24,5	6,2	68,9
Глютенин (пшеница).	18,8	11,7	68,3
Гордеин (ячмень)	23,3	4,5	70,9
Зеин (кукуруза).	18,4	3,0	77,5
Легумелин (чечевица)	6,7	22,3	68,3 ¹⁾

Из данных таблицы видно, что количество азота, входящего в состав оснований, для разных белков весьма различно (колеблется от 3,0 до 35,8%); но, кроме того, наблюдаются существенные различия и в том, какие именно основания более представлены в данном белке, при чем встречаются случаи и полного отсутствия одного из трех обычных оснований, именно лизина; вот несколько примеров из данных Осборна:

¹⁾ Подробнее см. Osborne, The vegetable proteins, стр. 57.

	Гистидин.	Аргинин.	Лизин (на 100 ч. белка).
Эдестин	2,19	14,17	1,65
Легумин	1,69	11,73	4,98
Глютенин	1,76	4,72	1,92
Глиадин	0,58	3,16	0
Гордеин	1,28	2,16	0
Зеин	0,82	1,35	0
Казеин (жив.)	2,46	3,39	5,95
Альбумин (жив.)	2,17	5,07	6,43

Отсутствие лизина свойственно определенной группе белков, именно растворимым в водном спирте белкам хлебных зерен (но остальные белки хлебных зерен содержат все три основания и являются «полноценными» белками, с точки зрения пищевого их значения).

Что касается происхождения аммиака, образующегося при кислотном гидролизе белков, то он очевидно указывает на наличие в белковой молекуле амидной группы ($CONH_2$), разрушаемой действием кислот при нагревании подобно тому, как это мы наблюдаем в аспарагине и глутамине; за то, что образование аммиака связано с наличием такой определенной группы, говорит замечательное постоянство его выхода при различных способах определения¹⁾. Какой именно из составных частей белка принадлежит амидная группа, с определенностью неизвестно, но Осборн отмечает, что количество аммиака для разных белков изменяется довольно согласно с количеством аспарагиновой и глутаминовой кислоты, как это видно из следующих примеров²⁾:

	Количество NH_3 , высчитанное по аспарагиновой и глутаминовой к-там.	NH_3 в отгоне с магнием.
Эдестин	2,19%	2,28%
Легумин	2,27	2,16
Глиадин	4,39	5,11
Зеин	3,72	3,61

¹⁾ Напр., для глиадина Осборн находил такие величины: 4,40—4,44—4,35—4,30—4,33—4,30% аммиачного азота (% от навески).

²⁾ Несовпадение для известных случаев Осборн объясняет неполной изученностью продуктов гидролиза некоторых видов белка.

При гидролизе под влиянием щелочей выход аммиака увеличивается, так как часть органических оснований, противостоящих действию кислот, отщепляет аммиак при нагревании со щелочами (аргинин).

Учет отдельных продуктов распада белковой молекулы при гидролизе долго представлял не малые затруднения, особенно в отношении моноаминокислот. Если нетрудно было открыть вещества, встречающиеся в большом количестве, как напр. лейцин, то отсюда еще далеко до получения точных данных относительно этого количества, тем более, что нередко получается ряд близко стоящих продуктов, сходных по внешним свойствам (напр., лейцин и аминовалерьяновая кислота); далее эти вещества склонны иногда образовывать смешанные кристаллы, а смесь аминокислот способна удерживать в растворе и такие вещества, для которых предел растворимости лежит невысоко и которые в чистом виде должны были бы уже выпасть. Таким образом, встречается ряд препятствий к разделению аминокислот простой кристаллизацией, и многие из веществ, встречающихся в известных белках лишь в небольших количествах, в этих случаях долго не могли быть констатированы. При попытках простого суммирования выходов в кристаллах для отдельных продуктов поэтому получали обычно не более 70% от исходного количества белка (если некоторые авторы утверждали, что им удалось получить путем простой кристаллизации в сумме до 90% от взятой для гидролиза навески белка, то это объяснялось недостаточной чистотой отдельных фракций).

Значительный шаг вперед на этом пути был достигнут благодаря приему, предложенному Эмилем Фишером, именно, он после гидролиза переводит все аминокислоты в эфиры, путем пропускания газообразного хлороводорода в спиртовый раствор их¹⁾; эти эфиры

¹⁾ Обычно берут около 500 гт. изучаемого белка и нагревают с крепкой соляной кислотой до полного гидролиза (исчезновение биуретовой реакции); отфильтровавши от небольшого количества нерастворимого темного остатка («гуминовые вещества», «меланины»), фильтрат и промывные воды сгущают до сиропа (под уменьшенным давлением); затем приливают 1½ литра абс. алкоголя и пропускают до насыщения сухой хлороводород, который, действуя водоотнимающим образом, вызывает образование сложных эфиров аминокислот со спиртом ($R-NH_2CO-O-C_2H_5$), кроме того, группа NH_2 присоединяет частицу HCl ,

в большинстве случаев представляют жидкости, способные перегоняться без разложения под уменьшенным давлением, а потому является возможным разделение отдельных эфиров путем фракционированной перегонки, если не вполне строгое, то все же гораздо более совершенное, чем это достижимо путем последовательной кристаллизации самих аминокислот. Этот метод позволяет констатировать присутствие отдельных аминокислот даже когда они находятся в небольших количествах, поэтому он в некоторых случаях привел к открытию ранее неизвестных продуктов гидролиза белка, а главным образом послужил средством систематического изучения этих продуктов для целого ряда белков, при чем получилось в общем подтверждение того положения, что отдельные компоненты сложной молекулы различных белков почти всегда одни и те же, но представлены в отдельных случаях в различных количественных соотношениях, при чем различия эти могут быть весьма значительны (в отдельных случаях наблюдается даже выпадение отдельных членов обычного ряда).

Значительно легче, чем в случае моноаминокислот, идет выделение и количественный учет оснований (ди-аминокислот), благодаря методам разработанным Косселем и его сотрудниками; здесь обычно используют способность оснований хорошо осаждаться фосфорновольфрамовой кислотой в кислом растворе, в то время как аминокислоты не осаждаются, если работа ведется с растворами известной (невысокой) концентрации. Можно разложить белок серной кислотой, и не удаляя последней к смеси продуктов прилить фосфорноволь-

так что получают не самые эфиры, а их хлористоводородные соли. Их спиртовый раствор подвергается сгущению, затем осторожно (при охлаждении) вводят едкий натр, чтобы связать соляную кислоту и одновременно извлекают обыкновенным эфиром свободные сложные эфиры аминокислот; по удалении эфира, переходят к фракционированной перегонке, при чем наибольшее значение имеют такие фракции: 1) при 60° и 12 мм. давления; здесь преобладают эфиры гликоколя и аминопропионовой кислоты, 2) при 100° и 12 мм. давления; эта фракция содержит лейцин, аминовалерьяновую и отчасти аминопропионовую к-ту, 3) при 100° и 0,1—0,5 мм. давления — опять преобладает лейцин, 4) 75° и 0,1—0,5 мм. давления: здесь получают эфиры аспарагиновой и глютаминовой кислот, серина и фенил-аланина. Большинство эфиров 1—3 фракции легко омыляется при простом нагревании с водой, в других случаях применяется омыление при нагревании с соляной кислотой или баритом. Для дальнейшего разделения аминокислот при близлежащих точках кипения их эфиров, пользуются кристаллизацией их медных солей и некоторыми другими приемами.

фрамовой кислоты; в осадке будут основания (и аммиак, получающийся при распаде белков в известных количествах). Осадок этот может быть разложен баритом, аммиак удален из фильтрата протягиванием струи воздуха, в растворе остаются свободные основания. Для их разделения пользуются способностью гистидина и аргинина давать нерастворимые соединения с серебром. Именно, если к раствору азотнокислых солей оснований в присутствии азотнокислого серебра приливать раствор барита, то сначала будет выпадать розоватый осадок серебряного соединения гистидина; по его полном выделении (на что делается контрольная реакция) начинает выпадать при дальнейшем прибавлении барита более темный осадок серебряного соединения аргинина, который собирается отдельно (затем оба осадка освобождаются от серебра пропусканием сероводорода); в фильтрате же от выделения аргинина и гистидина остается лизин, не дающий с серебром нерастворимого соединения; его обыкновенно кристаллизуют в виде соли пикриновой кислоты (а если дело идет только о количественном определении, то лишь определяют азот в соответственных фракциях).

Нередко возникали сомнения, не являются ли некоторые из продуктов распада белка продуктами вторичными, образующимися благодаря влиянию нагревания с кислотами; но уже тот факт, что нагревание со щелочью дает большинство тех же самых продуктов, говорит против такого предположения, а еще более является убедительным то обстоятельство, что и такое нерезкое воздействие, как гидролиз с помощью ферментов, приводит к тем же самым результатам. Ферменты, гидролитически расщепляющие белок на кристаллические простейшие компоненты, носят общее название *протеолитических ферментов*; давно известным и наиболее изученным является действие фермента поджелудочной железы, *трипсина*; еще в 60-х годах Kühne показал, что при триптическом переваривании получаются тирозин и лейцин; позднее обнаружены были не только другие члены из ряда моноаминокислот, но также и основания, как постоянные продукты действия трипсина на белок¹⁾. Нахождение

1) Если поместить водный раствор альбумина в пергаментный мешок и окружить последний дистиллированной водой, то даже через долгий промежуток в наружной жидкости нельзя обнаружить белка биуретовой пробой, для внутренней жидкости она обнаруживается с полной ясностью. Но если мы прибавим к раствору белка немного панкреатического сока, то через некоторое время наружная жидкость обнаруживает биуретовую реакцию — следовательно,



протеолитических ферментов доказано и в растениях (Буткевич 1901); к этому вопросу нам еще предстоит вернуться ниже. При этом не только получается совпадение в качественном составе смеси кристаллических продуктов гидролиза, но количественные соотношения остаются теми же самыми, какой бы способ гидролиза не применялся, т. е. действовать ли ферментом или кислотой; даже при действии щелочей сохраняются в большинстве случаев основные соотношения, за исключением тех вторичных изменений, какие происходят с продуктами первичного распада под влиянием щелочи, как напр., разрушение аргинина.

В нижеследующей таблице сопоставлены данные количественного учета выходов кристаллических продуктов распада для ряда белков растительного и животного происхождения; из этих примеров видно, что между теми и другими нельзя провести определенной грани, так как колебания в % содержании отдельных компонентов (а иногда и выпадение целиком того или другого члена ряда) встречается внутри той и другой группы.

Кроме усовершенствования методов выделения отдельных продуктов, как таковых, имеются попытки усовершенствовать количественный учет отдельных групп без выделения их в чистом виде. Сюда относятся приемы учета наличных аминных групп в белке, по методу «формольного титрования» (см. сказанное на стр. 17) и по действию азотистой кислоты на эти группы (разложение с выделением свободного азота). Действие HNO_2 на известную часть продуктов гидролиза введено в методе van-Slyke в общий ход анализа, ведущегося в такой последовательности: навеска белка подвергается гидролизу, после чего из смеси удаляют аммиак отгонкой с известковым молоком в разреженном пространстве и определяют по его количеству сумму амидов (аспарагина и глутамина), из которых он при гидролизе образуется; известь увлекает в осадок гумино-

образовались продукты, способные проходить через пергамент; в то же время раствор белка теряет способность свертываться; еще некоторое время, и внутренняя жидкость обнаруживает выпадение белых зернистых скоплений; а затем мелких листочков — это кристаллизуются конечные продукты распада, аминокислоты, те самые, которые образуются при кислотном гидролизе, т. е. тирозин, лейцин, аминвалерьяновая кислота и пр. Если же мы возьмем пепсин, то точно также получим выступление наружу несвертывающихся продуктов, но дающих биуретовую реакцию (пептоны); образования аминокислот не произойдет, так как действие пепсина является не столь далеко идущим.

Ближайший состав некоторых белков

Белки	Эдестин (из конопли).	Эдестин (хлопчатник).	Эдестин (подсолнечник).	Эдестин (тыква)	Легумин (горох).	Экцельзин (Bertholletia).	Амандин (миндаль).	Гладиин (пшеница).	Гладиин (рожь).
Гликоколь	3,8	1,2	2,5	0,08	1,0	0,6	0,5	0,9	0,13
Аланин	3,6	4,5	4,5	—	2,8	2,3	1,4	2,7	1,3
Аминовалерьяновая кислота	6,2	—	0,6	0,7	1,0	1,5	0,2	0,3	—
Лейцин	20,9	15,5	12,9	4,7	8,2	8,7	4,4	6,0	6,3
Серин	0,33	0,4	0,2	—	—	—	—	0,12	0,06
Цистин	0,25	—	—	—	—	—	—	0,45	—
Аспарагиновая кислота	4,5	2,9	3,2	4,5	4,0	3,8	5,4	1,3	0,25
Глютаминовая кислота	6,3	17,2	13,0	13,4	16,3	13,0	23,1	36,5	33,8
Лизин	1,0	—	—	—	5,0	1,6	0,7	0	0
Аргинин	11,7	—	—	—	4,6	16,0	11,8	3,4	2,2
Фенил-аланин	2,4	3,9	4,0	2,6	2,0	3,5	2,5	2,6	2,7
Тирозин	2,1	2,3	2,0	1,4	2,8	3,0	1,1	2,4	1,2
Пролин	1,7	2,3	2,8	1,7	2,3	3,6	2,4	2,4	9,8
Оксипролин	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Триптофан	—	—	—	—	—	—	—	1,0	—
Гистидин	1,7	—	—	—	1,1	1,4	1,6	1,7	0,4
Аммиак	—	—	—	—	—	1,8	3,7	5,1	5,1

подобные вещества (меланины), частично получающиеся при действии кислоты на белок, их количество определяется по азоту в осадке от извести (чтобы иметь полный баланс азота). В фильтрате от извести осаждают с помощью фосфорновольфрамовой кислоты цистин и три диаминокислоты (лизин, аргинин, гистидин); о количестве цистина заключают по содержанию серы и вычитают азот цистина из суммы азота в осадке от фосфорновольфрамовой кислоты. Количество аргинина определяют по его способности при нагревании с разведенной щелочью отщеплять половину азота в виде аммиака; действуя азотистой кислотой на смесь оснований, определяют сумму разлагаемых групп NH_2 ; так как в аргинине с азотистой кислотой реагирует $\frac{1}{4}$ азота и в гистидине $\frac{2}{3}$, то определяя оставшийся азот, вычитают из него $\frac{3}{4}$ азота аргинина и помножая остальное на $\frac{3}{2}$, определяют количество гистидина. Количество лизина определяется по разности между суммой азота оснований и азота аргинина и гистидина.

В фильтрате от фосфорновольфрамовой кислоты определяют количество азота, выделяемого при действии азотистой кислоты и непринимаящего участия в реакции; при этом целиком выделяется

растительного и животного происхождения

Белки	Эдестин (из конопли).	Эдестин (хлопчатник).	Эдестин (подсолнечник).	Эдестин (тыква)	Легумин (горох).	Экцельзин (Bertholletia).	Амандин (миндаль).	Гладиин (пшеница).	Гладиин (рожь).	Зени (мас).	Гордени (ячмень).	Глютеин (пшеница).	Конглоутин (люпин).	Авенин (овес).	Белок из семян сосны.	Альбумин яйца.	Казеин молока.	Гистон из зоб. журавля.	Глобин (из гемогл. лошади).	Фиброин шелка.	Кератин (из рога).	Кератин (из волос).	Клей.
Гликоколь	3,8	1,2	2,5	0,08	1,0	0,6	0,5	0,9	0,13	0,0	0,0	0,9	0,8	1,0	0,6	0	0	0,5	0	36,0	0,45	4,7	16,5
Аланин	3,6	4,5	4,5	—	2,8	2,3	1,4	2,7	1,3	2,2	0,4	4,6	2,5	2,5	1,8	2,7	0,9	3,5	4,2	21,0	1,6	1,5	0,8
Аминовалерьяновая кислота	6,2	—	0,6	0,7	1,0	1,5	0,2	0,3	—	0,3	0,13	0,24	1,1	1,8	—	1,0	6,6	—	—	0	4,5	0,9	1,0
Лейцин	20,9	15,5	12,9	4,7	8,2	8,7	4,4	6,0	6,3	18,6	5,7	6,0	6,7	15,0	6,2	20,0	10,5	11,8	29,0	1,5	15,3	7,1	2,1
Серин	0,33	0,4	0,2	—	—	—	—	—	0,06	0,6	—	0,7	—	—	0,08	0,6	0,23	—	0,6	1,6	1,1	0,6	0,4
Цистин	0,25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,02	—	—	—	2,3	0,06	—	0,3	—	7,5	10%	—
Аспарагиновая кислота	4,5	2,9	3,2	4,5	4,0	3,8	5,4	1,3	0,25	1,4	—	0,9	3,0	4,0	1,8	3,1	1,2	0	4,4	—	2,5	0,3	0,56
Глютаминовая кислота	6,3	17,2	13,0	13,4	16,3	13,0	23,1	36,5	33,8	18,3	36,3	23,4	19,5	18,4	7,8	7,7	11,0	0,5	1,7	0	17,2	3,7	0,9
Лизин	1,0	—	—	—	5,0	1,6	0,7	0	0	0	0	1,9	2,1	—	0,25	—	5,8	6,9	4,3	—	0,2	1,1	2,7
Аргинин	11,7	—	—	—	4,6	16,0	11,8	3,4	2,2	1,2	2,2	4,7	6,6	—	10,9	—	4,8	15,5	5,4	1,0	2,7	4,5	7,6
Фенил-аланин	2,4	3,9	4,0	2,6	2,0	3,5	2,5	2,6	2,7	4,9	5,0	2,0	3,1	3,2	1,2	3,1	3,2	2,2	4,2	1,5	1,9	0	0,4
Тирозин	2,1	2,3	2,0	1,4	2,8	3,0	1,1	2,4	1,2	3,6	1,7	4,2	2,1	1,5	1,7	2,1	4,5	5,2	1,5	10,5	3,6	3,2	0
Пролин	1,7	2,3	2,8	1,7	2,3	3,6	2,4	2,4	9,8	6,5	13,7	4,2	2,6	5,4	2,8	1,0	3,1	1,5	2,3	—	3,7	3,4	5,2
Оксипролин	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,2	—	1,0	—	—	—	3,0
Триптофан	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—	—	1,5	—	—	—	—	—	0
Гистидин	1,7	—	—	—	1,1	1,4	1,6	1,7	0,4	0,4	1,3	1,7	0,6	—	0,62	—	2,6	1,5	11,0	—	—	0,6	0,40
Аммиак	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,6	1,9	4,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

азот кислот: гликоколя, аланина, серина, аспарагиновой, глютаминовой, аминовалерьяновой, лейцина, тирозина, фенилаланина; не выделяется азот пролина и оксипролина, в триптофане отщепляется половина азота. Сумма найденных форм азота должна быть близка к содержанию азота в навеске взятого белка, что в анализах van-Slyke достигалось с большой степенью близости; вот примеры таких определений для разных белков.

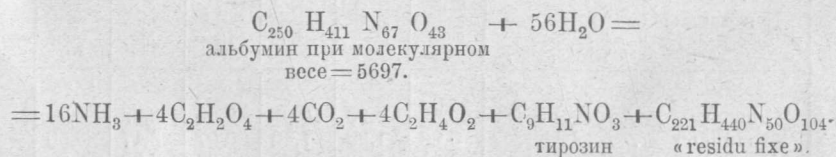
Белки.	Гладиин. (Triticum).	Эдестин. (Cannabis).	Кератин.	Желатина.	Фибрин.	Гемоглобин.
Аммиака	25,52	9,99	10,05	2,25	8,32	5,24
Меланинов	0,86	1,98	7,42	0,07	3,17	3,60
Цистина	1,25	1,49	6,60	0,0	0,99	0,0
Аргинина	5,71	27,05	15,33	14,70	13,86	7,70
Гистидина	5,20	5,75	3,48	4,48	4,83	12,70
Лизина	—	3,86	5,37	6,32	11,51	10,90
Аминный азот фильтрата	51,98	47,55	47,50	56,33	54,20	57,00
Азот имидных групп	8,50	1,70	3,10	14,90	2,70	2,90

«Дезаминирование» с помощью азотистой кислоты и «формальное титрование» применяют также к нетронутому гидролизом (или не до конца гидролизированному) белку, чтобы учесть количество свободных аминных групп (чем их больше, тем больше сдвиг в сторону кислотности при титровании формалином).

Строение белковой молекулы. Если не считать высказанной Мюльдером (1840) гипотезы, что все разнообразие белковых веществ объясняется соединением одного и того же радикала, «протеина», с разными количествами кислорода, серы, фосфора и др. простых тел, то первой попыткой представить себе расположение атомов в частице белка является построение Шютценбергера (1890), который изучал распад белка при нагревании с баритом и учитывал, сколько воды вступает в реакцию, сколько образуется аммиака, угольной и щавелевой кислот, тирозина; при этом однако количество остальных аминокислот (или образованных ими комплексов, «лейцеинов» по Шютценбергеру) было определено лишь суммарно («residu fixe»).

В «лейцеинах» можно до известной степени видеть предшественников полипептидов Фишера, с тем, конечно, различием, что Шютценбергер не знал способа связи аминокислот между собою, и его попытки синтеза «лейцеинов» велись в значительной степени ощупью; но все же Шютценбергеру принадлежит заслуга первых шагов в этом направлении (см. также стр. 42). Шютценбергер принимал, что выход тирозина из разных белков довольно постоянен, поэтому он приписал тирозину особое значение в построении белковой молекулы, предположив, что ароматическое ядро занимает в ней центральное положение.

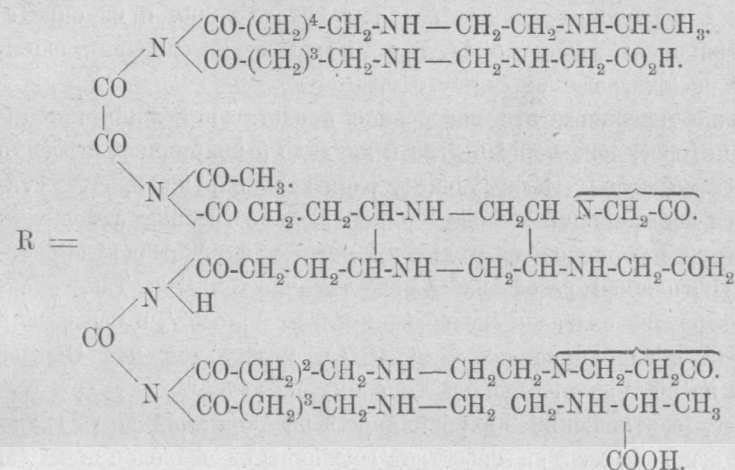
Gautier¹⁾, развивая построение Шютценбергера, находил, что количественные соотношения при реакциях распада белка не могут быть выражены уравнением более простым, чем следующее:



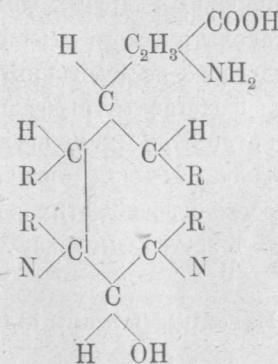
Принимая, что на одну частицу тирозина образуется число частиц других продуктов кратное 4, Gautier полагал, что моле-

¹⁾ См. Gautier «Leçons de chimie biologique», стр. 63 и следующие за ней.

кула белка при гидролизе прежде всего распадается на тирозин и 4 тождественных (или близких) по построению группы, в свою очередь подвергающихся дальнейшему распадению; на каждую из таких групп придется по 4NH_3 и по одной части угольной и щавелевой кислот; «лейцеины» распределяются между этими четырьмя группами (предположительно) поровну; строение каждой такой группы (R) можно было бы, по Gautier, представить следующим образом:



Частица белка при этом представлялась в виде ароматического ядра (тирозина), в котором четыре водорода замещены этими сложными радикалами; в виду того, что Шютценбергер наблюдал еще выделение небольших количеств водорода приблизительно в отношении 6H на одну частицу тирозина, то Gautier находил более правильным взять гексагидротирозин и в нем заместить 4 водорода вышеуказанными боковыми цепями (R) таким образом:



Ход гидролиза Gautier представлял так, что эта частица воспринимает (первоначально) четыре молекулы воды и дает тирозин, водород и группы RONH , далее же следует распадение этих групп с восприятием новых количеств воды и образованием свободных аминокислот.

Gautier, в подтверждение этого схематического представления о частице белка, между прочим, указывал на свое определение частичного веса альбумина, давшее величину около 5800, и на определение Дьяконова, давшее 5944, т. е. цифры весьма близкие к вычисленным по описываемой формуле.

Однако теперь все это построение представляет лишь исторический интерес, как первый этап в подходе к пониманию строения белковой молекулы. Последующие работы обнаружили, что считавшиеся постоянными и характерными количественные отношения изменяются при переходе к другим белкам, а некоторые определения Шютценбергерера оказались недостаточно точными. Так, содержание тирозина оказалось колеблющимся от 1 до 5% в настоящих белках (а в альбуминоидах — до 10%), между тем как Gautier исходил из постоянного выхода тирозина около 3,5%.

Далее, соотношение «карбамидных» и «оксамидных» групп в белке основывалось на известном соотношении выходов аммиака, угольной и щавелевой кислот, которое также не подтвердилось; так Habermann показал, что Шютценбергер, определяя CO_2 по потере в весе баритового осадка при разложении последнего кислотой, допустил ошибку, не принявши во внимание, что кроме углекислого бария там содержался еще сернистый барий; точно также выходы щавелевой кислоты оказались учтенными не точно¹⁾.

Таким образом данные, на которых, создана была гипотеза Gautier, оказались неточными, а других доводов, говорящих за центральное положение ароматического ядра в белковой молекуле не обнаружилось при последующих исследованиях.

Следующая попытка представить строение белковой молекулы принадлежала Косселю и относится к тому времени, когда только что открыты были «гексоновые» основания (аргинин, лизин, гистидин): пока не было точно известно строение этих веществ, казалось имеющим значение то обстоятельство, что каждое из них содержит

¹⁾ См. Habermann и Ehrenfeld в Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 30.

6 атомов углерода и можно было строить предположения, не имеет ли особого значения это совпадение числа углеродных атомов с числом их условных представителей группы углеводов.

Так, при суммарном изображении формул мы имеем:

для лизина	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$
» гистидина	$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$
» аргинина	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$

Коссель предположил, что известный комплекс из гексоновых оснований образует неперенное ядро белковой молекулы, к которому могут присоединяться в качестве боковых цепей моноаминокислоты в большем или меньшем количестве, смотря по виду белка.

Так как животным физиологам пришлось встретиться в некоторых органах рыб (семенных железах) с веществами, состоящими почти из одних оснований, то и было высказано предположение, что эти вещества (протамины) являются простейшими белками. К ним ближе других стоят белки (так наз. гистоны), встречающиеся в некоторых железах млекопитающих (напр. в зубной железе), с повышенным содержанием оснований, и, наконец, дальше идут обычные, самые распространенные представители белков, в которых моноаминокислоты сильно преобладают над основаниями.

Последующие исследования показали, что протамины построены не из одних лишь оснований, хотя последние и преобладают в молекуле (до 80%); затем, не все три основания непременно входят в состав протаминов.

Но независимо от этого, если бы первоначальное представление о протаминах и было вполне верно, то следовало бы поставить вопрос, можно ли называть первичными белками вещества, по элементарному составу резко отличающиеся от обычных белков (напр. 25% N, вместо 16%), не содержащие серы, не дающие реакции с Миллоновым реактивом (вследствие отсутствия тирозина), не свертывающиеся при нагревании, обладающие ясными щелочными свойствами (некоторые — не меньшими, чем самый аргинин), и т. д.¹⁾

¹⁾ Одно время казалось, что в пользу гипотезы Косселя говорит получение из белка основных комплексов, так называемых «киринов» (Siegfried). Если нагревать белок с 15% соляной кислотой в термостате, то получаются продукты неполного гидролиза, часть которых осаждается фосфорновольфрамовой кислотой, а по разложению осадка баритом получают соединения этих комплексов (киринов) с серной кислотой, способные осаждаться спиртом. При окончательном

Как в гипотезе Gautier—Schützenberger'a, так и в гипотезе Kossel'a исходным пунктом являлось предположение, что некоторые основные группы занимают центральное положение в белковой молекуле, а другие, играющие второстепенную роль, входят в нее в качестве боковых цепей; теперь же сумма имеющихся фактов приводит скорее к представлению, что такого центрального ядра вовсе нет, а отдельные компоненты являются как бы равноправными членами общей цепи (или иного характера общего комплекса).

При этом более разрешимым в настоящее время является вопрос о характере взаимной связи отдельных членов между собой; труднее решить вопрос о величине молекулы и о наличии в ней иных связей, кроме уже установленных (видимо преобладающих).

При рассмотрении вопроса о характере взаимной связи отдельных компонентов, удобно прежде всего исключить те случаи, которые не отвечают совокупности имеющихся фактов (в основных чертах это было сделано Hofmeister'ом в 1901 году).

Так, нельзя представить, чтобы отдельные аминокислоты в имеющей громадные размеры белковой молекуле связаны были непосредственной связью углеродных атомов $\equiv C \cdot C \equiv$; при такой прочной связи трудно было бы объяснить легкий распад на определенные, постоянно встречающиеся комплексы частью большей, частью меньшей величины, распад вызываемый при том не только сильно действующими реактивами, но и ферментами; а среди ферментов даже наиболее энергично действующих, нет таких, которые были бы способны расщеплять длинные цепи из непосредственно связанных углеродных атомов на более короткие.

Далее, приходится также признать невероятной связь через кислород по типу эфиров $\equiv C - O - C \equiv$, как это склонны были пред-

гидролизе кирины дают обычные для белков основания и отчасти моноаминокислоты, так «кирин», полученный из казеина, оказался состоящим из 1 молекулы аргинина, 2-х мол. лизина и одной — глютаминовой кислоты. Siegfried считал кирины за некоторое «ядро» белковой молекулы, которое при осторожном действии кислоты удастся выделить, как бы путем отщепления покрывающих его наслоений (моноаминокислот). Но с современной точки зрения «кирины» являются очевидно такими же полипептидами, которые вообще получают при неполном гидролизе белка и многие из которых синтетически получены Фишером (см. ниже); они могут состоять из разнообразных комбинаций моноамино- и ди-аминокислот, и если в некоторых из них («киринах» Зигфрида) преобладают основания, то отсюда еще не следует, что именно таким полипептидам принадлежит роль ядра или центра белковой молекулы.

полагать некоторые авторы в 90-х годах (Nasse), основываясь на действии ферментов, так как следствием гидролитического расщепления при таком способе связи было бы образование большого количества спиртовых групп (ОН), а между тем эти группы в большинстве продуктов гидролиза отсутствуют (исключение представляют тирозин и серин). Кроме того, если бы допустить, что в образовании комплексов по этому типу завязаны карбоксильные группы, то более резко должен бы выступать основной характер молекулы, так как при образовании эфиров из аминокислот резко выступает способность групп NH_2 давать соли с кислотами.

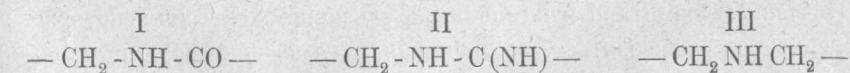
По этой же причине невероятно образование из аминокислот более сложных комплексов по типу ангидридов кислот.

С другой стороны, необходимо предположить, что группы NH_2 , столь обильно представленные в продуктах гидролиза, не остаются безучастными в процессе спайки аминокислот; за это говорит тот факт, что в то время как группы $-NH_2$ под влиянием азотистой кислоты распадаются с выделением свободного азота, при действии на белок азотистой кислоты выделяется лишь очень небольшая часть их азота; поэтому можно предположить, что в белках преобладают не амидные, а имидные группы $-NH-$, играющие видную роль при образовании из аминокислот более сложных комплексов.

Но опять-таки нельзя предположить, чтобы только одни амидные группы участвовали в образовании этой связи, так как тогда белок, вследствие преобладания свободных карбоксильных групп, проявлял бы свойства кислоты.

В виду же нейтрального характера белковой молекулы, более вероятными являются такие группировки, при которых завязаны как карбоксильные, так и амидные группы.

Для амидных групп прежде всего возможны следующие три способа участия при спайке аминокислот:



Возможность преобладания III типа исключается вышеуказанными соображениями относительно нейтрального характера белковой молекулы; тип II встречается лишь в виде исключения (именно, в аргинине мы имеем случай спайки двух неокисленных углеродных атомов через группу $-NH-$).

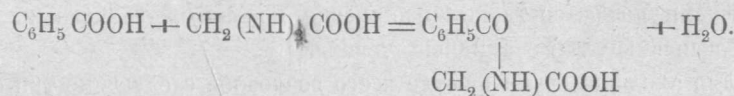
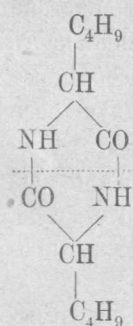
Но целый ряд данных говорит за преобладание соединения по типу I.

Так, наличие биуретовой реакции у белков говорит за близкое соседство карбоксильных и амидных (или имидных) групп в молекуле; исчезновение биуретовой реакции при гидролизе объясняется при этом разрывом спайки $—NH—CO—$, при чем образующаяся группа $—NH_2$ остается при одной частице, а $—COOH$ при другой.

Далее, спайка двух ядер через амидную и карбоксильную группу, с выделением воды, констатирована в некоторых случаях как для продуктов гидролиза, так и для продуктов регрессивного метаморфоза белковых веществ в организме животных.

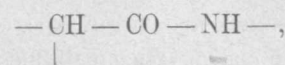
Так, наблюдалось, что при известных условиях удается получить из смеси продуктов гидролиза белков, так называемый *лейцинимид*, который является продуктом спайки двух частиц лейцина между собой как раз по указанному типу, т. е. через выделение воды (в данном случае — двух частиц) из амидных и карбоксильных групп.

Другой, еще более для нас интересный, пример представляет, так называемая *гипшуровая* кислота, являющаяся постоянной составной частью жидких выделений травоядных; она представляет соединения бензойной кислоты с гликолем (аминоуксусной кислотой), при чем эти две молекулы спаяны через выделение элементов воды из карбоксильной группы бензойной кислоты (ОН) и амидной группы гликоля (Н); продукт может быть назван поэтому бензоил-гликолем:

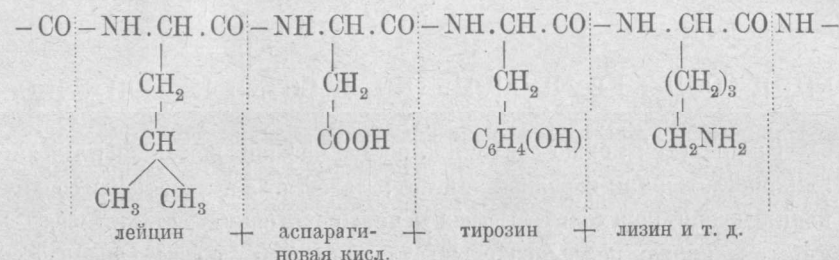


Гипшуровая кислота способна в свою очередь под влиянием нагревания с кислотами и щелочами, а также при действии некоторых ферментов расщепляться, воспринимая воду, на бензойную и аминоксусную кислоты.

На основании подобных соображений Hofmeister еще в 1901 году пришел к выводу, что наиболее вероятной для белковой молекулы является связь аминокислот через карбоксильные и амидные группы с выделением воды, при чем в месте спайки получается постоянно повторяющаяся трехчленная группировка



позволяющая представить себе нанизывание какого-угодно числа звеньев этой цепи из аминокислот, согласно такой схеме:

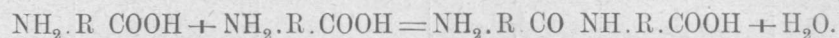


Подтверждение такому представлению о строении белковой молекулы могло бы быть дано путем обнаружения в промежуточных продуктах гидролиза как бы обрывков такой цепи, то есть нахождения при неполном гидролизе на ряду с аминокислотами их комплексов, более или менее сложных, в которых способ связи отдельных членов отвечал бы типу $—CO—NH—CH—CO—$. Для такого осторожного неполного расщепления, больше всего пригодно расщепление при помощи ферментов, которое дает, как известно, альбумозы и пептоны прежде, чем вызвать распад до аминокислот; искомые комплексы «обрывки цепи» должны бы стоять между пептонами и аминокислотами (или и самые пептоны должны быть такими обрывками большей или меньшей сложности). Но на пути изучения этих некристаллизующихся и неперегоняющихся продуктов встречается ряд препятствий, заключающийся главным образом в трудности их разделения; если путем применения реактивов, осаждающих те или иные фракции этих промежуточных продуктов, и удавалось разбить их на группы, то не могло быть уверенности, что таким путем можно выделить какой-либо определенный химический индивидуум, чтобы затем определить его строение, всегда оставалось место сомнению, что в осадок попадает смесь веществ, и дальнейший гидролиз такой смеси и изучение ее свойств не приведут к определенным результатам. Так как свойства искомым продуктов были ближе неизвестны, то трудно тогда было находить методы для их изолирования.

Дальнейший шаг на этом пути удалось сделать благодаря тому, что исследованию аналитическому пришли на помощь опыты искус-

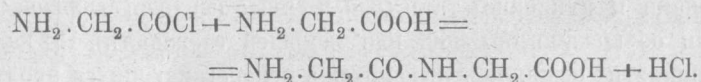
ственного синтеза подобных продуктов, с большой систематичностью проведенные главным образом Эмилем Фишером.

Э. Фишер показал, что аминокислоты действительно склонны вступать в соединения друг с другом, при чем карбоксильная группа одной частицы вступает в реакцию с аминной группой другой, выделяя воду:



Таким путем можно соединять по две частицы как одной и той же аминокислоты, так и разных кислот; далее, от двухчленного соединения можно переходить к трех и четырехчленному, от четырех — к пятичленному, последовательно удлиняя цепь, но все время сохраняя определенное представление о строении продукта. Весь этот класс соединений Фишер назвал *полипептидами*, аналогично полисахаридам, при чем можно различать дипептиды, три-, тетра-, пента-, гексапептиды, сообразно числу звеньев цепи. Таким образом, предвидение Гофмейстера подтвердилось.

Существует несколько методов приготовления полипептидов; укажем простейший из них — соединение хлорангидрида одной аминокислоты с частицей другой (или той же самой) аминокислоты, с отнятием соляной кислоты. Если взять гликоколь, то (схематично изображая лишь главные черты реакции) для него будем иметь:



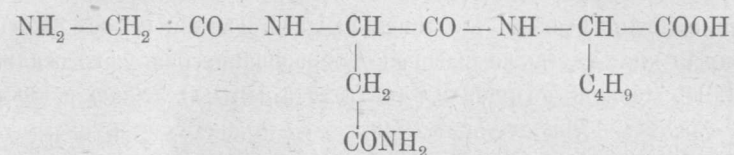
Это простейший дипептид, *глицил-глицин* (глицин — синонимное обозначение для гликоколя); также можно приготовить соединение гликоколя с лейцином (глицил-лейцин), лейцина с лейцином же (лейцил-лейцин), ввести тирозин, основания, цистин и пр.

В настоящее время приготовлено и изучено свыше 100 полипептидов; самый сложный из них содержит 19 компонентов (отдельных аминокислот) и имеет молекулярный вес 1326.

Приведем в качестве примеров характеристику свойств некоторых полипептидов¹⁾:

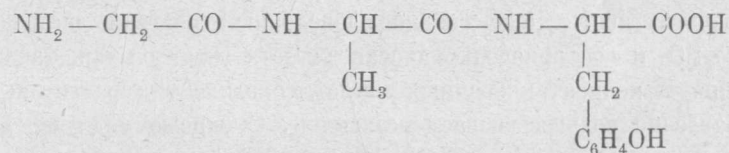
¹⁾ Здесь имеются каждый раз в виду определенные оптические изомеры, напр., глицил — l-аспарагинил — l-лейцин, глицил — d-аланил — l-тирозин, l-лейцин — триглицил — l-тирозин и т. д.

1. Один из трипептидов, *глицил — аспарагинил — лейцин*:



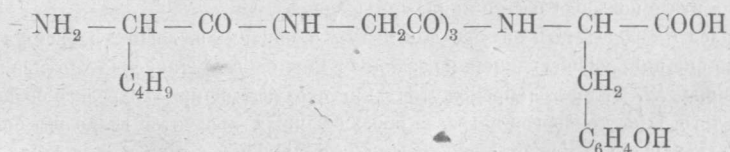
кристаллизуется из горячей воды в микроскопически-мелких иголочках, большей частью соединенных в бородавчатые агрегаты, в холодной воде трудно растворим, но присутствие щелочей и кислот делает его легко растворимым. В щелочном растворе дает с медными солями сине-фиолетовое окрашивание (биуретовая реакция).

2. Трипептид *глицил — аланил — тирозин*:



пока не получен в кристаллическом виде; аморфный порошок разлагается вспениваясь при нагревании до 208°; в воде довольно легко растворим, в спирте, эфире и хлороформе не растворяется. Дает окраску с Миллоновым реактивом и ясную биуретовую реакцию (красивый фиолетовокрасный тон); осаждается фосфорновольфрамовой кислотой, но сернокислый аммоний не вызывает ясного образования хлопьев.

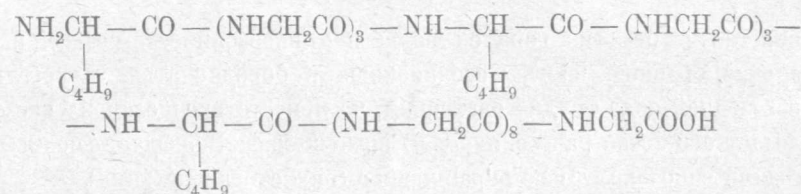
3. Пентапептид *лейцил — триглицил — тирозин*:



не кристаллический, легко растворим в воде, осаждается спиртом в аморфных хлопьях. При нагревании до 160° вещество вспенивается, выше 180° разлагается до конца; водный раствор имеет кислую реакцию, на вкус горек. Биуретовая реакция и окрашивание с Миллоновым реактивом резко выражены. Из водного раствора этот

пентапептид выпадает при введении насыщенного раствора сернокислого аммония; при подкислении азотной или уксусной кислотой выпадение можно вызвать насыщением NaCl. Танин и фосфоровольфрамовая кислота также вызывают образование большого осадка.

4. 18-членный полипептид (окта-дека-пептид) лейцил — тримицил — лейцил — тримицил — лейцил — октамицил — глицин:



растворяется в кипящей воде в отношении 1 : 100, при охлаждении раствор мутнеет. Даже сильно разведенный раствор дает пену. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и фосфоровольфрамовая кислота дают осадки, также и танин. В концентрированных кислотах полипептид растворяется, прибавление воды вызывает осаждение. С окисью меди не дает ясно окрашенного соединения. Молекулярный вес этого полипептида — 1213¹⁾.

1) Упомянем вкратце о других попытках синтезировать вещества подобные пептонам (или даже белкам), которые предшествовали по времени работам Фишера, но не отличались достаточной определенностью.

Grimaux, нагревая хлористоводородное соединение аспарагиновой кислоты до 200° в бескислородной атмосфере, приготовил полимерный ангидрид этой кислоты $\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{N}_8\text{O}_{17}$, дающий биуретовую реакцию. При нагревании этого тела с мочевиной до 125—130° получено было вещество с коллоидальными свойствами, осаждаемое из раствора кислотами и солями тяжелых металлов; но химическая природа этого коллоида ближе не была выяснена.

Далее *Шютценбергер* получал так назыв. «лейцеины», действуя бромистым этиленом на цинковые соединения различных аминокислот (такие же «лейцеины» по мнению *III*. являются промежуточными продуктами при гидролизе белков). Кроме того, *Шютценбергер* нагревал смесь обычных продуктов гидролиза белка с 10% мочевины в присутствии фосфорного ангидрида, при чем получал вещество со свойствами пептона, способное давать реакции биуретовую и ксантопротеиновую и осаждающееся реактивами на алкалоиды; но опять строение этого «псевдопептона» осталось ближе не исследованным.

Лилиенфельд пытался синтетически приготовить пептон, исходя из так наз. «биуретового основания», описанного *Curtius*'ом; это основание получается при нагревании этилового эфира гликоля с KHSO_4 ; оно при отнятии воды способно давать коллоидальный продукт уплотнения, с водой набухающий на подобие клея,

5. Позднее, *Abderhalden* получил 19-ти членный пептид, содержащий группу лейцина 4 раза и гликоля — 15 раз; молекулярный вес — 1326; этот пептид является наиболее многочисленным из синтезированных до сих пор пептидов, но так как на предыдущих примерах общие свойства этих продуктов уже достаточно выяснились, то здесь мы на них ближе останавливаться не будем.

Синтезированные Фишером и Абдергальденом полипептиды во многих отношениях обнаружили сходство с теми промежуточными продуктами, которые получаются в первых стадиях гидролиза белков.

Так, большая часть полипептидов дает биуретовую реакцию; не дают ее лишь некоторые простейшие пептиды, как диглицил-глицин и триглицил-глицин, но тетраглицил-глицин уже дает ее (не следует думать, что, вообще, реакция эта проявляется только начиная с тетрапептидов, она свойственна и многим трипептидам, как видно из вышеприведенного описания глицил — аспарагинил — лейцина). Для высших пептидов получается биуретовая реакция с красноватыми тонами, подобная тому, какую дают пептоны.

Реакцию с Миллоновым реактивом дают те полипептиды, в состав которых входит тирозин; вхождение триптофана влечет за собой появление реакции Адамкевича.

дающий биуретовую реакцию и растворяющийся при действии пепсина. Путем конденсации из того же основания и этиловых эфиров лейцина, тирозина и др. аминокислот, *Лилиенфельд* получил более сложные продукты, а эти последние при действии формальдегида давали тела сходные по свойствам с настоящими белками (реакции окрашивания, осаждения, способность высаливаться).

Как видим, во всех этих попытках синтеза пептонов или белков не выполнялось одного условия, соблюденного в работах Фишера — методической постепенности работы, при которой известны результаты каждого промежуточного шага и потому известно строение конечного продукта.

Из позднейших опытов синтеза упомянем о работе *Taylor*'а (1907), указывающей на возможность под влиянием ферментов обратного синтеза протаминов на счет продуктов их гидролиза (автор исходил из соединения протаминна с серной кислотой, подвергал его гидролизу с помощью трипсина, затем, удаляя серную кислоту, значительно сгущал раствор и снова вводил фермент; при стоянии в присутствии толуола получился продукт синтеза, способный осаждаться спиртом в растворе подкисленном серной кислотой; анализ этого продукта дал цифры тождественные с составом исходного материала). К этому же типу относится описанный *Robertson*'ом синтез одного из промежуточных продуктов гидролиза казеина — так называемого «парануклеина» (см. *Robertson*, Die enzymatische Synthese von Proteinen в его книге «Die physikalische Chemie der Proteine», 1912).

Однако, такие реакции, как и другие, зависящие от наличия какого-либо одного компонента, не могут служить для установления сходства между продуктами синтеза и промежуточными членами распада белковой молекулы, образующими группу альбумоз и пептонов. Более подходящими для этой цели являются показания реактивов, вызывающих выпадение изучаемых веществ из раствора.

Известно, что насыщенный раствор сернокислого аммония вызывает выпадение из раствора не только белков, но и так наз. альбумоз, считающихся первой ступенью начинающегося гидролиза белка; пептоны же уже не осаждаются при этих условиях, почему и считаются обычно больше отличающимися от первоначального белка и стоящими как бы между альбумозами и простейшими (кристаллическими) продуктами распада белковой молекулы.

Как видно из приведенных описаний свойств некоторых полипептидов, многие из них осаждаются из растворов сернокислым аммонием, т. е. проявляют свойства, раньше считавшиеся характерными только для альбумоз; при этом обнаружилось, что способность осаждаться под влиянием насыщения раствора сернокислым аммонием вовсе не есть признак особой сложности молекулы и очень высокого молекулярного веса, так как есть уже тетрапептиды, обладающие этим свойством, так же как и обратно, многие более сложные пептиды им не обладают; скорее намечается связь с наличием известных аминокислот в молекуле полипептида¹⁾, чем с его молекулярным весом (отсюда вытекает необходимость пересмотра прежних представлений об альбумозах и пептонах; Э. Фишер предлагает вовсе не употреблять термина «альбумоза» и говорить пока лишь о пептонах, различая среди них осаждаемые и неосаждаемые $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$).

Кроме насыщенных соляных растворов многие полипептиды осаждаются фосфорновольфрамовой кислотой и танином, так же как и пептоны; часто при синтезе полипептидов из аминокислот, обладающих сладковатым вкусом, они проявляют горький вкус, обычно присущий пептонам.

Еще более определенные указания были получены Фишером и Абдергальденом при изучении действия на полипептиды ферментов, расщепляющих белки; оказалось, что сок поджелудочной железы

¹⁾ Повидимому, имеет значение присутствие тирозина (при том в известном положении); также цистин и триптофан играют известную роль в придании полипептидам характера «альбумоз».

расщепляет некоторые определенные полипептиды так же, как и белки, на их компоненты, т. е. на отдельные аминокислоты, так, глицил—l-тирозин дает под влиянием трипсина гликоколь и l-тирозин. Так как действие ферментов вообще является специфичным, то это обстоятельство явилось сильным аргументом за то, что и в белках аминокислоты являются спаянными между собой по типу полипептидов, с помощью той же группировки — NH — CO — CH —.

Известно то явление, что при наличии двух оптических изомеров, фермент расщепляет один из них, оставляя нетронутым другой; точно также и полипептиды, приготовленные из недействительных аминокислот и представляющие поэтому смесь оптических изомеров, расщепляются трипсином, но лишь наполовину, а другая половина остается нетронутой; так как при этом получаются только те стереоизомеры аминокислот, которые получаются и при гидролизе белка, то возможно заключить, что трипсин действует лишь на такие полипептиды, которые построены из действительных аминокислот, входящих в состав белка, но не действуют на синтетические полипептиды, построенные из других стереоизомеров тех же аминокислот¹⁾.

Действием пепсина полипептиды вовсе не расщепляются.

Еще одно косвенное доказательство того, что известные полипептиды отвечают промежуточным продуктам распада белка было дано наблюдением, что введенные в организм животного полипептиды, подлежат тому же ряду превращений, как и белки, в конце концов азот их выделяется в виде таких обычных составных частей жидких выделений, как мочевина и ее заместители (Abderhalden).

Ко всем приведенным косвенным доказательствам последующими работами Фишера и Абдергальдена прибавлено и конечное прямое доказательство того, что известные полипептиды являются промежуточными продуктами при гидролизе белков, предшествующими

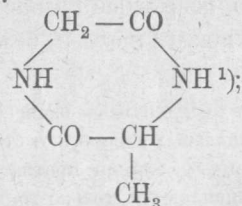
¹⁾ Отношение трипсина к полипептидам зависит как от рода компонентов, так и от рода расположения отдельных членов, и от стереоизомерии; так аланил—глицин расщепляется, а глицил—аланин противостоит действию фермента; из оптических изомеров расщепляются только те, в построении которых участвуют встречающиеся в природе изомеры аминокислот, например:

расщепляются:	не расщепляются:
d-аланил—d-аланин	d-аланил—l-аланин
	l-аланил—d-аланин
l-лейцил—l-лейцин	l-лейцил—d-лейцин
	d-лейцил—l-лейцин

аминокислотам — именно, удалось выделить из продуктов неполного распада белка некоторые полипептиды, тождественные с определенными, синтетически полученными полипептидами.

Остановимся в качестве примера на одном способе выделения дипептидов, основанном на склонности их эфиров давать ангидриды. Для этой цели подлежащий разложению белок не кипятят с кислотой, но лишь оставляют стоять с ней при комнатной температуре или самое большее при 37°C ; берут или крепкую соляную кислоту (1,19) или 70% серную. Время действия выбирают различное, смотря по роду взятого белка; оптимальный срок устанавливается предварительными опытами (напр., для фибрина шелка он равняется пяти дням). По истечении необходимого срока удаляют кислоту (серную — баритом, соляную — закисью меди), затем делают смесь продуктов введением фосфорновольфрамовой кислоты на две части (осадок и фильтрат), исследуемые отдельно; осадок содержит при этом более сложные продукты, фильтрат же — преимущественно простейшие. Далее разлагают осадок баритом и применяют тот же Фишеровский метод перевода продуктов гидролиза в сложные эфиры, как он был описан выше, в случае полного гидролиза, т. е. пропуская при охлаждении газообразный хлороводород в спиртовый раствор их. Так получают хлоргидраты эфиров, затем освобождают эфиры алкоголем натрия и подвергают их перегонке на водяной бане; эфиры аминокислот перегоняются, эфиры дипептидов остаются. При стоянии из спиртового раствора выделяются вскоре частью кристаллические, частью аморфные вещества — это ангидриды дипептидов (эфиры дипептидов легко дают их ангидриды).

Так получен был, напр., при частичном гидролизе шелка ангидрид глицил — аланина:



он обнаружил все свойства синтетически полученного ангидрида глицил — d-аланина.

¹⁾ Этого рода ангидриды с замкнутым кольцом носят название дикетопиперазинов; отчасти они образуются и при обычном гидролизе с помощью кислот, как выше упомянутый лейцин-имид.

Таким и подобными методами изолирован ряд других полипептидов; так из глинаина получена l-лейцил — d-глутаминовая кислота, которую удалось изолировать благодаря наблюдению, что соответственная синтетическая кислота осаждается AgNO_3 из нейтрального раствора.

При гидролизе фибрина шелка получен тетрапептид, состоящий из двух частиц гликоля, одной аланина и одной — тирозина; это было установлено путем полного гидролиза, путем определения молекулярного веса и путем сличения с свойствами соответственных синтетических тетрапептидов¹⁾.

Этот тетрапептид, дающий биуретовую реакцию и окраску с Миллоновым реактивом, осаждается из водного раствора густыми хлопьями при прилитии насыщенного раствора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Таким образом теперь можно считать окончательно установленным, что в белковой молекуле аминокислоты связаны между собой по типу $\text{R} - \text{CO} - \text{NH} - \text{R}$ (амидная связь), так же как и в синтетически полученных полипептидах.

Но, однако, из этого еще не следует, что есть единственный способ связи, существующий в белковой молекуле — пока это только единственный, определенно установленный. В то же время многое говорит за то, что существуют и другие способы соединения; так, например, уже тот факт, что пепсин не расщепляет полипептидов и не отщепляет отдельных аминокислот от белковой молекулы, но разбивает белковую молекулу на крупные комплексы, говорит за то, что есть какой то способ связи не амидокислотного типа, на который и направляется действие пепсина. Возможно, что дополнительная связь устанавливается через оксикислоты (серин, тирозин), водные остатки которых могут служить для связывания с карбоксильными группами по типу эфиров; однако, оксикислот немного среди компонентов белка, а действие пепсина дробит белковую молекулу все же настолько сильно, что, повидимому, это предположение недостаточно для объяснения действия пепсина (помимо того, что оно еще нуждается вообще в экспериментальной проверке).

Дальнейшая работа, по синтезу полипептидов (не случайных, а таких, которые встречаются в природных белках) и выяснению структуры белковой молекулы, встретила огромное препятствие

¹⁾ Еще не вполне установлено, какой именно из нескольких изомеров тетрапептида получается в этом случае.

в многообразии возможных комбинаций и почти бесконечном числе изомеров для белковой молекулы, даже если бы не предполагать неизвестных нам еще способов связи внутри ее¹⁾.

Число изомеров для полипептидов растет, как произведение ряда чисел от единицы до числа, выражающего степень сложности полипептида; так для тетрапептида число изомеров будет: $1 \times 2 \times 3 \times 4 = 24$, для пентапептида — 120, для гексапептида — 720! И если ставить задачей предварительное приготовление синтетически всех этих изомеров, чтобы потом в смеси продуктов неполного гидролиза белка уловить знакомый уже изомер, то ясно, что в этой постановке задача становится невозможной; уже непомерно велик труд по синтезу возможных изомеров какого-либо сложного полипептида. Молекула же белка много сложнее всех известных полипептидов, так как в нее входит, вероятно, не менее сорока молекул отдельных амино-

¹⁾ Чтобы дать некоторое понятие о сложности такой работы, остановимся несколько на том тетрапептиде, который дает при гидролизе две частицы гликоля (не проявляющего стереоизомерии), одну частицу d-аланина (аминопропионовой кислоты) и одну частицу l-тирозина и которого молекулярный вес определен и отвечает названному составу. Несмотря на то, что исключена возможность стереоизомерии (благодаря тому, что известно, какие именно стереоизомеры являются компонентами), мыслимо 12 структурных изомеров для нашего тетрапептида, в зависимости от порядка, в каком размещаются отдельные члены цепи (для четырехчлена типа a. b. c. d число перестановок равняется $1.2.3.4 = 24$, но так как гликоль здесь входит дважды, то мы имеем дело с типом a. a. b. c, поэтому число комбинаций сокращается до 12). Благодаря тому, что при неполном гидролизе изучаемого тетрапептида получены как промежуточные члены дипептиды глицил — d-аланин и глицил — l-тирозин, часть возможных изомеров отпадает; так, напр., отпадает возможность комбинации d-аланил — l-тирозин — глицил — глицин, так как такая комбинация не могла бы дать при частичном гидролизе названных дипептидов; тем не менее остаются следующие восемь возможных комбинаций:

1. Глицил — аланил — глицил — тирозин. 2. Глицил — тирозил — глицил — аланин. 3. Глицил — тирозил — аланил — глицин. 4. Глицил — аланил — тирозил — глицин. 5. Аланил — глицил — тирозил — глицин. 6. Аланил — глицил — глицил — тирозин. 7. Тирозил — глицил — аланил — глицин. 8. Тирозил — глицил — глицил — аланин.

Чтобы решить, какой именно из этих изомеров получается при частичном гидролизе шелка, предстоит приготовить синтетически эти восемь изомеров и изучивши их свойства, сравнить с данным тетрапептидом.

Если таково разнообразие для тетрапептидов, то нетрудно представить, как возрастает число возможных изомеров для следующих членов этого ряда.

кислот¹⁾ (считая и повторное вхождение той же самой аминокислоты); рост числа теоретически возможных изомеров виден из следующей таблицы:

Число различных аминокислот в полипептиде.	Число возможных изомеров ²⁾ соответствующего полипептида.
7	5040
8	40320
9	362880
10	3628800
11	39916800
12	479001600
13	6227020800
14	87178291200
15	1307674368000
16	20922789888000
17	355687428096000
18	6402373705728000
19	121645100408832000
20	2432902008176640000

Если к этому прибавить вероятность участия других способов связи, кроме амидной, как связь по типу эфиров или таутомерной $C - CO - NH -$ группировкой $- C(OH) = N -$, если принять во внимание, что дикарбоновые кислоты и диамино-кислоты вносят в свою очередь возможность разнообразия, смотря по тому оба карбоксила (или обе группы NH_2) завязаны, или лишь одна из этих групп, то сложность построения еще более возрастет.

Эмиль Фишер сделал подсчет, по которому число возможных изомеров для белка может достигать $1,28 \cdot 10^{27}$ (т. е. более тысячи квадриллионов).

Очевидно, нужно ждать отыскания новых путеводных нитей, чтобы ориентироваться в этом дремучем лесу всевозможных изомеров; в дальнейшем, вероятно, отпадут целые крупные отделы, как не отвечающие природным белкам, и явится возможность сосре-

¹⁾ Если принимать молекулярный вес белка в 5000; а если он равен 15000, то число компонентов вдвое больше.

²⁾ Здесь принята во внимание только изомерия, зависящая от перестановок в порядке следования аминокислот.

доточить исследование на известной избранной области, не гонясь за синтезом почти безграничного количества очень сложных веществ.

Точно также на другом пути, пути изучения продуктов неполного гидролиза белка лежат пока трудно преодолимые препятствия; чуть гидролиз прошел дальше желаемого, накопление аминокислот мешает выделению более сложных предварительных ступеней; или гидролиз еще мало продвинулся, звенья молекул слишком велики, чтобы в них можно было бы разобраться. Но если удастся ощупью остановить гидролиз на должном пункте, этим достигнуто еще немного; ибо если даже взять хорошо известные нам пептиды, полученные синтетически, и смешать их вместе, то получается уже почти неразделимая смесь (Abderhalden).

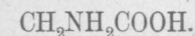
«Пептоны, получаемые из белков при постепенном их расщеплении, представляют без сомнения совершенно необозримую смесь всех возможных ступеней распада; тут могут быть смешаны тысячи отдельных соединений. И если даже разделение отдельных аминокислот почти невозможно без превращения их в эфиры, то можно представить, какие трудности предстоит преодолеть, чтобы хоть несколько разгадать, что представляет из себя пептонная смесь. Является вопросом, удастся ли в предвидимый срок вообще так далеко продвинуться, чтобы сполна разложить смесь, обозначаемую пептоном, на ее составные части».

«Кажется едва ли возможным, чтобы когда-нибудь удалось синтетически построить определенный белок со всеми его компонентами; но вполне возможно, что синтез приведет к продукту, который соединяет в себе все свойства белка. На такой «модели» можно бы изучать ход распада и отношение ко всевозможным воздействиям, чтобы приобретенный опыт потом перенести на белок. Об отождествлении же с определенным белком теперь невозможно думать, хотя бы уже по тому одному, что мы ни для одного белка не обладаем окончательным доказательством его химической однородности. Возможно, что все протеины представляют смесь белков, а возможно, что в них молекулы разных белков соединены друг с другом прочной связью»¹⁾.

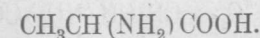
¹⁾ Abderhalden. Physiologische Chemie. 1920, II, 401.

Отдельные продукты гидролиза.

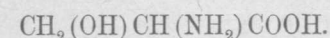
C₂: 1) Аминоуксусная кислота (гликоколь)



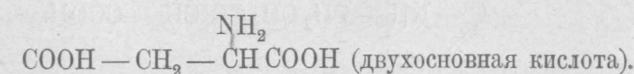
C₃: 2) Аминопропионовая кислота (аланин)



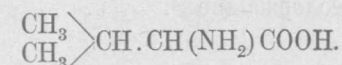
3) Оксипропионовая кислота (серин)



C₄: 4) Аспарагиновая (аминоянтарная кислота)



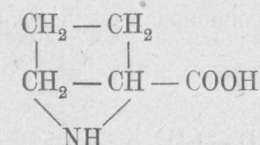
C₅: 5) Аминовалериановая (изоаминовая)



6) и 7) Глютаминовая кислота

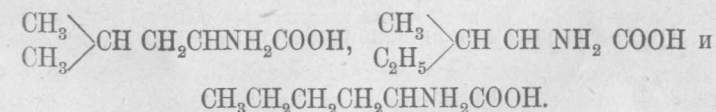


8) и 9) Пирролидин-карбоновая кислота (и соответственная оксикислота)



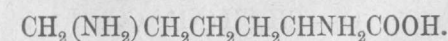
C₆: а) Моноаминокислоты (одна группа NH₂).

10), 11) и 12) Аминокапроновая кислота (лейцин, изолейцин и нормальный лейцин):

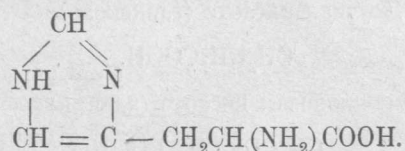


б) Диаминокислоты и другие соединения с несколькими группами NH₂:

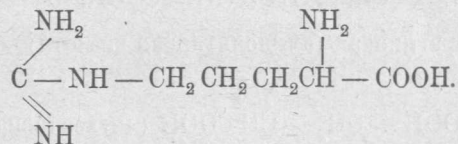
13) Диаминокапроновая (лизин)



14) Имидазол-аминопропионовая (гистидин).

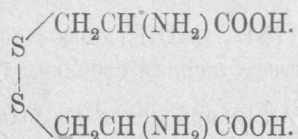


15) Гуанидинаминовалерьяновая (аргинин)

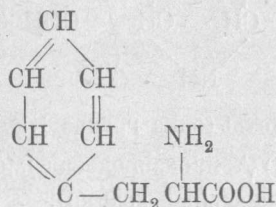


с) Аминокислоты, содержащие S:

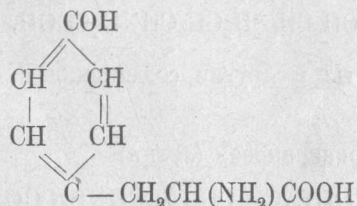
16) Цистин (диаминодитиолактиловая)



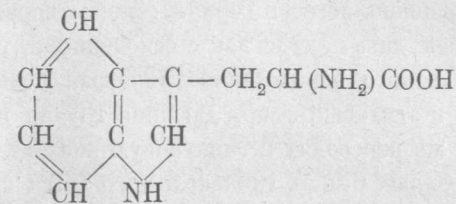
C₉: 17) Фениламинопропионовая (фенилаланин)



18) Оксифениламинопропионовая (тирозин)



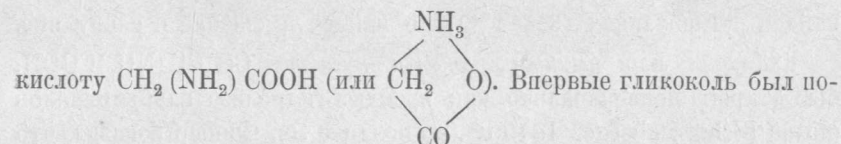
C₁₁: 19) и 20) Индоламинопропионовая (триптофан)



и соответственная оксикислота¹⁾.

Одноосновные моноаминокислоты жирного ряда.

Гликоколь (глицин) представляет простейшую из аминокислот, найденных среди продуктов гидролиза белков, именно *аминоуксусную*



лучен Braconnot в 1820 году при разложении кислотой клея, но лишь в 1848 году он был признан за *аминоуксусную* кислоту (Laurent); около того же времени гликоколь был получен из гипсуровой кислоты, являющейся обычным продуктом обмена веществ у травоядных; синтетически получается действием аммиака на монохлоруксусную кислоту, названием своим гликоколь обязан сладковатому вкусу. Гликоколь хорошо кристаллизуется, не вращает плоскости поляризации (отсутствует асимметрический атом C, в отличие от дру-

¹⁾ Были указания еще на получение кислоты состава C₁₂H₂₆N₂O₅ (диаминотриоксидодекановая), но дальнейшего подтверждения относительно ее не последовало. Кроме того, в нашем перечне не упомянуто об аммиаке, меланинах, глюкозамине и еще некоторых веществах; что касается аммиака, то он появляется при гидролизе всякого белка, как продукт распада амидных групп (в аспарагине и глутамине), но самостоятельного значения не имеет. Меланины (гуминоподобные вещества) являются вторичными продуктами; Molliard показал, что они образуются, если на водяной бане нагревать аминокислоты с глюкозой и другими телами, содержащими альдегидную группу; вероятно какая-либо аналогичная реакция приводит к меланинам и при гидролизе белка. Что касается глюкозамина, то он появляется при гидролизе лишь некоторых белков (муцинов) и о нем будет сказано ниже, в главе о вхождении углеводной группы в молекулу белка.

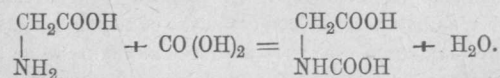
гих аминокислот), растворим довольно хорошо уже в холодной воде (1:4) и совершенно легко в горячей; нерастворим в абс. спирту и эфире; способен давать соли как с основаниями, так и с кислотами. Для количественного определения гликоколя пользуются или переводением его в этиловый эфир, дающий трудно растворимый хлоргидрат¹⁾ или же переводят в гиппуровую кислоту²⁾.

В растительных белках гликоколь находится в небольших количествах, а иногда совершенно отсутствует; так в эдестине из конопли найдено было 3,8%, в легумине 1%; в глинах пшеницы — 0,9, ржи — 0,13%, вовсе не найдено в «зеине» и «гордеине» (растворимый в водном спирту белок из Zea и Hordeum). Особенно много гликоколя в альбуминоидах животного царства; так, клей дает 16%, эластин — 25%, фиброин шелка — 36%; но в веществе рога гликоколя мало; из настоящих белков животного происхождения он найден в глобулинах (3 — 4%), не найден в казеине и альбумине.

d-Аланин или *аминопропионовая кислота* $\text{CH}_3\text{CH}^*(\text{NH}_2)\text{COOH}$, был открыт первоначально как продукт гидролиза альбуминоидов шелка (Schützenberger 1875 г.), но позднее Эм. Фишер показал, что он является общераспространенным и как компонент частицы настоящих белков, но благодаря своей растворимости при небольших количествах легко может быть не замечен. Из чистого водного раствора при медленном выпаривании можно получить крупные кристаллы, при других условиях получаются мелкие иголки. Синтетически получается или действием NH_3 на галогидные производные

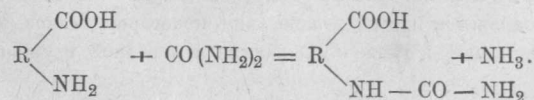
1) Поэтому при разделении аминокислот по способу Э. Фишера удается выделить большую часть гликоколя до разложения хлоргидратов.

2) Интересна способность гликоколя (и других аминокислот) присоединять углекислоту при пропускании ее в охлажденный раствор и давать соответственные карбаминовые кислоты:



Если вместо гликоколя взять дикарбоновую кислоту, то получается кислота с тремя карбоксильными группами (например, из аспарагиновой — карбамино-антарная).

С другой стороны гликоколь (и аминокислоты вообще) способны реагировать с мочевиной, давая ураминокислоты по уравнению:

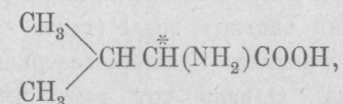


пропионовой кислоты или при взаимодействии HCN с альдегид-аммиаком и последующем омылении нитрида. От гликоколя аланин отличается вращением плоскости поляризации (наличие асимметрического углерода), более высокой точкой плавления (разложения) — 297° , также растворимостью пикрата, иными свойствами медного и других производных. Аланин может быть также рассматриваем как производное молочной кислоты $\text{CH}_3\text{CHON} \text{COOH}$, которая из него образуется при дезаминировании ($\text{CH}_3\text{CHNH}_2\text{COOH} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{CHONCOOH} + \text{NH}_3$).

В растительных белках аланин найден в количестве от $\frac{1}{2}\%$ до 4% ; тоже относится к большинству животных белков, но в яичном альбумине его содержится до 8% , а в фиброине шелка — $21,0\%$.

О замещенных аланинах и об оксипропионовой кислоте (серионе) см. ниже.

Аминовалерьяновая кислота (сокращенно — валин), входящая в состав белков, есть α -амино-изовалерьяновая кислота:



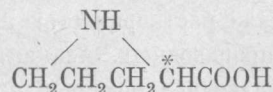
была открыта Горуп-Безанецом в 1856 году, а как продукт превращения белков найдена Э. Шульце в прорастающих семенах люпина в 1883 году; синтетически получена из α -бром изовалерьяновой кислоты¹⁾ ($+ \text{NH}_3$), а также из соответственного альдегид-аммиака ($+ \text{HCN}$). Благодаря близости по свойствам к лейцину и склонности давать с ним смешанные кристаллы, аминовалерьяновая кислота в присутствии лейцина, преобладающего по количеству, не легко обнаруживается. Она кристаллизуется в блестящих микроскопических листочках, не так легко растворима в воде, как аланин; при нагревании возгоняется, разлагаясь и образуя ангидрид, в запаянной трубке плавится при 315° . Медная соль довольно трудно растворима в воде; ее анализом часто пользуются для суждения об однородности препарата, тем более, что одно уже определение меди (прокаливанием) дает известные указания.

Большинство белков содержит немного аминовалерьяновой кислоты, от доли $\%$ до 1, реже 2% ; но в некоторых альбуминоидах

1) Нормальная валерьяновая кислота $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ участвует в образовании аргинина (см. ниже).

(кератинах) количество ее может подыматься до 4—5% (для белка льняных семян есть указание на выход в 12,7%).

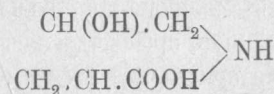
Пролин $C_5H_9O_2N$ или пирролидин — карбоновая кислота



открыта Фишером в 1901 г. при гидролизе казеина (известен также оксипролин); обычно белки дают 2—5% пролина, богаче других глиадин (из ржи), дающий около 10% и гордеин (13,7%). Но глиадин пшеницы содержит всего 2,4%, глютеин 4,2%.

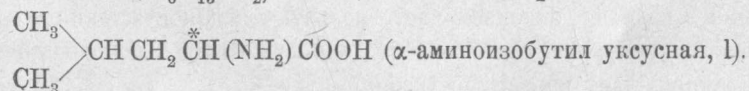
В виду близости пролина к аминовалерьяновой и глютаминовой кислоте является вопрос, не образуются ли пролин и оксипролин вторично под влиянием кислот (и щелочей) на первичные продукты гидролиза белка; по крайней мере известно, что оксиаминовалерьяновая кислота при нагревании с крепкой HCl отчасти переходит в пролин, выделяя частицу воды (также можно представить ее образование из орнитина — диаминовалерьяновой кислоты, с выделением аммиака). Однако тот факт, что пролин появляется в большем или меньшем количестве при всяком гидролизе белка (действуют ли кислоты, $\text{Ba}(\text{OH})_2$ или энзимы) заставляет считать его первоначальным компонентом белковой молекулы (кроме того, не доказано, чтобы нормальная валерьяновая кислота, как таковая, входила в число продуктов гидролиза белка).

Оксипролин



получен Э. Фишером при гидролизе клея и казеина.

Лейцин, $C_6H_{13}NO_2$, есть одна из аминокaproновых кислот, строения



Это один из давно известных и постоянных обильно представленных продуктов распада белков¹⁾, описанный еще Proust'ом (1818) и Braconnot (1820); в растениях (виковых ростках) первый его

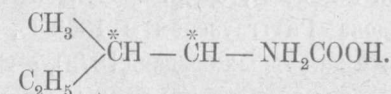
¹⁾ Только протамины представляют исключение.

нашел Gouap-Besanez (1874); строение его было позднее установлено Э. Шульце и Ликерником (1893). Синтетически лейцин (d, l) получается из изовалерьянового альдегида (действие NH_3 , HCN и последующее омыление).

Лейцин трудно растворим в холодной воде, плохо ею смачивается, но горячая вода легко его растворяет; из нее можно его получать в белых блестящих кристаллах (собранных часто в шарообразные сростки); удобно также его перекристаллизовать из спиртово-аммиачного раствора (но в чистом спирту лейцин нерастворим). При нагревании до 297° лейцин возгоняется, давая белый налет в более холодных частях пробирки, при этом слышен запах амиламина, благодаря начинающемуся разложению. В водном растворе лейцин вращает влево. Его медная соль, трудно растворимая в воде, отличается светло-синей, беловатой окраской.

Количество лейцина в белках часто бывает выше, чем какой-либо другой аминокислоты; так, в эдестине из семян конопли найдено 20,9%, из хлопчатника — 15,5%, из подсолнечника — 12,9% (для тыквы всего 4,7%); в глиадине 6%, в легумине — 8, в зеине — 18%; меньше лейцина содержится в таких альбуминоидах, как фиброн шелка (1,5%) и клей (2,1%); но эластин и кератин (из рога) содержат 15—20%.

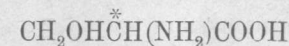
На ряду с лейцином в небольших количествах встречается изолейцин, метил-этил-аминопропионовая кислота:



В последнее время Абдергальденом открыт третий изомер аминокaproновой кислоты, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$, нормальный лейцин; он выделен из белков нервной ткани.

Одноосновные моноамино-оксикислоты.

— Серин $C_3H_7NO_3$ или аминоксипропионовая кислота



открыта была в 1865 г. в продуктах гидролиза шелка; лишь позднее Э. Фишер показал, что она является обычным членом среди

продуктов гидролиза и других белков, хотя количественно и не сильно представленным. Синтетически серин может быть получен из гликолевого альдегида действием NH_3 и HCN .

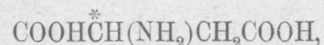
Серин растворим довольно хорошо в воде, кристаллизуется в тонких листочках (монокл.), имеет слабо сладкий вкус; вращает плоскость поляризации влево в водном растворе (вправо в солянокислом).

Серин стоит в родстве с молочной кислотой, и с некоторыми продуктами распада белка, содержащими серу (с цистеином или аминотиомолочной кислотой, который можно назвать также тиосерином).

Обыкновенно в частице белка содержится немного серина, в легумине 0,53%, глывине 0,13%; но в зерне — 1,02%, в серицине (вещество склеивающее волокна шелка) — 5,8%. (Поэтому серин обычно получают из шелка, подвергая последний действию соляной кислоты).

Двухосновные моноаминокислоты.

Аспарагиновая кислота $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$ или аминоянтарная



вообще известная с 1827 г., среди продуктов гидролиза растительных белков найдена Риттгаузенем в 1869 г., Hlasiwetz и Habermann нашли ее и в животных белках (1873), а E. Schulze обнаружил в проростках различных растений; теперь же, после работ Э. Фишера, известно, что аспарагиновая кислота является обычной составной частью настоящих белков.

Аспарагиновая кислота не особенно легко растворяется в воде, она имеет кислый вкус и вообще у ней ясно выражены кислые свойства; при нагревании до 270° разлагается.

При действии азотистой кислоты аспарагиновая переходит в яблочную, при обработке иодистым метилом и едким кали — в фумаровую, а последняя может через присоединение аммиака переходить обратно в аспарагиновую.

При гидролизе эдестина (из конопли) получается 4,5% аспарагиновой кислоты, конглютина — 3,0%, глывина — 1,24%; альбумин яйца дает 1,5%, казеин 1,2%, оксигемоглобин — 4,4%, клей — 0,56%.

В растениях аспарагиновая кислота встречается преимущественно в виде своего амида, *аспарагина* $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$, который представляет из себя амид аминокислоты, именно моноамид аминоянтарной кислоты (1): $\text{CO}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\overset{*}{\text{CH}}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$. Он был получен впервые Vauquelin'ом и Robiquet в 1805 году ¹⁾ из ростков спаржи (*Asparagus* — откуда его название), а затем оказался наиболее распространенным продуктом превращения белковых веществ в растениях. Pasteur и затем Boussingault наблюдали обильное образование аспарагина в затененных проростках, при чем у Буссенго прорастание шло в песке, без доставления азота извне, следовательно нужно было заключить, что аспарагин образуется на счет белковых веществ. Шульце показал (1875), что в ростках люпина на аспарагин может приходиться до 20% от сухого вещества и больше половины от всего количества продуктов распада белка.

Тот факт, что в проростках образуется гораздо больше аспарагина, чем содержится аспарагиновой кислоты в белке, объясняется вторичным синтезом аспарагина из аммиака и яблочной кислоты, образующейся при окислении углеводов; физиологический смысл образования аспарагина (как и мочевины у животных) состоит в обезвреживании аммиака, который образуется при окислении аминокислот в процессе дыхания.

Аспарагин хорошо кристаллизуется в прозрачных ромбических призмах, с 12% кристаллизационной воды; в воде довольно хорошо растворим, но нерастворим в спирту; введение спирта в водный раствор способствует выделению аспарагина (один из приемов обнаружения аспарагина под микроскопом). Как вообще аминокислоты, аспарагин способен давать соли как с кислотами, так и с основаниями; часто пользуются хорошо кристаллизующимся соединением с медью, получаемым при нагревании раствора аспарагина с $\text{Cu}(\text{OH})_2$. С фосфорновольфрамовой кислотой аспарагин не дает осадка непосредственно, но если нагреть в кислом растворе, то осадок получится вследствие отщепления аммиака из нестойкой группы — CONH_2 , это отщепление происходит при нагревании как со щелочами, так и с кислотами, при чем аспарагин переходит в аспарагиновую кислоту $\text{COOH}-\text{CH}_2-\overset{*}{\text{CH}}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$. Другая группа NH_2 , находящаяся при неокисленном углероде, отличается значительной стойкостью по отношению к кислотам и щелочам, но поддается дей-

¹⁾ Первые указания сделал Delaville (1802).

ствию азотистой кислоты (на этом основан метод определения азота аминокислот, в отличие от азота амидов).

Для получения аспарагина из растений или просто сгущают водную вытяжку, удаливши из нее белки и сделавши реакцию нейтральной (во избежание разложения аспарагина); если аспарагина не так много, то пользуются, согласно указанию E. Schulze, методом осаждения: аспарагин (вместе с другими аminosоединениями) осаждается из растворов азотнокислой ртути $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$; осадок можно отделить, разложить сероводородом для удаления ртути и по нейтрализации аммиаком сгустить до кристаллизации аспарагина; таким путем можно избежать выпариванья больших объемов жидкости и риска разложения аспарагина, которое при долгом нагревании начинается даже в нейтральном растворе.

Аспарагин дает соединения как с кислотами, так и с основаниями, при титровании требует больше щелочи в горячем растворе, чем холодном.

ствии как щелочей, так и кислот тирозин легко растворим; спиртовой раствор аммиака часто употребляется для извлечения и очищения тирозина при разделении кристаллизацией смеси аминокислот. В концентрированной уксусной кислоте тирозин совсем почти не растворяется; на этом основан один из способов разделения тирозина и лейцина (они часто кристаллизуются совместно, если сгущение раствора продуктов гидролиза велось недостаточно медленно). При медленном сгущении тонкие иголки кристаллов тирозина группируются в звездчатые скопления или в пучки (наподобие снопов); при 314—318° тирозин плавится разлагаясь (побурение, запах как бы жженого рога, отчасти аммиака и фенола).

Тирозин дает, кроме ксантопротеиновой, реакцию Миллона, окрашивая раствор в темно-красный цвет; с реактивом Mörner'a (1 часть формалина, 54 части H_2SO_4 и 45 частей воды) дает при нагревании зеленое окрашивание; проба по Piria дает фиолетовую окраску (растворяют тирозин в нескольких каплях теплой H_2SO_4 , выливают раствор в воду, нейтрализуют $BaCO_3$, к фильтрату прибавляют каплю раствора Fe_2Cl_6).

Количество тирозина в типичных белках колеблется чаще всего от 1 до 3—4% (эдестин—2,1%, леугмин—1,5%, глиадин—2,0%; казеин—4,9%, альбумин—1,1%); в альбуминоидах его может быть или значительно больше (10,5% в фиброине шелка) или он может совершенно отсутствовать, как, напр., в клее, вследствие этого клей не дает характерной для типичных белков окраски с реактивом Миллона. В скелете некоторых кораллов и губок найден подирированный тирозин (*подириновая кислота*).

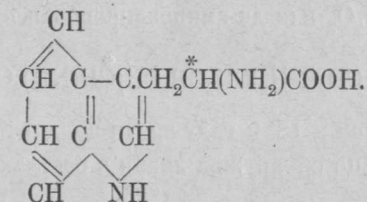
Фенил-аланин $C_9H_{11}NO_2$, фенил-аминопропионовая кислота $C_6H_5-CH_2-\overset{*}{C}H(NH_2)COOH$ открыта в 1879 году E. Schulze и Barbieri в проростках бобовых, а затем ими же (1883), как продукт гидролиза растительных белков, под влиянием кислоты, а также и в проростках бобовых. Ненцкий и Сальковский сделали заключение о присутствии фенил-аланина в животных белках на основании того факта, что при гниении белка на ряду с фенолом, крезолом, оксифенилуксусной, оксифенилпропионовой (происходящих из тирозина) получался фенил-этил-амин, фенил-уксусная и фенилпропионовая кислоты. Последующие исследования показали, что фенил-аланин, являясь обычным ингредиентом белковой молекулы, может по количеству не уступать тирозину и даже превосходить его.

Фенил-аланин в воде растворяется в отношении 1 : 39, легче

при нагревании; кристаллизуется в виде блестящих листочков; при нагревании до 283° разлагается, при кипячении с азотной кислотой дает желтую окраску (ксантопротеиновая реакция), окисляясь при нагревании с двухромовокислым кали и H_2SO_4 , дает характерный запах фенил-ацетальдегида (обычная качественная проба на фенилаланин).

Обычно белковые вещества содержат 2—5% фенил-аланина (глиадин 2,6%, глютеин 1,97%, леугмин 3,78%; казеин 3,2%, альбумин 4,4%, но в некоторых альбуминоидах он вовсе отсутствует (напр., в кератине из конского волоса, овечьей шерсти, перьев) или слабо представлен (в клее менее 1/2%).

Триптофан $C_{11}H_{12}N_2O_2$ представляет из себя индоламинопропионовую кислоту (индол-аланин):



Еще с 1826 года было известно (Gmelin), что в соке поджелудочной железы содержится какое-то вещество, дающее с бромной или хлорной водой в уксуснокислом растворе фиолетовое окрашивание; Клод-Бернар встретился с той же реакцией при изучении продуктов переваривания казеина (1855); позднее это вещество получило название «триптофана», т. е. показателя переваривания, вообще распада белка до кристаллических продуктов. Кроме фиолетовой окраски констатировали и получение фиолетового осадка. Ненцкий, найдя среди продуктов гниения белка, как он думал, скатоламиноуксусную кислоту (позднее оказалось изомером — индоламинопропионовой), поставил ее образование в связь с наличием в белке группы триптофана; с другой стороны Beitler, сплавля упомянутый фиолетовый осадок с KOH, получил пиррол, индол и скатол. В чистом виде получили триптофан в 1901 году Hopkins и Cole, осаждая его сернокислой ртутью (в присутствии H_2SO_4) из смеси полученной при гидролизе казеина при помощи трипсина; они сочли триптофан за скатоламиноуксусную кислоту; но при ближайшем исследовании его пришлось признать за изомерную индоламинопропионовую кислоту (Ellinger).

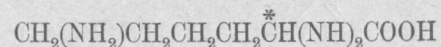
Триптофан представляет кристаллическое вещество, довольно трудно растворимое в холодной воде; дает трудно растворимую медную соль, также соль с HCl (хлоргидрат); обнаруживает ряд характерных реакций окрашивания; кроме Миллоновой (с бурым оттенком) и ксантопротеиновой реакции, получается реакция Адамкевича, Либерманна и Распайя¹⁾.

Вместе с триптофаном в некоторых белках обнаружен в небольших количествах окситриптофан.

Триптофан обнаружен в большинстве типичных белков (повидимому, его нет в зеине), из альбуминоидов отсутствует в клее.

Ди-аминокислоты («гексоновые» основания).

Лизин $C_6H_{14}N_2O_2$ или ди-аминокапроновая «кислота»



открыта Дрекслем в 1889 году среди продуктов гидролиза казеина; позднее Э. Шульце обнаружил лизин в ростках люпина и некоторых хвойных.

Выяснению строения лизина способствовало наблюдение, что при гниении из него образуется (с отщеплением CO_2) кадаверин $-NH_2CH_2(CH_2)_3CH_2NH_2$ (пентаметилен-диамин); сделанный отсюда вывод подтвержден синтезом (Э. Фишер).

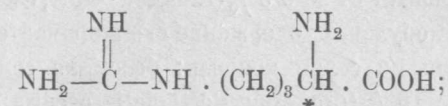
Лизин, как таковой, до сих пор не получен в кристаллическом виде; его раствор имеет сильно щелочную реакцию и привлекает углекислоту воздуха; с соляной кислотой лизин дает две соли, монохлоргидрат и дихлоргидрат, обе хорошо кристаллизуются; с хлорной платиной получают соединения, содержащие кристаллизационный C_2H_5OH .

Трудной растворимостью отличается пикриновокислый лизин; в этом соединении лизин обыкновенно и изолируют (после разложения осадка с фосфорновольфрамовой кислотой баритом и удаления гистидина и аргинина).

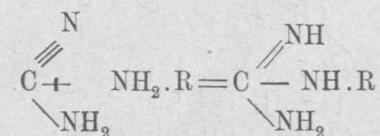
Большинство типичных белков содержит 1—2% лизина; более богаты им (5%) легумин и казеин, совершенно не найден лизин в белках группы глинадина (глиадин ржи и пшеницы, зеин, гордеин). Особенно богат лизином белок дрожжей (11,3%).

¹⁾ Темно-красное окрашивание с сахаром и крепкой соляной кислотой.

Аргинин, $C_6H_{14}N_4O_2$, представляет гуанидин-аминовалерьяновую «кислоту»:



он открыт был в 1886 г. Шульце и Штейгером в ростках люпина, а строение его разъяснено Шульце и Винтерштейном (1898); они наблюдали, что аргинин при кипячении с баритовой водой дает мочевины и орнитин (ди-аминовалерьяновая кислота)¹⁾, а затем обратно действуя на орнитин циан-амидом, получили аргинин по схеме:



Аргинин хорошо растворяется в воде, делая раствор сильно щелочным; он кристаллизуется в розеткообразных друзах, дает характерные соли с азотной кислотой (кроме соли с 1 мол. HNO_3 есть еще кислая соль, с 2 HNO_3), и с соляной, почти нерастворимую соль с фосфорновольфрамовой кислотой; пикриновокислый аргинин также трудно растворим в воде (1 : 200); соединения с $CuSO_4$, и с $AgNO_3$ довольно легко растворимы, но соединение с Ag трудно растворимо, и этим пользуются для отделения аргинина, напр., от лизина (если к азотнокислым солям этих оснований прилить достаточно $AgNO_3$ и затем столько $Ba(OH)_2$ или $NaOH$, чтобы связать всю HNO_3 , то выпадает соединение аргинина с серебром (лизин остается в растворе).

Серебро может замещать 2 или 3 водорода в частице аргинина; не установлено, насколько состав осадка постоянен; разлагая его сероводородом в присутствии кислоты (напр., H_2SO_4), получим обратно аргинин (напр., сернокислый).

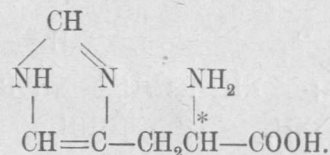
При окислении аргинина получается янтарная кислота, гуанидин-бутириновая кислота.

Аргинин является постоянной составной частью белков (по крайней мере до сих пор не было случая, чтобы при гидролизе

¹⁾ Ellinger наблюдал при гниении образование из орнитина, с выделением CO_2 , тетраметилен ди-амин; затем Э. Фишер синтезировал ди-аминовалерьяновую кислоту и установил окончательно ее тождество с орнитином.

какого-либо белка не получилось аргинина; в растительных белках его чаще всего бывает от 2 до 5% (глиядин — 3,4, глютенин — 4,4%), но в некоторых глобулинах содержание его подымается до 11—12% (легумин, эдестин из семян конопли; белок из семян хвойных, из миндаля) и даже 16% (глобулин *Bertholetia excelsa*); казеин молока содержит 4,8%; клей — 7,6%, фиброин шелка — 1,0%; но в протаминах может быть до 87% аргинина (что и дало повод Косселю построить гипотезу о центральной роли гексоновых оснований в построении частицы белка).

Гистидин, $C_6H_9N_3O_2$, имидазоль-аминопропионовая кислота (имидазоль-аланин)



Это основание было открыто Kossel'ем в 1896 году, как составная часть протаминов, а затем в лабораториях Kossel'я и E. Schulze было показано, что гистидин наравне с аргинином представляет постоянную составную часть молекулы настоящих белков.

Гистидин хорошо растворим в воде, придавая раствору ясно щелочную реакцию; плохо растворим в спирту, нерастворим в эфире; свободное основание вращает влево, соли его — вправо; имеются реакции окрашивания характерные для гистидина (напр., при кипячении с бромной водой раствор окрашивается в темно-красный цвет¹⁾). Затем гистидин дает соли с кислотами (два хлоргидрата), также соединение с серебром, аналогично аргинину (оно выпадает раньше чем, соединение аргинина при осаждении $\text{Ba}(\text{OH})_2$ в присутствии AgNO_3 имеет более светлую окраску).

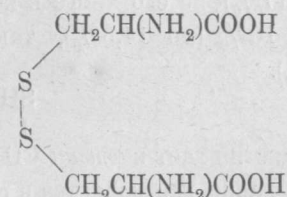
В растительных белках гистидина содержится обычно от доли процента до 2% (легумин 1,7%, эдестин 2,1%, глиадин 1,7% зеин 0,8%), в животном царстве лишь группа гистонов (и протаминов) может обнаруживать высокое содержание гистидина (напр.

¹⁾ Первые порции брома обесцвечиваются гистидином еще на холоду, по введении некоторого избытка кипячение вновь вызывает обесцвечивание, затем вдруг появляется темнокрасная окраска. По Herzog'у, гистидин дает биуретовую реакцию (фиолетовый оттенок); быть может этим объясняется то наблюдение, что при гидролизе белка сначала биуретовая проба быстро понижает интенсивность окраски, но последние следы ее держатся довольно упорно.

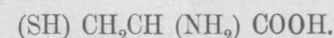
глобин — до 11%), обычно же его содержание также невелико (казеин 2,6%, клей — 0,4%).

Тио-аминокислоты.

Цистин $C_6H_{12}N_2S_2$ или диамино-ди-тио-лактиловая кислота

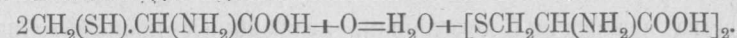


есть производное цистеина (аминотиомолочной кислоты), в который переходит при восстановлении:



Цистин был известен химикам с 1810 г. (найден в камне из мочевого пузыря Wollaston'ом), но среди продуктов гидролиза белка обнаружен довольно поздно (Emmerling 1894).

Emil Fischer получил цистин из сериана, т. е. оксиаминопропионовой кислоты; именно действием PCl_5 он получил сначала галогидное производное, которое при действии BaS дает цистеин, а последний при окислении дает цистин:



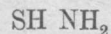
Таким путем устанавливаются соотношения между молочной кислотой, аланином, серином и цистином (цистеином):

Молочная кислота	Аланин	Сериан	Цистеин
CH_3	CH_3	CH_2OH	CH_2SH
$ \text{CHOH}$	$ \text{CHNH}_2$	$ \text{CHNH}_2$	$ \text{CHNH}_2$
$ \text{COOH}$	$ \text{COOH}$	$ \text{COOH}$	$ \text{COOH}$

Цистин кристаллизуется в виде бесцветных шестиугольных табличек, он нерастворим в воде и спирте, растворяется в щелочах и кислотах (но не в уксусной кислоте); из щелочного (аммиачного) раствора цистин сполна осаждается при подкислении уксусной кислотой. С фосфорновольфрамовой кислотой цистин дает осадок, точно также осаждается он сернокислой ртутью. При нагревании

с какой-либо солью свинца с прибавкой щелочи присутствие цистина сказывается почернением раствора (образование сернистого свинца).

Цистин содержит в своей частице типичные белки, но обычно его получают лишь доли процента (из эдестина 0,25%, глутина 0,45%, глютеина 0,02%; фибриногена 1,17%, альбумина крови 2,3%, казеина 0,017%); но его много в кератенах, так вещество волос дает свыше 10% (до 14,5%), также много цистина в веществе рога (6—7%).



При восстановлении цистин дает *цистеин* $\text{CH}_2\text{CH}(\text{SH})\text{COOH}$, который представляет сильное основание, растворяется в воде, в минеральных кислотах; при окислении легко переходит обратно в цистин. Из кислого раствора цистин полно осаждается сулемой.

Альбумозы и пептоны.

Когда белковые вещества подвергаются гидролитическому распаду под влиянием каких бы то ни было агентов, то прежде чем превратиться в смесь относительно простых кристаллических веществ (аминокислот и оснований), они дают промежуточные некристаллические продукты, во многом еще сходные с самими белками, но уже имеющие меньший молекулярный вес и большую растворимость. Эти вещества аналогичны декстринам, являющимся промежуточными членами между крахмалом и конечными кристаллическими продуктами его распада; как там, так и тут, наиболее удобно изучать промежуточные стадии при постепенном, не резком разрушении исходной сложной молекулы, которое осуществляется легче с помощью ферментов, чем сильно действующих минеральных кислот. Эти начальные продукты распада белков называют *альбумозами и пептонами*; те и другие дают биуретовую реакцию (и другие реакции окрашивания, общие с белками) и при полном гидролизе распадаются на аминокислоты. Различие между тем и другим термином условное и состоит в следующем: если из смеси, содержащей белок и образовавшиеся из него альбумозы и пептоны, удалить белок нагреванием, а затем применить высаливание — то в осадке будут альбумозы. Обозначение именем альбумоз тех продуктов, которые не свертываясь от кипячения, способны осаждаться солями, а именем пептонов — той части, которая не осаждается уже и солями, но еще

не представляет собой аминокислот, предложено было Kühne и сделалось общепринятым; но, как видно из самого происхождения этих терминов, они относятся не к отдельным веществам, а к группам веществ, индивидуально не охарактеризованных.

После того, как Фишер синтезировал полипептиды и изучил их свойства, стало возможным допустить, что альбумозы и пептоны представляют именно смесь полипептидов разной степени сложности. Правда, из тех же исследований над полипептидами следует, что способность выпадать из раствора под влиянием солей не есть регулярный и неперенный спутник сложности молекулы, так что Фишер предлагает даже пока не употреблять слова альбумоза, а обозначать подобные смеси неизвестных полипептидов вообще как пептоны.

Тем не менее из таких, напр., фактов, что в начале процесса переваривания под влиянием пепсина преобладают альбумозы (в смысле Кюне), а в конце большая часть продуктов обладает свойствами пептонов, сделано было заключение, что первые являются в общем более сложными, чем вторые; за это же, казалось бы, говорит меньшая способность к диализу и меньшая растворимость у альбумоз.

Альбумозы в высушенном состоянии представляют белые порошкообразные не кристаллические вещества, обычно легко растворимые в воде, но осаждаемые из водных растворов спиртом различных концентраций (как и солями — при разной концентрации, смотря по роду альбумоз). При биуретовой реакции альбумозы дают фиолетово-красное окрашивание; также все они дают и ксантопротеиновую реакцию, остальные же реакции проявляются или нет в зависимости от тех комплексов, из которых состоят отдельные представители.

Кроме выпадения при насыщении солями, как $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и др. альбумозы осаждаются также солями тяжелых металлов и реактивами на алкалоиды¹⁾.

¹⁾ Kühne пытался расчленить альбумозы на различные группы; так, в легко осаждаемых фракциях различались «протоальбумоза» и «гетероальбумоза», при чем первая бедна диаминокислотами и богата моноаминокислотами (много тирозина, нет гликоля, лейцин не обильно представлен), протоальбумоза легко отщепляется пепсином; она преобладает в казеине, находится и в других белках (но не в клее). Гетероальбумоза богата диаминокислотами, тирозина не содержит, действие ферментов трудно поддается; однако, при расширении

Пептоны также представляют в сухом виде аморфный и бесцветный порошок, чрезвычайно легко растворимый в воде, но также и в уксусной кислоте, и в растворах солей при любой реакции; 96% спирт еще обнаруживает некоторую способность растворять пептоны. Биуретовую реакцию (с чисто красным тоном) и ксантопротеиновую дают все пептоны, часть других реакций для разных пептонов протекает неодинаково, реакция Миллона у некоторых отсутствует, но все они свободны от реакции на серу (следовательно, сера при распаде белка остается в группе альбумоз, или, другими словами, наличие цистина способствует тому, чтобы соответственный комплекс осаждался солями, что наблюдалось и в случае синтетических полипептидов).

Солями тяжелых металлов пептоны не осаждаются (или неполно осаждаются); лучше осаждаются они таннином, фосфорновольфрамовой кислотой, иодной ртутью ($-I-KJ$) и висмутом.

Пептоны являются как и белки амфотерными электролитами, но кислотный характер здесь берет перевес — они красят лакмус в красный цвет и способны вытеснять углекислоту карбонатов. Кроме легкой растворимости пептоны характеризуются и способностью легко диффундировать и проникать через перепонки, задерживающие белки.

Прежние попытки выделить определенные соединения из группы пептонов были большей частью мало результатны; но в некоторых случаях, повидимому, удавалось получить все же однородные препараты; так, при действии пепсина на клей были выделены цинковые и баритовые соли пептона, для которого элементарный состав отвечал формуле: $C_{23}H_{30}N_7O_{10}$; этот пептон был трехосновен как кислота и двухатомен, как основание; при гидролизе получились определенные выходы аргинина, лизина, глютаминовой кислоты, гликоколя и лейцина; подсчет этих количеств привел к необходимости утроить означенную формулу, при чем получается хорошее согласование ряда показаний¹⁾.

Сюда же относится случай цитированный на стр. 55 («кирины»); но в большинстве других случаев встречались препятствия к установлению индивидуальности выделенных продуктов.

подобного учета на другие белки признаки эти оказались неустойчивыми. В виду работ Фишера и др. теперь в подробное изложение этих работ входить не приходится.

¹⁾ Siegfried и др. (см. лит. у Cohnheim'a, стр. 107).

Для отдельных компонентов белковой молекулы переход от более сложных к более простым группировкам происходит с различной легкостью.

Наиболее ясно это было констатировано Kühne при изучении триптического переваривания белка; оказывается, что при действии трипсина часть сложной молекулы белка быстро распадается до кристаллических продуктов (при чем особенно рано появляются тирозин и лейцин), в то время как другая часть более упорно противостоит действию трипсина, и обнаруживает биуретовую реакцию даже тогда, когда весь тирозин уже отщеплен от белка.

Эту стойкую часть Кюне назвал антипептоном, а другую, легко расщепляемую половину — гемипептоном, при чем последний не может быть изолирован, но о составе его можно судить по продуктам распада.

Fischer и Abderhalden в общем подтвердили наблюдения Кюне и показали, что кроме антипептона, дающего биуретовую реакцию и медленно расщепляемого трипсином, имеется остаток, не поддающийся действию трипсина; этот остаток представляет полипептид, уже не дающий биуретовой реакции, он содержит главным образом гликоколь и фенилаланин, а тирозин и триптофан — в нем отсутствуют; в антипептоне также нет тирозина и триптофана, но он дает при гидролизе лизин и аргинин (лейцин, аланин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты представлены как в остатке, так и в другой части, легче поддающейся действию трипсина).

Описанные явления могут быть истолкованы двояко: или можно принять, как выше сказано, что частица белка состоит из нескольких равноправных групп (пептонов), связанных не прочной связью, которая прежде всего разрывается при действии ферментов; затем отдельные пептоны сообразно их строению, расщепляются ферментом с разной легкостью (анти- и гемипептоны); или же можно представить, что гемипептоне вовсе не существует, как цельного комплекса, только отдельные аминокислоты (как тирозин и триптофан) менее прочно связаны с некоторым ядром, отличающимся большей стойкостью и потому эти аминокислоты первыми отщепляются от этого ядра при действии фермента.

В виду того, что в настоящее время подвергается пересмотру самое понятие о пептоне, мы не будем входить в более подробное изложение прежних работ, в которых преобладает описательный характер. Но приведенные факты указывают, что при группировке

аминокислот в сложные комплексы как бы имеют место два способа соединения, именно: один более прочный и уже известный, благодаря которому аминокислоты соединяются в пептиды ($-\text{CO}-\text{CH}-\text{NH}-$), другой же еще не определенный ближе, но менее стойкий (см. сказанное выше, стр. 67), благодаря которому полипептиды, соединяясь друг с другом дают белковую молекулу, и также и обратно при уничтожении которого под влиянием слабых агентов (пепсин) белок дает смесь полипептидов (пептоны)¹⁾.

В настоящее время предлагается разумеать под пептонами всю совокупность сложных некристаллических продуктов начального гидролиза белка, не выделяя в отдельную группу альбумоз, так как оказалось, что способ отделения «альбумоз» (высаливание) вовсе не отделяет продуктов более сложных, более близких к белку; более сложные продукты могут не выпадать при насыщении сернокислым аммонием, между тем, как среди выпадающих могут оказаться и сравнительно простые пептиды, состоящие из 3—4 аминокислот, если только в число их входит тирозин или цистин; таким образом, выпадение от $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ не стоит ни в какой связи с молекулярным весом продуктов; поэтому, если мы пользуемся термином «альбумозы», то только ради сокращения в изложении, особенно когда дело идет о работах прежних авторов, отдельно трактовавших часть осаждаемую и неосаждаемую солями в смеси, получаемой при действии пепсина.

Подобно пепсину действуют на белки и разведенные кислоты, если, напр., не применять кипячения, а действовать при комнатной температуре или около 37°C .; тогда действие слабых кислот на белки (кислотные альбуминаты) ограничивается образованием альбумоз и пептонов по преимуществу.

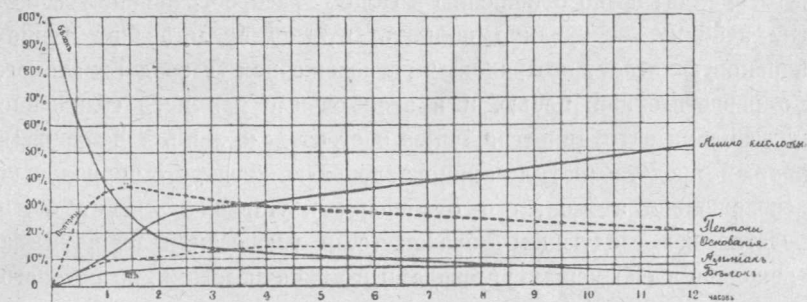
Но и при кипячении с сильнее разведенными кислотами можно наблюдать значительное образование пептонов в качестве промежуточных продуктов гидролиза, если нагревание ведется недолго; в первое время образуется больше пептонов, чем успевает за тот же срок разрушиться до аминокислот и количество пептонов быстро растёт; но затем, вследствие уменьшения количества белка, уменьшается и количество пептонов, образующихся за единицу времени, а распад пептонов до аминокислот продолжается и становится на-

¹⁾ Мыслимо однако и другое толкование — при одном и том же характере связи возможна разная прочность ее для молекул разной степени сложности.

конец преобладающим процессом. В качестве примера могут служить следующие данные, полученные автором¹⁾ при разложении легумина 4% серной кислотой. В % всего азота содержалось:

Время нагревания:	1/2	1	2	4	12	24	48	84 часа.
N белка	63,9%	88,6	18,7	11,8	5,4	3,7	2,7	1,7%
N пептонов	24,4	35,3	35,7	30,1	12,9	12,9	8,9	3,8
N оснований . . .	2,5	10,7	12,4	15,2	14,1	16,5	18,1	21,1
N аминокислот . .	5,5	10,4	25,2	35,9	52,1	62,2	64,4	66,6
N аммиака	3,0	5,2	7,0	7,4	7,5	8,5	8,6	9,0

Ради наглядности те же соотношения изображены графически на следующем рисунке:



Разведенные щелочи также дают альбумозы (этому предшествует стадия щелочных альбуминатов), относительно же пептонов указывается, что констатировать их в этом случае трудно, вероятно вследствие быстрого их расщепления на аминокислоты.

Вообще, при действии пепсина легче наблюдать образование альбумоз и пептонов, чем при более резком действии кислот и щелочей, доводящем гидролиз до аминокислот по мере продолжительности действия, крепости кислоты и условий нагревания.

Об участии углеводной группы в построении белковой молекулы.

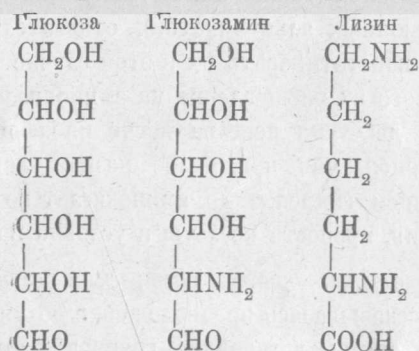
Уже давно высказывалось предположение об участии в построении белковой молекулы углеводной группы, хотя нужно сказать что при этом нередко объединялись в сущности различные вопросы. Прежде всего нужно различать собственно белки от нуклеопротеидов, которые рассматриваются как соединения белка с нуклеиновой

¹⁾ Прянишников, О действии 4% серной кислоты на легумин (Известия Петровской Академии, 1903). В этой работе под пептонами разумелся весь комплекс альбумоз и пептонов Kühne.

кислотой; в состав же последней несомненно входят углеводы (пентозы), поэтому нуклеопротеиды могут давать реакции, обусловленные присутствием углеводных групп (см. ниже о нуклеопротеидах).

Затем, не следует смешивать вопрос об образовании углеводов из белков (или аминокислот) в организме с вопросом о нахождении готовой углеводной группы в белках; здесь мы имеем в виду лишь только это последнее предположение.

Вообще говоря, на него нужно дать отрицательный ответ: как постоянная составная часть белка углеводная группа в нем отсутствует; можно, конечно, с некоторой натяжкой устанавливать близость известных аминокислот, имеющих шесть атомов углерода в частице, с углеводами; но по отношению к самому распространенному веществу лейцину, необходимо помнить, что он представляет аминокaproновую кислоту не с рядовым расположением углеродных атомов, а с разветвленной цепью, и в этом смысле для него сближение с углеводами затрудняется. Лучше обстоит дело лишь для лизина¹⁾, который представляет ди-аминокапроновую кислоту с нормальным расположением атомов; его отношение к углеводам может быть представлено следующим образом (если глюкозамин принять за переходное звено между углеводами и аминокислотами, из которого путем окисления альдегидной группы, восстановление трех спиртовых и замещение NH_2 одной спиртовой группы образуется лизин).



Заметим, что это допущение носит совершенно априорный характер, так как нет никаких фактических указаний на какую-либо генетическую связь или большую близость между лизином и углеводами, чем для других аминокислот.

¹⁾ Теперь можно присоединить в этом отношении к лизину еще нормальный лейцин.

Однако, если на вопрос о наличии углеводной группы в белке вообще получается отрицательный ответ, то для некоторых особых случаев дело может обстоять все же несколько иначе; именно, среди белков животного царства отличают группу *глюкопротеидов*, состоящих, по принятому представлению, из собственно белка плюс некоторый комплекс углеводного характера; сюда относятся так наз. муцины, встречающиеся в слизистых выделениях желез (напр. в слюне), в слизи отделяемой поверхностью дыхательных путей и пищеварительных органов, в слизи окружающей яйца лягушки, в белке куриного яйца и пр., они весьма распространены также у беспозвоночных (слизни).

Эти вещества (муцины) отличаются от других белков пониженным содержанием азота, своим кислотным характером и нередко также неспособностью свертываться при нагревании.

При кипячении с кислотами муцины отщепляют вещества, способные восстанавливать Фелингову жидкость, и потому явилось предположение, что они содержат глюкозу (или углевод, дающий при гидролизе глюкозу); это предположение казалось было подтверждено последующим наблюдением, что при действии фенилгидразина на продукты гидролиза муцинов получается озон тех же свойств, как в случае глюкозы.

Однако, впоследствии выяснилось, что при гидролизе муцинов получается не самая глюкоза, а *глюкозамин*, дающий описанные реакции с Фелинговой жидкостью и фенилгидразином (озон получается тождественный с глюкозой). Обычно это тот же глюкозамин, который входит в состав клеточных стенок грибов и хитина насекомых.

Но в некоторых случаях глюкозамин заменяется галактозамином (муцин лягушек) или другими углеводами с содержанием аминной группы; так в связках, хрящах и костях содержится (помимо клеевых веществ) так называемый *муко д*, богатый серой и углеводами; при гидролизе получается ближе не исследованный амидированный полисахарид.

Что касается распространения муцинов в растительном царстве, то данные по этому вопросу крайне скудны¹⁾.

¹⁾ Имеется указание Ishii на нахождение муцина в клубнях *Dioscorea* (см. Osborne, Die Pflanzenproteine, 214).

Действие на белки галоидов и окислителей.

Галоидные производные белков, получающиеся через замещение атомов водорода галоидами без нарушения строения всего комплекса, ведут себя подобно тому, как напр., галоидные производные бензола, т. е. в них можно открыть галоид лишь при сожжении (окислении) органического вещества, но не непосредственно обычными реакциями на галоиды.

Наиболее изучены продукты иодирования белка; это бурого цвета вещества, сохраняющие многие реакции белков (реакции осаждения, биуретовую и ксантопротеиновую), кроме реакции Миллона и реакции на серу с свинцовыми солями. Если не считать введения иода, то элементарный состав белка при этом не подвергается заметным переменам. Содержание J для белков крови колеблется от 11 до 14%, для яичного альбумина 8—9%, для клея 1,3—2%.

В реакции принимают участие группы тирозина, триптофана и гистидина (тирозин в отдельности дает производное с двумя атомами иода — ди-иодтирозин).

Иодированный белок встречается и в природе — в щитовидной железе высших животных, а затем в скелете некоторых кораллов и в губках («горгонин» у *Gorgonia*, «иодоспонгин губок», содержащие 8—9% иода, по своим свойствам напоминают кератин позвоночных).

Искусственно получены также продукты замещения другими галоидами, но они еще менее изучены, чем продукты иодирования.

Получились также продукты нитрования белков («ксантопротеин»), окрашенные в желтый цвет, переходящий в красный при действии щелочи; как и продукты иодирования эти тела не дают более реакции Миллона (что указывает на участие группы тирозина в реакции) и реакции на серу со свинцовыми солями.

Действие азотной кислоты на белок сопровождается реакциями окисления и гидролитического распада (так как значительная часть работ по окислению белка является устаревшей, то входить в их изложение здесь является излишним).

Молекулярный вес.

Молекулярный вес белков не поддается точному определению, благодаря вышеописанным свойствам их; но из целого ряда фактов можно заключить о весьма большой величине его.

Первые предположения основывались на данных элементарного состава, прежде всего на содержании серы; так, Либеркюн для альбумина крови, содержащего 2% серы ($\frac{1}{50}$), вычислял молекулярный вес около 1600 (32×50). Но так как были данные предполагать, что сера входит не одним атомом, а двумя или тремя¹⁾, то приходилось удвоить или утроить и молекулярный вес. Однако, содержание серы в белках разного происхождения неодинаково, поэтому и молекулярный вес для них высчитывается различный, как видно из следующих цифр:

Молекулярный вес при допущении:

	% S	1-го а т о м о в	2-х	3-х с е р ы
Альбумин крови	2,0 %	1600	3200	4800
То же, по другим данным . .	1,89	1700	3400	5100
Альбумин яйца	1,30	2460	4920	7380
Эдестин (из конопли)	0,87	3680	7360	—
Гемоглобин	0,43	7440	14880	—

Так как, кроме того, возможно, что число атомов серы в частице для разных белков не одинаково, то очевидно, что данные о содержании серы сами по себе еще не могут служить основанием для непосредственного определения величины молекулярного веса.

Другой путь определения молекулярного веса, которым пытались воспользоваться также многие авторы, основывается на изучении солеобразных соединений белков с основаниями. Так, известно, что белки дают нерастворимые соединения с медью; Harnack получил для альбумина осадки с содержанием 1,34—1,37% Cu, откуда вычисляется минимальный вес молекулы около 4700. Дьяконов, осаждавая белок цианистой платиной и анализируя осадок, пришел к величине 5944, Gautier, титруя альбумин раствором NaOH, нашел молекулярный вес в 5800.

¹⁾ Раньше такое заключение основывали на том, что не вся сера белка отщепляется при кипячении со щелочью, и потому предполагали двойного рода группировку («окисленная» и «неокисленная» S). Но теперь достаточно указать, что конечный продукт гидролиза цистин содержит два атома серы.

При всех этих способах могут являться сомнения, насколько в одних случаях получаемые осадки представляли определенные химические соединения, насколько в других явления диссоциации мешали правильному учету кислоты или щелочи, способной быть связанным тем или иным белком.

Однако, к тем же величинам, притом как минимальным, приводит такой расчет: если белок дает при гидролизе 3% тирозина, а молекулярный вес последнего равен 181, то молекулярный вес белка по крайней мере в 33,3 раза больше, т.-е. приближается к 6000 (или представляет *кратное* 5000 или 6000).

Для некоторых белков получены продукты замещения иодом исходя из такого производного для альбумина, Hofmeister вычислил вес молекулы в 10.166.

Для яичного альбумина Сабанев и Александров пробовали применить криоскопический метод; они пришли к величине в 14.270 (трудность заключается в достижении возможно полного удаления минеральных веществ из препарата белка).

В некоторых случаях имеются показания нескольких методов, приводящих к величинам одного и того же порядка.

Особенно много показаний имеется для гемоглобина, который представляет соединение белка (глобина) с гематином и содержит не только серу, но и железо; кроме того, в нем может быть учитываемо содержание второго (более простого) компонента — гематина. Содержание железа для гемоглобина разного происхождения (у разных животных) колеблется между 0,33 — 0,50%; если в частице содержится лишь один атом железа, то общий вес ее доходит до 16,700; исходя же из содержания серы (0,43 — 0,67), при двух ее атомах в частице получаем молекулярный вес до 14,800. По содержанию гематина (4 — 5%) находят числа до 14,800. По соединению с окисью углерода вычислен вес молекулы около 16,000, по осмотическому давлению он определен в 16,321.

Следовательно, для гемоглобина величину молекулярного веса можно считать почти установленной, но отсюда трудно было сделать окончательное заключение о молекулярном весе собственно белка (глобина), так как является не вполне установленным, каково соотношение между числом частиц гематина и глобина в гемоглобине; если окажется, что оно не есть 1:1, а 1:2 или 1:3, то для глобина должен получиться соответственный меньший молекулярный вес.

Robertson на основании изучения электролиза солей казеина («казеинат калия») приходит к заключению, что молекулярный вес казеина равняется приблизительно 176000.

Osborne, принимая на основании различных соображений молекулярный вес белка близким к 15000 (или кратному от этой величины), дает следующие формулы, с различным числом атомов серы:

	% содержание:				Формула.	Молекулярный вес.
	C	H	N	S		
Легумин. . . .	51,72	6,95	18,04	0,385	$C_{718}H_{1153}N_{214}S_2O_{238}$	14922
Зеин	55,23	7,26	16,13	0,600	$C_{736}H_{1161}N_{184}S_3O_{208}$	15993
Эдестин. . . .	51,36	7,01	18,65	0,880	$C_{622}H_{1020}N_{193}S_4O_{201}$	14530
Глиадин. . . .	52,72	6,86	17,66	1,027	$C_{685}H_{1068}N_{196}S_5O_{211}$	15568
Лейкозин. . . .	53,02	6,84	16,80	1,280	$C_{663}H_{1026}N_{180}S_6O_{207}$	15506

Для казеина, содержащего фосфор (0,86%), получается при подобном расчете формула: $C_{708}H_{1130}N_{180}S_4P_4O_{224}$, отвечающая молекулярному весу 15982.

Некоторыми авторами получены были еще более высокие числа; так, по скорости диффузии для альбумина высчитывают молекулярный вес в 32814, по осмотическому давлению в 34000, но эти числа основаны на допущении, что белок в условиях опыта находился в молекулярно-дисперсном растворе, иначе эти цифры должны относиться не к отдельным молекулам, а к их агрегатам.

Таким образом, вопрос о молекулярном весе белков не получил еще окончательного разрешения.

Отдельные представители растительных белков; вопрос о классификации.

Краткая историческая справка.

Первым шагом к ознакомлению с белками растительного царства можно считать выделение клейковины из зерен пшеницы; в 1747 году Вессари сообщил Академии в Болонье о своих опытах с пшеничной мукой, из которой он получил два вещества, из которых одно было сходно с обычно извлекаемыми из растения веществами (крахмал), а другое напоминало вещества, получаемые из организма животных, и при сухой перегонке давало отгон щелочного характера (клейковина); далее Вессари сообщал, что он пытался получить подобное вещество из бобов, ячменя (и семян не-

которых других растений), но эти опыты у него не удались (Becchari, *De Frumento*, цит. у Osborne, *The vegetable proteins*).

В 1759 году Kessel-Meyer также писал о получении клейковины и об отношении ее к растворителям («*De quorundam vegetabilium principio nutriente*»; см. Osborne, l. c.).

В 1773 году Rouelle сообщил, что вещества, подобные клейковине, находятся не только в семенах, но и в других органах растений; он выделил такие вещества из вегетативных органов некоторых зонтичных, установил их близость с клейковиной, изучая продукты сухой перегонки, и высказал предположение, что из этих именно веществ образуется казеин молока у травоядных («*Experiences*» в *Journal de medecine*; см. Osborne, l. c.).

Начиная с того же года появляется ряд работ Parmentier о составе различных пищевых веществ (картофель, пшеница и др.); он между прочим констатировал растворимость клейковины в уксусной кислоте и способность ее обратно осаждаться из раствора при нейтрализации щелочью без видимого изменения первоначальных свойств; он же наблюдал, что при обработке клейковины водным спиртом последний окрашивается в желтый цвет и извлекает часть вещества, остающегося по испарении спирта в виде прозрачной пленки; последняя при горении давала тот же резкий запах, как вещество животного происхождения (это был первый, но не законченный шаг к открытию глиадиана). Далее Parmentier наблюдал изменение свойств клейковины при нагревании, а сушкой при низкой температуре получил продукт, способный при смачивании водой вновь приобретать вязкость и клейкость.

Около того же времени Berthollet указал, что при обработке азотной кислотой клейковина дает желтое окрашивание.

В 1789 году Fourcroy дал обширное исследование о свертываемом белке в соке различных растений; он нашел в этом растительном альбумине все свойства животного альбумина («*Sur l'existence de la matière albumineuse dans les végétaux*»).

Это подтвердили затем Vauquelin, Jordan, Cadet, Proust и др. (Osborne, l. c.).

В 1805 году Einhof нашел, что часть белков пшеницы, ржи и ячменя растворима в спирту, в отличие от альбумина (свертываемого белка растительных соков) и от белков в семенах бобовых («*Chemische Analyse des Roggens, der Erbsen, der Linsen etc. Neues allgem. Journal der Chemie*, 1805 — 1806).

В 1809 г. Gren в своем сочинении «*Grundriss der Chemie*» при обзоре растительных белков принимает, что в состав их входят: С, Н, N, S, О и Р (последний, по его мнению, в виде фосфорнокислого кальция).

В 1819 г. Taddei установил наличие в клейковине пшеницы двух родов белка, растворимого в спирте (gliadin) и нерастворимого в нем (Zymon) («*Ricerche sul glutine di frumento*»). В 1821 г. Gorham выделил из зерен манса растворимый в спирту белок, который он назвал зеином («*Analysis of Indian Corn*»; см. Osborne, l. c.).

В 1827 году Braconnot (который незадолго перед тем произвел первый гидролиз животного белка, с выделением гликоколя и лейцина) описал белок, входящий в состав семян бобовых, и назвал его легумином; он подметил также способность легумина давать солеобразные соединения с кислотами.

В 1836 году Boussingault опубликовал ряд элементарных анализов некоторых растительных белков¹⁾, далее (с 1841 г.) следовали исследования Либиха и его учеников²⁾; Либих признал общность природы белков растительных и животных и находил сходство в основных группах того и другого ряда (растительный альбумин, растит. клей, растит. казеин или легумин и растит. фибрин). В 1842 г. ряд анализов белков дали Dumas и Cahours.

В 1855 году Hartig напечатал свои наблюдения над кристаллическими отложениями белка в семенах (алеуоновые зерна); через три года Maschke удалось искусственно получить кристаллы белка из бразильского ореха вне растения.

В 1859 г. Denis в своем «*Mémoire sur le sang*» указал, что некоторые белки животного и растительного происхождения растворимы в воде в присутствии нейтральных солей; это дало новый метод для изолирования и очищения этих веществ, впоследствии получивший значительное приложение.

С 1862 года начинает появляться ряд сообщений Ritthausen'a, который предпринял систематическое изучение растительных белков работая в этой области свыше 20 лет, он дал ряд описаний и анали-

¹⁾ Annales de Chimie et de Physique, 1877, t. 65 (Mémoire sur la quantité de gluten contenu dans les farines de plusieurs espèces de froment cultivées dans le même sol).

²⁾ Liebig, Ueber die stickstoffhaltigen Nahrungsmittel des Pflanzenreichs (L. Annalen 1841).

зов; главным образом, он останавливал свое внимание на тех из них, которые встречаются в семенах культурных растений.

Точные анализы полученных в возможно чистом виде белков, произведенные Риттгаузен, показали, что число отдельных представителей больше, чем это казалось прежде (в 40-х годах Либих сводил все белки к четырем основным веществам; к 80-м годам стало известно уже не менее 10 отдельных представителей растительных белков, различных по своему составу и свойствам).

Классификация Риттгаузена и ее последующие видоизменения.

Проведя систематически изучение белковых веществ, встречающихся в растениях (преимущественно в зернах злаковых и бобовых), всеми доступными тогда методами, Риттгаузен¹⁾ построил свою классификацию, по которой растительные белки подразделялись на три группы:

1. *Растительные альбумины.*
2. *Растительные казеины.*
3. *Белки группы клейковины.*

Основанием для деления послужило, главным образом, отношение белковых веществ к растворителям, данные элементарного состава, а в некоторых (немногих) случаях и указания на характер продуктов гидролиза.

Альбумины были охарактеризованы Риттгаузен как белки, растворимые в воде, свертывающиеся при нагревании и после свертывания не растворяющиеся даже в воде, содержащей небольшие количества щелочи; эта модификация белков была найдена в хлебных зернах лишь в небольших количествах.

Растительные казеины по Риттгаузену суть белки, растворимые в слабых растворах едких щелочей, осаждаемые кислотами подобно животному казеину, в избытке кислоты вновь растворяющиеся (последнее свойство, впрочем, проявляется не всегда в одинаковой мере, в зависимости от происхождения белка); богатство фосфором также должно являться особенностью состава этих белков. Риттгаузен к этой группе был отнесен легумин, находящийся в зернах гороха,

¹⁾ Ritthausen. Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen. Bonn. 1872.

бобов, конглоутин (люпины) и глютен-казеин (один из белков пшеницы).

К третьей группе Риттгаузен отнес те белки хлебных зерен, которые, входя в состав клейковины, обнаруживают способность растворяться в водном спирте и при гидролизе дают значительные количества глютаминовой кислоты; он обозначает их как белки группы растительного клея (Pflanzenleim) и различает среди них глиадин, муцедин и глютенфибрин.

Эта классификация сделалась вскоре общепринятой в курсах и физиологии растений и агрономической химии; но впоследствии она подверглась критике со стороны представителей животной физиологии, именно Вейля (сотрудника крупного физиолога Норре Seyler'a), который склонен был отрицать почти все, установленное Риттгаузен (хотя новых фактических данных в руках Вейля имелось немного, а его собственные наблюдения вовсе не отличались тщательностью).

После того как Норре Seyler назвал глобулинами те белки животного организма, которые растворяются в воде в присутствии нейтральных солей (напр., NaCl), но осаждаются избытком воды, и показал, что значительная часть животных белков относится к этой группе, Вейль сделал попытку распространить классификацию Гоппе Зейлера и на растительные белки; он предпринял с этой целью опыты, считая недоказательными все данные Риттгаузена, хотя он не подвергал работ последнего сколько-нибудь серьезной критике, а просто сослался на утверждение Норре Seyler'a, что работы Риттгаузена и его учеников относятся большей частью «не к чистым и неизменным белкам, а к более или менее разложенным и недостаточно очищенным веществам, которые ни по своему поведению, ни по своему составу не отвечают телам, из которых они получились»¹⁾.

Из своих опытов Вейль заключил, что большинство растительных белков относится к глобулинам; действительно, он показал, что из многих семян раствор хлористого натра извлекает белок; но только нужно отметить, что Вейль не определял количеств белка, переходящего в раствор, и огульное причисление растительных белков к глобулинам являлось поэтому совершенно произвольным.

Понятно, что с точки зрения Вейля наиболее легко могли возникнуть возражения против признания группы растительных альбу-

¹⁾ Zeitschrift für physiol. Chemie, B. I, стр. 82.

минов, в виду присутствия в семенах зольных составных частей, способствующих переходу в раствор других белков, в чистой воде нерастворимых; этот источник погрешностей, впрочем, был известен и Риттгаузену (ср. стр. 69, 96, 206 и др. 1. с.), но не был им устранен.

В сущности, как выше сказано, первые указания на растворимость в соляных растворах некоторых растительных белков относятся к 1859 году и принадлежат французскому автору Denis (*Mémoire sur le sang*; эту работу цитировал и Weyl, 1. с., стр. 82). Таким образом, с тех пор как был установлен термин «глобулин», следовало заключить о нахождении глобулинов ч. ч. растений, чем предпринимая для этого никаких новых исследований (а в частности исследования Вейля, сводившиеся к качественным пробам, никак не могли противопоставляться тщательным работам Риттгаузена). Но Вейль отрицал существование не только альбумина, но и самой клейковины в зернах пшеницы, считая ее продуктом изменения глобулинов под влиянием воды; он пытался доказать это следующим опытом¹⁾: если подействовать на пшеничную муку раствором NaCl и извлечь таким образом глобулин²⁾, то остаток уже не дает клейковины при действии воды. Наоборот, если предварительно приготовить клейковину обычным образом и затем действовать на нее раствором NaCl, то она в нем не растворяется³⁾; казалось бы, следует заключить из такого опыта, вместе с Вейлем, что она есть измененный глобулин; но в этом толковании заключалась погрешность, зависевшая от отсутствия количественного определения глобулина, переходящего в раствор, и сопоставления с количеством клейковины; такое сопоставление ясно обнаружило бы невозможность образования из малого количества глобулина чуть ли не десятикратного количества клейковины и заставило бы искать другой причины того явления, что мука, обработанная раствором NaCl, клейковины не дает (мы вернемся еще к этому опыту ниже).

Вейль не признавал также существования и растительных казеинов («Es giebt kein genuines Pflanzencasein» — вот заголовок § 10-го его статьи в *Zeitshr. f. physiol. Chemie*, B. 1); вещества, описанные

1) Ber. d. d. chem. Ges. 13, 367.

2) Я описываю опыт так, как понимал его Вейль.

3) Это отмечает и Ritthausen, 1. с., стр. 26.

БИБЛИОТЕКА
УЧЕБНЫХ ДОС
История (1-1)

под этим обозначением Риттгаузен, Вейль считал тоже за продукты изменения глобулинов под влиянием реактивов.

Последующие работы целого ряда авторов (Osborne и его школа) над растительными белками, однако, показали, что Риттгаузен по существу был прав в большей части своих наблюдений, а его критики заходили слишком далеко без достаточных к тому оснований.

Например, Риттгаузену ставилось в упрёк, что он часто пользовался растворами щелочей для выделения белков из растений, а щелочи могут изменять (денатурировать) белок. Однако, слабые щелочи оказываются вовсе не так легко изменяют белок (Осборн находит, что кислоты опаснее в этом отношении); Риттгаузен не раз обнаруживал, что препараты, полученные из семян путем извлечения слабой щелочью и последующей нейтрализации, сохраняли растворимость в соляных растворах, а другие исследователи показали, что они сохраняют при этом способность давать совершенно такие же кристаллы, с теми же морфологическими, физическими и химическими особенностями, как и первоначальный белок. Следовательно, можно почти с уверенностью сказать, что если концентрация щелочи и кислоты не переходит известной границы, то многие если не все, белки семян могут быть получены с неизменными свойствами (Osborne, *The vegetable proteins*, 20).

Точно также и другие упрёки, сделанные Вейлем по отношению к работам Риттгаузена, оказались преувеличенными, а во многом и совершенно неосновательными.

Так, по вопросу о существовании растительных альбуминов сомнения оказались излишними, если только не предъявлять иных требований к доказательству существования альбуминов в растении по сравнению с доказательствами существования их в организме животного; именно оказывается, что существуют белки, растворимые в воде даже и по удалении солей путем диализа, способные свертываться при нагревании; следовательно, существование растительных альбуминов должно быть признано наравне с существованием альбуминов животных. Osborne и Voorhees¹⁾ подвергали диализу водную вытяжку из пшеничной муки в продолжение 48 часов, при чем выделилось небольшое количество глобулина; по отделении осадка

1) См. подробное изложение у Griessmayer'a, *Die Proteide der Getreidearten* etc., 1897, стр. 87, и позднейшее оригинальное сообщение Осборна: «Die Pflanzenproteine» (*Ergebnisse der Physiologie*, Band 10, 1910).

Фильтрат подвергнут был вновь диализу, но нового выделения не последовало; между тем нагревание до 54° вызывало свертывание, следовательно, в растворе оставался альбумин. Совершенно того же самого состава и тех же свойств получался альбумин и другими путями, а именно, если вытяжку из пшеничной муки 10% раствором NaCl подвергнуть диализу; фильтрат от выделявшегося глобулина содержал альбумин.

Следующие цифры показывают, насколько близки были по составу эти два препарата альбумина, полученные разными путями (Осборн):

	C	H	N	S	O
1 . . .	53,27	6,83	16,95	1,27	21,68
2 . . .	53,06	6,62	17,01	1,30	21,81

Теми же приемами обнаружено было существование альбумина в зернах ржи и ячменя.

Количественные определения показали, что содержание альбумина в хлебных зернах не велико; так, в пшенице и ячмене лишь $\frac{1}{30}$ часть белков представлена альбумином, во ржи — около $\frac{1}{20}$ части.

Упомянутые выше работы американских исследователей (Osborne'a, Chittenden'a, Voorhees'a и др.) показали также, что глобулины действительно оказываются встречающимися во многих растительных объектах, но только количественно они вовсе не всегда так сильно представлены, как это полагал Вейль.

Так, в зернах пшеницы, овса, ячменя, кукурузы, глобулины встречаются лишь в небольших количествах; в пшенице в этой форме находится около $\frac{1}{20}$ части всех белков. Значительно больше глобулинов в семенах бобовых растений; так, в вике и горохе большая часть белков находится в виде глобулина (таковым оказался легумин): в фасоли также $\frac{2}{3}$ белкового азота падает на глобулин. Из семян льна раствор поваренной соли извлекает 93% всех азотистых веществ, из семян хлопчатника — около 40%. Точно также глобулины находятся в значительных количествах в плодах Bertholetia, Cannabis, Ricinus, Cucurbita, Helianthus, Corylus и др.

Общей чертой растительных глобулинов ¹⁾ является высокое содержание в них азота, около 18 — 19%.

¹⁾ Griessmayer, l. c., 295 и др. стр.

Таким образом, если в работе Вейля и было что-либо правильное, то это указание на распространенность в растениях глобулинов, которые до того нередко соединялись в общую группу с другими белками (чаще всего с растительными казеинами).

Как мы упоминали, Вейль не наблюдал образования клейковины, если пшеничная мука была предварительно обработана раствором NaCl.

Вейль полагал, что при извлечении соляным раствором удален был белок, дающий клейковину — глобулин, и потому клейковины не получилось (обычно же она является будто бы продуктом изменения глобулина); но оказалось, причина лежит вовсе не в том: глобулин для образования клейковины совершенно не нужен (не говоря уже о том, что он не мог бы быть источником для образования клейковины по ничтожному своему содержанию), но раствор поваренной соли осаждает *гладин*, необходимую составную часть клейковины, и лишает ее способности склеивать, связывать частицы в цельную массу; это наблюдали Осборн с сотрудниками ¹⁾ а также Laurent ²⁾. По точно описанным наблюдениям этих авторов, соли CaCl₂, NaCl, KCl в небольших даже количествах как бы «свертывают» гладин; но это свертывание отличается от свертывания альбумина; так, можно, удаливши соли, восстановить первоначальные свойства глина, и тогда получается нормальная клейковина даже из муки, промытой раствором NaCl.

Далее работы названных исследователей показали, что составные части клейковины (как растворимая в водном спирту, так и нерастворимая) вовсе не образуются из других белков под влиянием воды, как думал Вейль, а находятся, как таковые, в пшеничном зерне. Опыт показывает, что гладин одинаково получается (с теми же свойствами, с тем же составом), будем ли мы извлекать спиртом клейковину (следовательно, после соприкосновения белков с водой), или ничем не обработанную муку, или ту же муку после извлечения ее 10% раствором NaCl и удаления соли.

Можно также извлечь из пшеничной муки всю сумму белков слабым раствором NaOH ($\frac{1}{4}$ %), осадить кислотой, осадок после

¹⁾ Griessmayer l. c., стр. 111.

²⁾ Recherches sur la composition des matières albuminoides, Annales de la science agronomique, 1898, T. I, 382.

промывания извлекать горячим водным спиртом — и точно также в раствор будет переходить глиадин, а в остатке будет находиться другой белок клейковины (глютен-казеин Риттгаузена), нерастворимый в спирту.

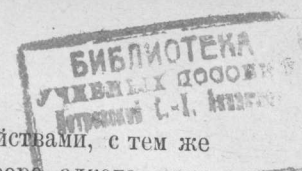
В какой бы последовательности не применялись операции, остаток после удаления глиадина уже клейковины не дает, так что Риттгаузен совершенно правильно приписана была глиадину в этом процессе существенная роль ¹⁾.

Как справедливо отметил Адольф Майер, термин «глиадин» является здесь более удобным, чем термин «растительный клей», так как клеевые вещества животного организма, на аналогию с которыми указывает это название, во многом отличаются от типичных белков, а глиадин несомненно принадлежит к настоящим белкам.

Что касается растительных казеинов, то опять последующие исследования показали, что Риттгаузен был в известном смысле прав, установив такую группу, если только понимать под казеином белок, нерастворимый в воде, водных растворах солей и в водном спирте, а растворяющийся лишь под влиянием щелочей (или кислот). Количественные определения Осборна и Фургиса обнаружили в частности, что после извлечения пшеничной муки водой, спиртом и раствором поваренной соли (следовательно, после удаления альбумина, глиадина и глобулина) она содержит еще значительные количества белка, часто половину первоначального количества, а иногда и еще более; это тот самый белок, который Риттгаузен назвал глютен-казеином; Осборн называл его глютеином. Он может являться преобладающей составной частью белков хлебных зерен; вот, например, содержание этого и других белков в одной из яровых пшениц, по данным Осборна.

Глютеина	4,68%
Глиадина	3,96%
Глобулина	0,62%
Альбумина	0,39%

¹⁾ Риттгаузен отличал, как известно, кроме глиадина, еще сопутствующие ему белки, глютен-фибрин и муцедин; по анализам Осборна и других исследователей, не оказывается достаточных оснований для различения этих белков, поэтому они обозначают общим именем глиадина ту составную часть клейковины, которая способна растворяться в спирту (70 — 80%).



Глютеин одинаково получается с теми же свойствами, с тем же составом, будем ли мы растворять в 0,2% растворе едкого кали остаток после обработки клейковины спиртом или обработаем водным спиртом муку, остаток извлечем раствором поваренной соли и потом будем действовать слабой щелочью; следовательно, невероятно, что это есть продукт изменения других белков. По своему отношению к растворителям белок этот был отнесен Риттгаузенем к группе казеинов; он составляет вторую необходимую составную часть клейковины, дополняя собою глиадин. Из вышеизложенного следует, что классификация Риттгаузена была верной в своей основе; она может требовать дополнения, но никоим образом нельзя было ее отвергать, как это предлагал сделать Вейль.

В 1899 году автором было высказано мнение ¹⁾, что классификация Риттгаузена должна претерпеть одно лишь существенное изменение: белки, подобные леумину и конглютину, как растворимые в соляных растворах, должны быть изъяты из числа растительных казеинов и выделены в особую группу растительных глобулинов, тогда будем иметь следующую группировку:

I. *Белки, растворимые в воде* (растительные альбумины). Пример: «лейкозин» Осборна.

II. *Белки, в воде нерастворимые, но растворяющиеся в соляных растворах* (растительные глобулины). Примеры: «эдестин» Осборна, «леумин» Риттгаузена.

III. *Белки, растворимые в 70 — 80% спирту, осаждаемые NaCl даже в малых количествах*. Пример — глиадин пшеничных зерен.

IV. *Белки, нерастворимые в вышеназванных (нейтральных) растворителях, но извлекаемые щелочами и осаждаемые кислотами; богаты P₂O₅* ²⁾ (растительные казеины). Пример: «глютен-казеин» Риттгаузена (= глютеин Осборна и Fleurent'a) ³⁾.

¹⁾ Белковые вещества и их превращения в растениях (в Известиях М. С.-Х. И. за 1899 г., также и отдельной книгой).

²⁾ Впоследствии оказалось, что фосфор не входит в состав молекулы белков этой группы, но содержится в сопровождающих их кислотах.

³⁾ К этому сделано было следующее добавление:

«Кроме собственно белков, в растениях встречаются, с одной стороны, тела с меньшим весом частицы, являющиеся промежуточными продуктами при гидролизе (альбумозы, пептоны), с другой стороны — тела с большим молекулярным весом, более сложные (напр., нуклеины)».

«Повидимому, не встречается противоречий предположению, что в общих чертах отношение белков к растворителям стоит в связи с весом их молекулы;

Когда в 1909 г. появилась монография Осборна «The vegetable proteins», автор мог констатировать, что в ней при построении классификации белков приняты те же самые основные группы (отчасти только под другими названиями), какие были им предложены в 1899 году в развитие классификации Риттгаузена ¹⁾.

Вот классификация Осборна (мы только отметили в ней разным шрифтом группы первостепенного и второстепенного значения ²⁾).

I. Собственно белки.

- | | |
|---|---------------------------------|
| a) Альбумины. | d) Проламины (раств. в спирте). |
| b) Глобулины. | e) Альбуминоиды. |
| c) Глютелины (нераствор. в нейтр. растворителях). | f) Гистоны. |
| | g) Протамины. |

по крайней мере согласие замечается для крайних членов ряда, построенного в порядке убывающей растворимости, как это видно из следующего сопоставления»:

Отношение растительных белков и их производных к различным растворителям.

		Водный спирт.	Вода при 100°.	Вода на холоду.	NaCl (10%)	Желудочный сок	Раствор КОН.	Число полож. знак.
I	Пептоны и альбумозы	+	+	+	+	+	+	6
II	Альбумин	—	—	+	+	+	+	4

Подобное сопоставление по отношению к растворителям было использовано затем и Hofmeister'ом (Ergebnisse der Physiologie, 1902).

¹⁾ 1899 г. представляет дату появления русской работы; немецкое сообщение появилось в 1904 году (Landw. Versuchstationen, Bd. LX).

²⁾ Осборн принял, как он сам сообщает, предложение американской комиссии для установления однообразной классификации белков; в этих предложениях учтена потребность объединить в общей группировке белки растительные и животные, отсюда — ряд групп, не представленных в растениях (Proceedings of the American Society of Biological Chemist, 1908, I, также Amer. Journ. Physiol., 1908).

II. Соединения белков.

- | | |
|--------------------|--------------------|
| a) Нуклеопротеины. | c) Фосфопротеины. |
| b) Глюкопротеины. | d) Лецитопротеины. |

III. Первичные производные белков.

- | | |
|------------------|------------------------|
| a) Протеаны. | c) Свернувшиеся белки. |
| b) Метапротеаны. | |

IV. Вторичные производные.

- | | |
|--------------|-------------|
| a) Протеозы. | c) Пептиды. |
| b) Пептоны. | |

Как видно, четыре первых основных группы в этой классификации, наиболее представленные в растительном царстве, совершенно совпадают с приведенным выше делением, предложенным нами.

Нужно заметить, что подобные классификации являются в известной мере лишь провизорными.

По этому вопросу автором было высказано, когда предлагалась приведенная выше классификация (1899, I. с.), что пока вопрос об особенностях химической природы отдельных белков недостаточно изучен, то даже «могут казаться преждевременными все попытки классифицировать эти тела».

«В самом деле, пока строение частицы белка неизвестно, пока не выяснена связь свойств того или иного белка с особенностями его ближайшего химического состава, приходится для установления групп часто пользоваться признаками преимущественно физическими, каково, например, отношение к растворителям, к действию тепла; при этом остается неизвестным, насколько различие в этих отношениях совпадает с различиями более глубокими, внутренними, и не окажется ли впоследствии, что белки с различной химической природой (поскольку она вообще может варьировать) могут обладать в некоторых отношениях близкими физическими свойствами и, наоборот, не может ли тот же самый белок при незначительных, второстепенных переменах в составе (напр., принятие или выделение воды) значительно изменять эти свойства».

Но, признавая несомненным, что в будущем предстоит создавать классификацию белков на знакомстве с особенностями построения их сложной молекулы, мы вряд ли можем отказаться от современных, хотя бы и весьма несовершенных, попыток осуществить эту задачу по простой потребности расположить в какую-нибудь систему имеющийся фактический материал и придать ему

более удобообозреваемую и удобозапоминаемую форму; цель такой классификации — временная, чисто служебная, но и она имеет свое несомненное значение».

Эта точка зрения в основе сохраняет свое значение и теперь, и почти из совершенно таких же общих соображений исходит Осборн (1. с.). Однако, истекшие годы принесли, с одной стороны, подтверждение условностей обычного деления, а с другой — увеличилось число черт различия между белками не только разных групп, но даже одной и той же группы, но выделенными из разных объектов¹⁾.

Подтверждением высказанного ранее предположения, что небольшие и так сказать поверхностные изменения в химическом составе могут существенно изменять отношение белка к растворителям, явились наблюдения Осборна, что часто существующие характеристики относятся не к свободному белку, а к солям белков, которые благодаря очень большому весу молекулы очень мало отличаются от белка по элементарному анализу. Так, обычные препараты легумина представляют, собственно говоря, соли белка с той кислотой, которая или содержалась в растении, или введена была с растворителем (NaCl); эти соли проявляют характерные для легумина (в обычном смысле) свойства, заставляющие считать его глобулином; но если отнять кислоту и освободить белок, то он оказывается совсем иначе относится к растворителям — он оказывается растворимым в воде.

Однако мы, следуя за Осборном, не станем и теперь из-за этого перечислять этот белок в разряд альбуминов, тем более, что по продуктам гидролиза он совсем не похож на обычный альбумин, а оставим за ним его видовое название характерного представителя белка бобовых — легумина. С этой же точки зрения мы будем дальше пользоваться классификацией выше приведенной (совпадающей в основе с предлагаемой и Осборном), имея в виду каждый раз конкретных представителей белковых веществ, выделяемых из определенных растительных объектов.

¹⁾ Уже тогда отмечалось, что напр., глиадин и глютенин существенно различаются по выходам продуктов гидролиза: первый совсем не содержит лизина; теперь известно, что и белки более близкие к глиадину (гордеин, зеин), обнаруживают между собой различия при гидролизе; то же относится к разным представителям группы глобулинов.

На основании сказанного будет понятно, что, хотя во многом терминология в классификации растительных белков взята из области животной физиологии, тем не менее соответственные группы того и другого рода не будут вполне совпадать друг с другом.

С этой точки зрения мы просмотрим последовательно главные признаки названных групп растительных белков, пользуясь преимущественно данными Осборна.

Альбумины растительного царства теперь выделяются лишь по одному признаку — растворимости в воде, независимо от присутствия в ней солей. Представители животной физиологии считают, что альбумин (в отличие от глобулина) не осаждается сернокислым аммонием при концентрации вдвое меньшей, чем отвечающая полному насыщению, но некоторые из растительных альбуминов не отвечают этому требованию; точно также некоторые растительные альбумины осаждаются при насыщении раствора NaCl и $MgSO_4$ в отличие от альбуминов животных. Относительно более изучены из растительных альбуминов (количественно не сильно представленных) лейкозин (в зернах пшеницы, ржи и ячменя), легумелин (в зернах гороха, бобов, вики, чечевицы, сои), фазеолин (фасоль), рицин (клевещина).

По продуктам гидролиза между альбуминами растительными и животными единства установить нельзя.

Глобулины растительного царства характеризуются растворимостью в соляных растворах, но с той оговоркой, что это свойство иногда относится не к самому белку, а к обычно получаемым при принятых методах выделения солям этого белка; с этим мы встретимся ниже в случае белков зерен бобовых (легумин). В других случаях белки, сами по себе ведущие себя как глобулины, дают с небольшими количествами кислот соли, растворимые в воде (эdestин конопли).

Деление растительных глобулинов на миозины и вителлины на основании отношения к насыщению раствора NaCl также не может быть с последовательностью проводимо (некоторые «миозины» оказались альбуминами — см. выше).

Также насыщение раствора $MgSO_4$ осаждает не все растительные глобулины, но насыщение Na_2SO_4 при $t^0 33^0C$ более действительно (Осборн). Полунасыщенный раствор $(NH_4)_2SO_4$, считающийся достаточным для осаждения глобулинов животного происхождения, в случае некоторых растительных глобулинов

оказывается недостаточным для этого: требуется большая концентрация.

Растворы животных глобулинов свертываются при той или иной t^0 при нагревании; растительные глобулины неполно свертываются при кипячении их соляных растворов, а некоторые из них вовсе не обнаруживают выпадения осадков при кипячении.

Многие из растительных глобулинов легко получаются в кристаллах из их соляных растворов путем охлаждения последних (или постепенного удаления соли диализом).

Глютенины Осборна (тип глютенина О. или глютеин-казеина Риттгаузена) характеризуются нерастворимостью в нейтральных растворителях; в этом отношении они сходны с казеином животного царства, но, однако, других данных для сближения этих групп не имеется (предположенное Риттгаузенем богатство фосфором для глютенина не подтверждается). Больше других белков изучен глютеин пшеницы; можно предполагать близость его с аналогичными белками других хлебных злаков, но последние не удается изолировать по тому же способу, как у пшеницы (получение клейковины и обработка ее спиртом); приходится извлекать размелченные семена нейтральными растворителями, а остаток извлекать щелочью, при чем извлечение идет недостаточно гладко, что, быть может, зависит от медленного проникновения щелочи в неразрушенные при размолке клетки; кроме того, тут может примешиваться часть белка другого типа (не глютеина), находящегося в соединении, напр., с нуклеиновой кислотой, в одних случаях, с танином — в других.

Глютеин дает много глютаминовой кислоты при гидролизе, что отразилось на общности происхождения этих названий.

Проламины Осборна (тип глиадина Риттгаузена) характеризуются растворимостью в спирту, что не имеет аналогий среди настоящих белков животного царства. Сюда относятся, кроме глиадина, зеин и гордеин; при гидролизе они дают также много глютаминовой кислоты, но в отличие от предыдущей группы большие выходы пролина (оттуда и термин Осборна «проламины»). Подробнее о них будем говорить ниже при рассмотрении состава клейковины пшеницы и белков других хлебных злаков.

Альбуминоиды, истоны и протамины с достоверностью в растениях не констатированы.

Нуклеопротеиды, играющие важную роль в построении клеточных ядер, представляют соединения белков с нуклеиновой кис-

лотой; для их элементарного состава характерно участие фосфора, а при гидролизе они обнаруживают, кроме обычных аминокислот, входящих в состав белковой половины, присутствие углеводной группы, ксантиновых оснований и фосфорной кислоты, входящих в состав нуклеиновой кислоты. Свойства нуклеопротеидов в значительной степени зависят от того белка, который входит в их состав (наличность альбумина повышает их способность растворяться в воде, глобулина — в растворах солей).

Что касается способа связи нуклеиновой кислоты и белка, то наиболее вероятным является допущение, что нуклеопротеиды суть солеобразные соединения, в которых белок играет роль основания; но так как нуклеиновая кислота многоосновна и белок также способен участвовать разным числом основных групп в образовании солей, то понятно многообразие этих соединений и отсутствие постоянства, напр., в содержании фосфора в нуклеопротеидах. При действии пепсина часть белка переходит в раствор, часть удерживается нуклеиновой кислотой в виде нерастворимого соединения, нуклеина (вероятно — кислая соль). Трипсин переводит все в раствор, содержащий аминокислоты и нуклеиновую кислоту.

Между нуклеопротеидами животного и растительного происхождения видимо нет существенной разницы, но отдельные представители могут проявлять свои особенности, смотря по тому, какой углевод представлен в нуклеиновой кислоте, в каком соотношении стоят отдельные основания и т. д. Лучше изучен нуклеопротеид из зародышей пшеницы, с которым мы еще будем иметь случай встретиться ниже.

Глюкопротеины, фосфопротеины, гемоглобины и лецитопротеины образуют отдельные группы в классификации Осборна очевидно только ради параллелизма с животным царством и возможности, что такие белки будут обнаружены в растениях; пока же ни для одного из них этого с должной доказательностью не сделано¹⁾.

Выделение белковых веществ из семян (по Осборну). Обычно удается извлечь все белки или большую часть их последовательным применением трех родов растворителей: воды, раствора нейтральной соли и слабого раствора щелочи; в некоторых случаях применяется

¹⁾ Фосфопротеиды, оказывались обыкновенно солями белка с фосфорной кислотой; сродство кристаллов фикоциана и фикоэритрина с гемоглобином требует дальнейшего исследования.

водный спирт. Однако, выделение отдельных белков из таких вытяжек требует известного навыка, так как состав их, смотря по роду объекта, бывает различен; поэтому нельзя дать общего рецепта, но можно лишь отметить характер встречающихся трудностей и дать общие ориентирующие указания (детали даются в отдельных исследованиях, см. литературу у Осборна).

Так, водная вытяжка извлекает не только альбумины, но часть глобулинов благодаря присутствию солей в самом объекте; иногда глобулины растворяются в воде благодаря наличности кислот в объекте, дающих растворимые соли с белками; далее, в водной вытяжке могут находиться альбумозы (протеозы) и пептоны.

Затем осаждают все белки водной вытяжки, насыщая ее сернокислым аммонием; осадок отфильтровывается, растворяется прибавлением воды в слабом растворе $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, раствор подвергается диализу на несколько дней, до прекращения образования осадка (прибавляют тимол и другие вещества, не позволяющие развиваться бактериям).

В осадке будут находиться глобулины¹⁾, а иногда к ним примешиваются известные продукты денатурирования, к образованию которых склонны некоторые растительные белки.

Раствор пробуют на присутствие, помимо альбуминов, таких глобулинов, которые растворимы в воде в виде солей (напр., эдестин); если прибавить к раствору NaCl (5%) и пропустить ток углекислоты, то такого типа белок выпадает (как хлористоводородная соль, нерастворимая в присутствии NaCl).

После этого фильтрат еще раз подвергают диализу; если образуется осадок, еще раз фильтруют; тогда можно думать, что в растворе остались только альбумины, которые можно выделять фракционированным осаждением (постепенное насыщение сернокислым аммонием или постепенное нагревание до определенных температур).

После удаления альбуминов в растворе могут быть еще альбумозы, которые осаждаются диализом в спиртоле или прибавлением последнего.

Из растворов нейтральных солей чаще всего применяется 10% раствор NaCl : им действуют или на остаток от водной вытяжки,

¹⁾ Включая и такие белки как леугмин, которые являются глобулинами условно (только в виде солей).

или ради сокращения времени¹⁾ непосредственно на измельченный материал.

Обычно берут столько растворителя, чтобы после фильтрования получить около $\frac{3}{4}$ употребленного на извлечение объема; экстракт подвергают диализу, при чем выпадает глобулин (или все осаждается сернокислым аммонием, как выше описано; этот путь предпочитают, если количество глобулина не велико).

Иногда применяют теплый раствор NaCl , из которого значительная часть глобулина выпадает при охлаждении; это часто дает возможность получать кристаллические препараты; для этой же цели можно пользоваться диализом соляных растворов глобулинов.

При кислой реакции раствора глобулины дают известный % денатурированного белка, теряющего свои основные свойства; во избежание этого рекомендуется, когда нужно, поддерживать нейтральную реакцию вытяжек прибавлением барита.

Многие из белков в семенах растений не поддаются действию названных нейтральных растворителей и могут быть извлечены только раствором слабой щелочи.

Одно время очень опасались денатурирующего влияния щелочей на белок, но оказалось, что эти опасения по отношению к слабым растворам были преувеличены, и гораздо опаснее в этом отношении введение избытка кислоты при нейтрализации щелочи, нежели сама щелочь. Щелочи растворяют белки типа глютеина, а также и те глобулины, которые находятся в соединениях с небелковыми веществами, нерастворимыми без содействия щелочи.

Нужно иметь в виду, что эти последние соединения могут вновь бразовываться при нейтрализации раствора кислотой и усложнять работу разделения; если, напр., в растении заключался нуклеиновокислый белок, то при действии избытка NaOH в растворе будет находиться нуклеиновокислая щелочь и соединение белка с той же щелочью; при нейтрализации, напр., соляной кислотой получится хлористый натр в растворе и опять нуклеиновокислый белок в осадке (это скажется прежде всего присутствием фосфора в осажденном препарате).

В известных случаях (зерно злаковых) часть белков извлекается 70—80% спиртом на холоду или при кипячении; затем спирт

¹⁾ Сокращение времени важно ради уменьшения влияния энзиматических процессов на состав вытяжки.

можно удалять отгонкой (лучше ниже 50° ; особенно следует избегать высокой t° под конец операции, когда уже мало спирта, иначе возможно свертывание извлеченного белка) или можно вливать избыток воды, или наоборот — осаждасть извлеченный белок абсолютным спиртом (с прибавлением эфира ради полноты осаждения и уменьшения примеси жиров к осадку белка).

При соприкосновении с излишне крепкими реактивами или при излишне долгом стоянии вытяжек может происходить необратимое изменение свойств белка (денатурирование), проявляющееся при разных белках с различной легкостью; некоторые случаи такого денатурирования описаны ниже при частной характеристике отдельных белков.

Описание отдельных представителей группы растительных белков.

Белки зерен злаков.

Пшеница. Зерна хлебных злаков, а в особенности пшеницы, были, можно сказать, излюбленным объектом исследователей растительных белков, что объясняется отчасти значением пшеницы в питании людей, частью же возможностью отделить главную массу белков от сопровождающих веществ (крахмала, клетчатки и пр.) иным путем, чем применение растворителей — получением связной клейковины при механическом удалении всего остального путем отмывания струей воды.

Все главные типы белков представлены здесь, хотя и в весьма неравной степени: альбумин, глобулин, глиадин и глютенин (глютен-казеин); кроме того, в небольшом количестве содержатся альбумозы (или, выражаясь общее, протеозы); глютенин и глиадин сильно преобладают в зерне пшеницы, взятом в целом, образуя почти равноправные составные части; но если взять пшеничную муку (приблизительно отвечающую только измельченному эндосперму, а не всему зерну), то это преобладание явится еще более резким, так как белки зародыша и эндосперма не тождественны: зародыш содержит глобулин, альбумин и протеозы, а эндосперм — глиадин и глобулин¹⁾;

¹⁾ Трудно сказать, вполне ли отсутствуют названные белки в эндосперме; их очень малое содержание в измельченном, может зависеть от трудности полного отделения эндосперма от зародыша, если перерабатываются значительные количества материала.

так как зародыш по массе во много раз меньше эндосперма, то понятно небольшое участие характерных для него белков в общей массе зерна¹⁾.

Особенно характерным из белков пшеничного зерна является *глиадин*, для которого не имеется подобных представителей среди белков животного происхождения.

Einhof (1805) первый подметил факт нахождения растворимого в водном спирту белка в пшеничном зерне (клейковине), но так как он приписал это свойство всей клейковине, то у него не было повода устанавливать новый термин: лишь позднее Taddei, назвавший растворимую и нерастворимую в спирту части клейковины, предложил для первой термин «глиадин»; его охотно называли потом «растительным клеем» (Берцелиус, Либих, Риттгаузен)²⁾.

Полнее свойства глиадина были изучены Риттгаузеном, который дал ряд анализов более чистых препаратов, чем прежде, описал свойства глиадина, его отношение к воде, спирту и смеси их, к щелочам, кислотам и соляным растворам.

После Риттгаузена свойства глиадина обстоятельно изучались Осборном, в основе подтвердившим данные Риттгаузена.

Глиадин нерастворим в соляных растворах; присутствие избытка соли изменяет его способность склеивать (напр., не получается клейковины из муки, обработанной 15% NaCl).

В чистой воде замечается некоторое растворение лишь при нагревании, но при кипячении происходит свертывание растворенного белка, связанное с потерей основных свойств глиадина.

Из нейтральных растворителей только водный спирт является пригодным для перевода в раствор глиадина.

Растворимость глиадина достигает наибольшей величины, когда растворяющая смесь содержит около 70% спирта; в обе стороны от

¹⁾ Определение относительных количеств альбумина и глобулина в зародыше сопряжено с некоторыми трудностями в виду того, что там содержится много нуклеиновой кислоты, дающей соединение с белками; некоторые соли альбумина с нуклеиновой кислотой ведут себя подобно глобулинам (этим Осборн объясняет неправильные наблюдения некоторых авторов относительно содержания миозина и вителлина в зародышах пшеницы).

²⁾ Риттгаузен, говоря о сильной способности глиадина склеивать, сообщает, что если спиртовой раствор глиадина выпарить и высушить остаток в фарфоровой чашке, то получается прозрачный слой, столь плотно пристающий к фарфору, что при попытках механического отделения могут вместе с ним отрываться кусочки глазури.

этой точки она падает — в воде (на холоду) и абсолютном спирте глиадин нерастворим; однако, это относится к совершенно чистому глиадину и свободной от кислот воде; указания на растворимость глиадина в воде видимо зависят от того, что глиадин с небольшими количествами кислот легко дает соли, растворимые в более разбавленном спирту и даже отчасти в воде. Растворимость в воде таких солей глиадина сильно понижается в присутствии минеральных солей.

Как малые количества кислот, так и малые количества щелочей делают глиадин значительно растворимым в воде. Из щелочного раствора глиадин осаждается не только при нейтрализации сильными кислотами, но и при введении достаточных количеств NaHCO_3 , при чем получаются препараты, сохраняющие все первоначальные свойства глиадина. Если не понижать концентрации спирта, то растворы глиадина выносят довольно продолжительное кипячение без изменения; но если его кипятить в растворе, недостаточно богатом алкоголем, то наступает свертывание.

Риттгаузен различал в извлекаемой спиртом части клейковины еще два спутника глиадина (муцелин и глютен-фибрин); но Осборн не мог найти различия в растворимости и элементарном составе разных фракций белка при осаждении из спиртовой вытяжки; поэтому он считает, что только один белок (именно глиадин) извлекается водным спиртом из зерен пшеницы (возможно, что различия в растворимости, какие наблюдал Риттгаузен, зависели от образования частью глиадина солей с кислотами, в небольшом количестве освобождавшимися при процессе извлечения глиадина, а малые различия в элементарном составе — от разной степени чистоты разных фракций)¹⁾.

Элементарный состав глиадина следующий:

	C%	H%	N%	O%	S%
По Осборну	52,72	6,86	17,66	1,02	21,74
» Риттгаузену	52,76	7,10	18,01	0,85	21,28

¹⁾ Так как Риттгаузен не описал во всей подробности своего метода разделения трех предположенных им растворимых в спирту и очень близких между собой названных белков, то Осборн не имел возможности точно повторить работу Риттгаузена.

При гидролизе (см. таблицу на стр. 122) характерным является для глиадина (и других белков той же группы) полное отсутствие лизина при небольшом количестве других оснований, отсутствие гликоколя, высокий процент глютаминовой кислоты; лейцина и аспарагиновой кислоты немного, пролина сравнительно много (оттуда термин Осборна — проламины; но вряд ли можно согласиться, что этим названием отмечена самая характерная черта для всей группы).

По Осборну, на глиадин приходится от 40 до 50% от всего количества белков в зерне пшеницы; но содержание глиадина по отношению к весу зерна подвержено более сильным колебаниям (напр., от 2,74% в озимых пшеницах до 8,15% в некоторых яровых для Сев. Америки) в связи с колебаниями общего содержания азота.

Некоторые авторы пытались установить известные нормы для соотношения между глиадином и глютелином, которым должна удовлетворять пшеница, чтобы давать нормально выпекающийся пористый хлеб (подробнее см. в курсе автора «Частное Земледелие», глава о зерновых злаках).

Глютенин (глютен-казеин) представляет вторую важную составную часть среди белков пшеничного зерна, характеризующуюся нерастворимостью в воде, в спиртовых и соляных растворах; для его извлечения приходится прибегать к действию на пшеничную муку разведенных растворов едких щелочей (после удаления растворимых в воде, соляных растворах и разведенном спирте белков) или же, получивши клейковину путем отмывания водой, удалять из нее глиадин спиртом и в остатке иметь глютелин (однако, не вполне свободный от остатков клеточных стенок, крахмала и пр.; поэтому лучше его очистить растворением, фильтрацией и новым осаждением).

Taddei, первым наблюдавший разделение с помощью спирта белков клейковины, называл глютелин «Zymon'ом», приписывая ему свойства фермента по отношению к углеводам. Риттгаузен, видевший в глютелине черты сходства с казеином молока, называл его глютен-казеином; это сходство, как теперь выяснилось, ограничивается отрицательными сторонами (нерастворимостью в нейтральных растворителях), поэтому лишь в таком условном смысле глютелин можно сравнивать с казеином (богатство же фосфором некоторых препаратов Риттгаузена могло иметь причину в том, что они представляли соединение белка с фосфорной кислотой).

Продукты гидролиза главнейших белков хлебных зерен.

	Пр о л а м и н ы.				Глютенины.		Альбу- мины.
	Пшеница (глюадин).	Рожь.	Ячмень (гордеин).	Кукуруза (зеин).	Пшеница (глютеин).	Кукуруза.	
Гликоколь	0,0	0,1	0,0	0,0	0,9	0,2	0,9
Аланин	2,0	1,3	0,4	8,9	4,6	—	4,4
Аминовалерьяновая к	0,2	—	0,1	8,9	0,2	—	0,2
Лейцин	5,6	6,3	5,7	17,9	5,9	6,2	11,3
Пролин	7,1	9,8	13,7	9,0	4,2	5,0	3,2
Фенил-аланин	2,3	2,7	5,0	6,2	2,0	1,7	3,8
Аспарагиновая к. . .	0,6	0,2	—	1,7	0,9	0,6	3,3
Глутаминовая к. . . .	37,3	38,0	43,2	26,2	23,4	12,7	6,7
Серин	0,1	0,06	—	1,0	0,7	—	—
Тирозин	1,2	1,2	1,7	3,5	4,2	3,8	3,3
Цистин	0,4	—	—	—	0,02	—	—
Лизин	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	2,9	2,7
Гистидин	0,6	0,4	1,3	0,8	1,7	3,0	2,8
Аргинин	3,1	2,2	2,2	1,3	4,7	7,1	5,9
Триптофан	+	+	+	0,0	+	+	+
Аммиак	5,1	5,1	4,9	3,6	0,4	2,1	1,4
Сумма	65,69	67,55	78,17	80,43	59,68	45,44	50,32 ¹⁾

Weyl и Bischof наклонны были отрицать существование глютеина (как и глюадина), считая образование клейковины обязанным ферментативному процессу, превращающему глобулин в смесь белков клейковины; однако, как было уже упомянуто (107 стр.) их основной опыт оказался неверно ими истолкованным: пшеничная мука после обработки соляными растворами не дает клейковины не вследствие удаления глобулина, а вследствие влияния соли на свойства глюадина, переставшего склеивать частицы глютеина; если удалить соль диализом, клейковина снова получается, как это доказал Осборн; образование клейковины не связано ни с каким ферментативным процессом, и оба белка, образующие клейковину, существуют как таковые в пшеничном зерне; это наглядно дока-

¹⁾ То обстоятельство, что сумма учтенных продуктов далеко от 100, указывает на относительную лишь сравнимость приводимых цифр, полученных одинаковыми методами, но самые величины во многих случаях не являются окончательными.

зывается такими способами обработки, при которых действие ферментов исключается (напр., можно обработать пшеничную муку 1/4% раствором КОН, из раствора осадить смесь белков, нейтрализуя кислотой; тогда осадок разделяется при повторном извлечении спиртом на глюадин и глютеин с типичными для них свойствами).

Взмученный в воде и набухший глютеин при кипячении свертывается и теряет способность растворяться под влиянием слабых щелочей и кислот.

Свежеосажденный глютеин легко растворяется даже в очень слабых растворах щелочей (1 : 1000); кислоты также переводят его в раствор (очевидно, давая соли); при известных условиях концентрации для уксусной кислоты, Риттгаузен наблюдал образование набухших студенистых масс.

Элементарный состав глютеина обнаруживает большое постоянство независимо от способа получения его препаратов; анализы Риттгаузена и Осборна дают следующие весьма близкие цифры:

	C	H	N	S	O
Ritthausen	52,44	7,04	17,14	0,96	21,92%
Osborne	52,33	6,83	17,49	1,08	22,26%

Этот состав весьма близок к глюадину (см. выше), и только ближайшее изучение продуктов гидролиза обнаруживает весьма существенное различие между обоими белками ¹⁾: здесь имеются все три основания, не исключая и лизина (которого в глюадине нет), есть и гликоколь; для глутаминовой и аспарагиновой кислот и лейцина нет резких разниц с глюадином, пролина меньше (см. таблицу на стр. 122).

Глютеин составляет обыкновенно 40 — 45% от всего количества белков пшеницы и около половины белков в клейковине, полученной отмытием (другую половину представляет глюадин).

Белки типа *альбумина* (растворимые в воде независимо от присутствия соли) представлены в хлебных зернах в небольшом количестве — в пшенице такого белка (названного Осборном «лейкозином»), 0,4% от веса зерна. Осборн доказал, что это действительно альбумин (а не глобулин, подобный миозину животного организма, как это думал Вейль), с помощью такого довода: если удалить из

¹⁾ Первые данные по гидролизу глютеина принадлежат также Риттгаузену, который получил из него глутаминовую и аспарагиновую кислоты.

водной вытяжки соли диализом, то в ней остается белок, свертывающийся при нагревании 60° , т.-е. альбумин (лейкозин); он содержит 16,93% N, 1,30% S, 53,01% C и 6,83% H.

Свертывание альбумина пшеничных зерен происходит не сразу; оно начинается с 52° , когда образуется хлопьевидный осадок, затем более заметное выпадение происходит между 73 и 82° ; отсюда еще было бы преждевременно непременно заключать о наличии двух модификаций альбумина, так как температура выпадения зависит от многих побочных обстоятельств (быстрое или постепенное нагревание, полнота удаления солей из раствора, реакция среды; ср. ниже, напр., о свертывании эдестина).

Большая часть альбумина содержится в зародышах (10% от сухого вещества), при том обычно в соединении с нуклеиновой кислотой, от которой его не так легко отделить.

Выходы продуктов гидролиза (по Осборну) приведены на стр. 122; здесь совсем другое, более низкое, содержание глютаминовой кислоты, чем в белках клейковины; основания все на лицо.

Глобулины встречаются в хлебных зернах в очень малых количествах; из пшеничной муки соляные растворы извлекают лишь 0,6% глобулина (в % от навески), осаждаемого при диализе вытяжки. Элементарный состав по Осборну таков: C—51,03, H—6,85, N—18,39, S—0,69, O—23,04%.

Свертывание при нагревании начинается с 87° , происходит неполно даже при кипячении. Большая часть (если только не весь) глобулин содержится в зародыше, при чем в соляную вытяжку часть его переходит в соединение с нуклеиновой кислотой. По Осборну, зародыш содержит свыше 5% глобулина (но так как по весу зародыш гораздо меньше эндосперма, то в целом зерне на глобулин приходится лишь доли процента).

После удаления глобулина диализом и альбумина свертыванием вытяжка из пшеничной муки содержит еще небольшие количества *амбумозы* (или протеозы, по терминологии, принятой Осборном); но трудно сказать, содержится ли она в зернах, или лишь образуется под влиянием ферментов во время приготовления вытяжки насчет белковых веществ; количество амбумозы не превышает 0,3—0,4% от веса всего зерна; отделенные зародыши дают значительно больше амбумозы, но так как они гораздо богаче и ферментами, то тот же вопрос остается нерешенным и здесь.

Элементарный состав по Осборну следующий: C—48,99, H—6,85, N—16,89, S—1,10 и O—26,17; здесь заметно больше кислорода, чем в приведенных ранее данных.

Рожь. Белки ржаных зерен менее изучены, чем белки пшеницы, так как их выделение не так легко; с одной стороны, рожь не дает той связной массы, которая заключает почти все белки пшеничного зерна, освобожденными от большей части примесей, т.-е. клейковины; с другой стороны, как указал еще Риттгаузен, в зернах ржи содержатся, кроме крахмала, еще некоторые, «подобные гумми», углеводы, которые в значительной степени растворимы в спирту и потому мешают разделению белковых веществ с помощью этого растворителя. Тем не менее Риттгаузен установил уже известную аналогию белков ржаного зерна с белками пшеницы, а Осборн одно время даже считал, что рожь содержит тот же глиадин, что и пшеница; так, анализируя разные фракции, полученные осаждением из спиртовой вытяжки, он получил ряд препаратов с тем же самым составом, как и глиадин пшеницы (в среднем из 22 согласных анализов: C—53,75, H—6,84, N—17,72, S—1,21, O—21,48%); точно также не констатировано различий, в составе, в растворимости, и, что особенно должно быть убедительным, при гидролизе того и другого белка. Osborne и Gilbert получили выходы отдельных продуктов настолько совпадающие, насколько только можно ожидать при современных методах учета (см. сопоставление на стр. 122). Поэтому Осборн не предложил какого-либо нового индивидуального названия для растворимого в спирту белка ржи, обозначая его тем же именем «глиадин» (однако при последующих исследованиях обнаружилось, что белки эти различаются по оптическим свойствам, обладая различным удельным вращением, почему и приходится их считать, хотя и весьма близкими, но все же различными веществами).

Из общей суммы белков исследованной Осборном ржаной муки (8,6%) около 4% приходилось на часть, извлекаемую спиртом.

Аналогичный глютеину белок в зернах ржи до сих пор не мог быть исследован сколько-нибудь удовлетворительно; известно однако, что если извлечь из ржаной муки 5% раствором поваренной соли и 75% спиртом белки типа альбумина, глобулина и глиадина, то остается еще азот в количестве 28% от всего неизвлеченным (Осборн); но все попытки получить этот белок в сколько-нибудь чистом виде не удавались (так как аналогичный глиадину компонент весьма схож с последним, то неспособность ржаной муки давать

клейковину, аналогично пшеничной, вероятно, зависит от иных свойств именно второго крупного компонента, аналогичного глютенину).

Осборн нашел для исследованного им случая, что содержание белка, аналогичного глютенину (по крайней мере по нерастворимости в нейтральных реактивах), не превышает 2,5% (из общей суммы белков в 8,6%).

Альбумин подобен, если только не тождествен, с соответственным белком пшеницы; анализы в среднем дали такие цифры: 16,66% N, 1,35% S, 52,97% C и 6,79% H; окончательное свертывание происходит при 60°. Общее количество альбумина не выше 0,4% от веса зерен.

В зернах ржи содержится также немного глобулина, очень близкого по свойствам и составу к глобулину пшеницы: C—51,03, H—6,85, N—18,39, S—0,69, O—23,04. Выделение глобулина также затрудняется переходом в соляной раствор значительных количеств безазотистых веществ.

Альбумозы также слабо представлены в зернах ржи как и пшеницы; в сумме количество глобулина и протеозы может составить около 1,7% от веса зерен (Осборн).

Ячмень. Здесь точно так же, как в случае ржи, примесь безазотистых веществ, переходящих в вытяжки, затрудняет получение чистых препаратов белков. Тем не менее Осборну удалось доказать, что в спиртовую вытяжку переходит белок иного состава и иных свойств, чем глиадин пшеницы, поэтому ему дано иное название — *гордеин*.

Гордеин содержит больше углерода и меньше серы, чем глиадин (C—54,29, H—6,80, N—17,21, S—0,83, O—20,87%).

Гидролиз гордеина, с одной стороны, обнаруживает общие черты для всей группы «проламинов» Осборна — отсутствие лизина и гликоля, богатство глютаминовой кислотой, а с другой — некоторые индивидуальные черты различия от глиадина: здесь еще больше пролина и глютаминовой кислоты, больше фенил-аланина, меньше аргинина и аланина.

Содержание гордеина Осборн определил для исследованного им случая в 4,04%.

После извлечения ячменной муки 5% NaCl и затем 75% спиртом в ней осталось 4,48% неизвлеченного белка (около 42% от всего N), но Осборну не удалось получить сколько-нибудь чистого препарата

этой нерастворимой части по тем же причинам, как и в случае ржи (мнение Риттгаузена, что здесь находится белок, близкий по свойствам к глютенину пшеницы, Осборн считает необоснованным).

Альбумин ячменя близок по составу к соответственному белку пшеницы и ржи (C—52,81, H—6,78, N—16,62, S—1,47, O—22,32%).

По мнению Осборна, с присутствием этого белка связана диастатическая способность тех препаратов, которые получаются из проросшего ячменя; самый деятельный препарат, им полученный, состоял на половину (52%) из альбумина, на половину (48%) из альбумозы. При прорастании количество альбумина увеличивается по сравнению с содержанием его в непроросших зернах.

Глобулин в ячмене также не занимает видного места; по составу близок к глобулином, ранее описанным (C—50,88, H—6,65, N—18,10, S+O—24,37%).

Альбумозы представлены еще слабее.

В сумме на альбумин, глобулин и альбумозы приходится 2,24%, соотношение их количеств приблизительно такие же, как у пшеницы.

Овес. В зернах этого растения белковые вещества во многом отличаются от ранее описанных, но имеющихся исследований недостаточно для того, чтобы составить о них совершенно ясное представление. Повидимому одной из помех при исследовании является то обстоятельство, что вытяжки здесь имеют более кислый характер, а при кислой реакции белки зерен овса легко изменяются под влиянием протеолитических ферментов.

Если овсяную муку обработать непосредственно 75% спиртом, то извлекается около 1,25% белка, который обнаруживает иной состав, чем глиадин (в особенности выделяясь по богатству серой, как это было отмечено еще Риттгаузенем (C—52,59, H—7,65, N—17,71, S—1,66, O—20,39)¹⁾; растворимость его также иная, и особенно значительна и неблагоприятна для исследования его склонность переходит в нерастворимую модификацию.

Если же обработку спиртом применить после извлечения водой или соляным раствором, то получаются препараты несколько иных свойств и большей устойчивости; в элементарном составе также

¹⁾ Осборн получил C—53,01, H—6,91, N—16,43, S—2,26, O—21,39%, но так как он произвел анализ только одного препарата, то не считает эту цифру окончательной.

отмечается высший процент серы (1,76% в среднем из четырех случаев у Осборна); продукты гидролиза для этого белка пока не изучены. По свойствам этот белок подобен глиадину.

Если зерна овса и содержат альбумин (и альбумозы), то в очень небольших количествах; но в отличие от других хлебов он содержит значительные количества глобулина (или глобулинов); невидимому именно глобулин является- главным белком, остающимся после обработки овсяной муки спиртом; но изучению его мешает легкая изменчивость, притом повидимому в двух направлениях — легко начинающийся гидролиз, с одной стороны, и переход в нерастворимую модификацию — с другой.

Насколько легко в данном случае наступает гидролиз, показывает следующий опыт Осборна: если непосредственно обработать овсяную муку слабым раствором КОН, отфильтровать и нейтрализовать экстракт, то получается в осадке смесь белков, которая после обработки спиртом содержит 7,8% сухого вещества (от веса взятой муки) и имеет состав: С — 53,49, Н — 7,01, N — 16,39, S — 0,99, О — 22,1%; если же сначала овсяную муку поставить с водой в течение одного часа и затем лишь ввести щелочь (не отфильтровывая водной вытяжки), то после тех же операций остается лишь 4,25% нерастворимого в спирту белка, с несколько повышенным содер-

ряет его (при более высоких концентрациях повидному возможно изменение свойств).

Раствор зеина в водном спирте можно долго кипятить без риска свертывания; но если спирт отгонять, то за известным пределом выпавший зеин при кипячении свертывается и теряет способность растворяться в водном спирте.

По элементарному составу зеин заметно отличается от глина, содержа больше углерода, меньше азота и серы:

	C	H	N	S	O
Зеин.....	55,23	7,26	16,13	0,60	20,78
Глиадин..	52,72	6,86	17,66	1,02	21,74

По соотношению продуктов гидролиза зеин также отличается от глина, содержа относительно меньше глютаминовой кислоты, аминовалериановой кислоты, аланина и лейцина, кроме того, отсутствует триптофан; но здесь сохранены обычные черты группы проламинов: нет лизина и гликоколя и все еще много глютаминовой кислоты по сравнению с другими группами белков (альбуминами и глобулинами).

Количество белка, подобного глютенину, составляет около 40% от суммы всех белков в зеине кукурузы. Осборн приводит следующие данные элементарного анализа, обнаруживающие меньшее содержание азота, чем в белках пшеничной клейковины: C — 51,26, H — 6,72, N — 15,82, S — 0,90, O — 25,30%.

При гидролизе (см. стр. 122) обнаруживается, в отличие от зеина, присутствие как всех трех оснований, так гликоколя и триптофана; но количественные соотношения здесь иные, чем в случае глютенина (особенно велика разница в содержании глютаминовой кислоты, которой здесь почти в два раза меньше).

Присутствие альбумина в зернах кукурузы не доказано (во всяком случае речь может идти об очень малых количествах).

Количество глобулинов не велико — в сумме не выше 0,4% от веса зерна; Osborne и Chittenden нашли, что в соляной экстракт переходят три разных глобулина; один («маизин») составляет около 0,125%, другой — лишь 0,04%; для всех трех имеются данные элементарного состава, которых мы не приводим в виду ничтожного значения этих глобулинов.

Рис. Rosenheim и Kajiura нашли, что зерно риса содержит немного альбумина и глобулина, главная же часть приходится на

оризенин, аналогичный глютенину, т.-е. нерастворимый в нейтральных растворителях. Белка, растворимого в спирту, означенные авторы не могли здесь обнаружить.

Элементарный состав главнейших представителей белков хлебных зерен.

		C	H	N	S	O
I.	Глиадин	52,72	6,86	17,66	1,02	21,74
	Соотв. белок ржи . . .	52,75	6,84	17,72	1,21	21,48
	Ячменя (гордеин) . . .	54,29	6,80	17,21	0,83	20,87
	Кукурузы (зеин) . . .	55,23	7,26	16,13	0,60	20,78
	Овса	53,01	6,91	16,43	2,26	21,39
II.	Глютенин . { Осборн .	52,94	7,04	17,14	0,96	21,92
	{ Риттгауз.	52,34	6,83	17,49	1,08	22,26
	Глютелин (кукуруза) . .	51,26	6,72	15,82	0,90	25,30
IV.	Лейкозин (пшеница) . .	53,01	6,83	16,93	1,30	
	Рожь	52,97	6,79	16,66	1,35	22,23
	Ячмень	52,81	6,78	16,62	1,47	22,32
V.	Глобулин (пшеница) . .	51,03	6,85	18,39	0,69	23,04
	Рожь	51,03	6,85	18,39	0,69	23,04
	Ячмень	50,88	6,65	18,10	24,37	
VI.	Альбумоза (пшеница) . .	48,99	6,85	16,89	1,10	26,17

2. Белковые вещества семян бобовых.

Горох, вика, бобы, чечевица. Наличие значительных количеств белка в семенах бобовых была отмечена впервые Einhofom (химиком первой сельскохозяйственной академии, основанной Тэером в Меглине в 1806 г.); название главного белка легиумин принадлежит Враснопот (1827), который получил из него при гидролизе лейцин. Либих назвал легиумин «растительным казеином», считая его близким к казеину молока.

Ближе свойства легиумина, выделенного из гороха (и родственных ему растений), изучал Риттгаузен, впервые на нем доказавший присутствие аспарагиновой кислоты среди продуктов гидролиза белков; как и Либих, он относил легиумин к казеинам за его нерастворимость в воде, кислотные свойства и предполагаемое богатство

фосфором, которое, однако, впоследствии не подтвердилось (Осборн показал, что фосфор содержится не в легумине, а в той кислоте соли легумина, с которой легко могут примешиваться к препаратам самого легумина, т.е. фосфорной или нуклеиновой).

От Риттгаузена не ускользнули некоторые обстоятельства, которые могли бы в сущности дать повод пересмотреть вопрос о сближении легумина с казеином; так, он сам впоследствии констатировал, что легумин растворим в соляных растворах (в отличие от казеина). Также хорошо было известно Риттгаузену, что значительные количества легумина переходят из измельченных семян в водную вытяжку; он объяснял это действием фосфорнокислых щелочей, находящихся в семенах.

Ставшее ясным впоследствии непостоянство содержания Р в разных препаратах легумина и растворимость его в соляных растворах заставили причислить его к глобулинам (см. выше классификацию автора и Осборна); однако, и тут вкралась впоследствии известная условность: как показал Осборн, при обычных способах добывания получается обычно та или иная соль легумина, напр., если его осаждают HCl из щелочного раствора, то оседает соединение белка (самого по себе имеющего скорее щелочные свойства) с соляной кислотой, количество которой очень невелико, этот осадок и обладает свойствами типичного глобулина в смысле растворимости в соляном растворе, но не в воде. Но, если его взмутить в воде и прилить ровно столько щелочи, чтобы отнять всю HCl, то получается свободный легумин, который оказывается очень хорошо растворимым в воде и обладающим основными свойствами (это явление раньше истолковывалось, как растворение щелочной соли легумина).

Интересно, что эти позднейшие работы подтвердили формулировку самых первых исследователей легумина, именно Врасоннот (1827), который считал легумин основанием, а препараты его, получаемые осаждением кислотой, солями (он говорил, напр., об азотно-кислом легумине), он заметил также, что если водную вытяжку из семян бобовых осаждают серной кислотой, то при осторожном приливании кислоты можно уловить момент, когда жидкость имеет нейтральную реакцию, а легумин (его соль) уже выпадает; у Либиха также имеются указания на образование солей легумина, как основания, с кислотами, но потом эти наблюдения не были достаточно использованы.

Легумин является видимо распространенным в зернах бобовых, так как он в большом количестве содержится не только в горохе (*Pisum sativum*), но и в зернах вики (*Vicia sativa*), бобов (*Vicia Faba*) и чечевицы (*Ervum Lens*); по крайней мере препараты из всех этих семян обнаруживают чрезвычайное согласие в свойствах и химическом составе.

В данных элементарного анализа невозможно подметить каких-либо различий, выходящих заметно за пределы обычных погрешностей:

	Горох.	Вика.	Бобы.	Чечевица.
C	51,74	51,69	51,72	51,73
H	6,90	6,99	7,01	6,89
N	18,04	18,02	18,06	18,06
S	0,42	0,43	0,39	0,40
O	22,90	22,87	22,82	22,92

Осборн пробовал также анализировать разные фракции, полученные при осаждении легумина сернокислым аммонием, и получил постоянные результаты, что доказывает однородность препарата.

Растворимость легумина из всех четырех названных видов семян также одинакова; его растворы в 10% NaCl не свертываются даже при кипячении, если не прибавлено кислоты; насыщение NaCl или MgSO₄ не вызывает осаждения; сернокислый аммоний осаждает легумин между 46% и 60% от насыщения (5,2 — 7,2 к. с.).

При гидролизе также не констатируется различий между легумином из гороха, вики, чечевицы и бобов; так, Осборн приводит такое распределение азота по главным группам.

	Азот аммиачн.	Азот аминокисл.	N оснований.
Горох	1,68	10,85	5,11
Вика.	1,75	10,90	5,17
Чечевица.	1,69	11,03	5,16
Бобы	1,62	11,34	4,92

Детальные данные относительно выходов отдельных продуктов гидролиза также не дают определенных различий между препаратами легумина разного происхождения (см. таблицу).

Продукты гидролиза белков семян бобовых.

	Легумин из		Вици-	Легуме-	Фазео-	Глици-
	гороха.	вики.	лин.	лин.	лин.	нин.
Гликоколь	0,38	0,39	0,0	0,50	0,55	0,47
Аланин	2,08	1,15	0,50	0,92	1,80	?
NH ₂ -валерьян. к.	?	1,36	0,15	0,69	1,04	0,68
Лейцин	8,00	8,80	9,38	9,63	9,65	8,45
Пролин	3,22	4,04	4,06	3,96	2,77	3,78
Фенил-аланин . .	3,75	2,87	3,82	4,79	3,25	3,86
Аспарагинов. к..	5,30	3,21	5,30	4,11	5,24	3,89
Глутаминовая . .	16,97	14,30	21,34	12,96	14,54	19,46
Серин	0,53	?	?	?	0,38	?
Тирозин	1,55	2,42	2,38	1,56	2,84	1,86
Аргинин	11,71	11,06	8,91	5,45	4,87	5,12
Гистидин	1,69	2,94	2,17	2,27	2,62	1,39
Лизин	4,98	3,99	5,40	3,03	4,58	2,71
Триптофан	+	+	+	+	+	+
Аммиак	2,05 ¹⁾	2,12 ¹⁾	2,03	1,26	2,06	2,56

Кроме легумина, в зернах гороха, бобов и чечевицы содержится в меньших количествах еще один глобулин, так наз. *вицилин* от *Vicia* (однако он найден лишь в *Vicia Faba*, а не в *Vicia sativa*). Вицилин отличается способностью свертываться при нагревании соляного раствора до 95°—100° без прибавления кислоты; он растворим в весьма слабых растворах солей (2% NaCl является хорошим растворителем, даже 1% действует значительно), при осаждении (NH₄)₂SO₄ он требует больших концентраций, чем легумин (70% и выше); это свойство используется для их разделения.

В элементарном анализе характерны низкие цифры для серы: С—52,29%, Н—7,03%, N—17,43%, S—0,17%, O—23,08%.

Этот состав является общим для препаратов вицилина из всех трех названных растений.

Продукты гидролиза см. стр. 134.

Легумин и вицилин сопровождаются в семенах бобовых *легумелином*, который во многом напоминает альбумин — при диализе он

¹⁾ Общая сумма при этих двух учетах около 62%, что свидетельствует о приблизительности учетов (а потому и трудно решить, можно ли придавать значение различиям между легумином из гороха и вики).

остается в растворе после выпадения других глобулинов (нужно очень полное удаление соли, чтобы легумелин стал выпадать). Количества его не велики, именно в горохе — 2%, вике — 1,50%, в чечевице и бобах 1,25%. Элементарный анализ дает во всех случаях очень близкие цифры, в среднем С—53,31%, Н—6,97%, N—16,26%, S—1,08%, O—22,38%; здесь меньше азота и больше серы, чем в легумине.

Относительно продуктов гидролиза см. стр. 134.

Кроме собственно белков, в семенах названных бобовых содержатся еще в небольшом количестве альбумозы (протеозы), именно около 1% в горохе и 0,50% в остальных трех растениях.

Phaseolus vulgaris. Риттгаузену было известно, что «легумин» фасоли значительно беднее азотом, чем легумин гороха, и напоминает по составу скорее альбумин (кроме впрочем S, содержание которой невелико). Осборн, изучая свойства этого белка, отнес его к классу глобулинов и назвал *фазеолином*; он растворим в слабых соляных растворах, при диализе может быть получен в мелких октаэдрических кристаллах, но чаще выпадает в виде сфероидов; в воде он нерастворим, из 10% раствора NaCl он, в отличие от большинства растительных глобулинов, не осаждается кислотами (но в 1% растворе осаждение происходит). Свертывание при 100° в нейтральном растворе неполное, границы осаждения (NH₄)₂SO₄ между 6,4 и 8,8 к. с. Элементарный состав по Осборну: С—52,66%, Н—6,93, N—15,83%, S—0,36%.

Продукты гидролиза (см. стр. 134).

Зерна фасоли содержат свыше 15% фазеолина. Кроме того, в них содержится около 2% (или несколько более) другого белка, относительно которого Осборн не решается сказать, следует ли его отнести к глобулинам или альбуминам, так как для его удаления из раствора приходится вести диализ слишком долго и трудно избежать частичного денатурирования. Состав этого белка (*фазелин* Осборна) таков: С—51,60, Н—7,02, N—14,65, S—0,49, O—26,24. Растворы фазеолина в NaCl свертываются при нагревании, начиная с 68°, прибавление кислот вызывает появление осадка без нагревания.

Протеозы содержатся в зернах фасоли в ничтожном количестве.

Из других видов фасоли Осборн исследовал семена *Phaseolus radiatus*, содержащие фазеолин и легумелин.

Soja (Glycine) hispida. Измельченные и обезжиренные семена дают значительные количества белка уже при извлечении водой; экстракт реагирует слабо кисло, при нейтрализации не дает осадка, при подкислении — обильный осадок, легко растворимый в соляных растворах. Осборн нашел, что здесь содержатся два глобулина, составляющих особенность данного объекта, и, кроме того, леугмелин.

1-й глобулин (глицинин) растворим уже в 2% NaCl, в 10% растворе выносит кипячение без свертывания; состав C—52,12, H—6,93, N—17,53, S—0,79, O—22,63%; по продуктам гидролиза глицинин отличается от леугмина меньшим содержанием оснований (см. стр. 134).

2-й глобулин еще более растворим в слабых растворах солей, не осаждается из 10% NaCl кислотами (в отличие от глицинина), но при кипячении нейтрального раствора свертывается; содержит на 1% меньше азота, чем глицинин.

Леугмелина (см. выше) в сое содержится немного (около 1,5%) и еще менее — альбумозы (протеозы).

Vigna sinensis содержит два глобулина, не тождественные с другими, ранее описанными; имеются данные элементарного состава и учет продуктов гидролиза (Осборн); кроме того, здесь содержится леугмелин.

Земляной орех (*Arachis hypogaea*). Белки этого бобового, еще более богатого маслами, чем соя, были исследованы Риттгаузенем, который воспользовался обращающимися в торговле жмыхами *Arachis*; после обработки эфиром материал этот содержал 11,3% азота, что отвечает 61% белка (считая в нем 18,5% N). Извлекая белок слабой щелочью и осажда уксусной кислотой, Риттгаузен получил препарат такого состава:

C—51,52, H—6,71, N—18,48, S—0,55, O—22,74%.

Количество так добытого белка составляло 85% от всего «сырого протеина» (считая по азоту).

Те же результаты дало извлечение баритовой или известковой водой, 10% NaCl на холоду извлекал значительные количества белка, который можно было осадить водой или пропусканием CO₂; нагретый соляной раствор выделял обильный осадок белка при охлаждении. Попытка получить белок *Arachis* в кристаллах не уда-

лась Риттгаузену. Исследования Осборна на *Arachis* не распространялись.

Lupinus luteus и *angustifolius*. Риттгаузен первый подверг исследованию белковые вещества семян люпинов, стоящие несколько особняком от белков других бобовых; первоначально он пользовался щелочными вытяжками, из которых белок осаждался кислотой, а затем пользовался соляными растворами, при чем получил препараты почти тех же свойств; он назвал главный белок люпинов, растворимый в присутствии солей конглютином, предполагая, что, кроме того, содержится в меньшем количестве и леугмин. Палладин отметил известное сходство белка люпинов с альбумозами (малая склонность свертываться при кипячении), но так как это свойство общее с многими другими белками семян, то Осборн причисляет конглютин к глобулинам, наряду с белками других бобовых. По Осборну, конглютин (conglutin α) представляет главный, но не единственный белок в семенах люпина; ему сопутствует небольшое количество другого глобулина (который Осборн обозначает как conglutin β), также небольшое количество белка со свойствами альбумина, а часть белка остается неизвлеченной нейтральными растворителями и поддается действию щелочи (из 1000 g. измельченных семян выделено было 270 граммов conglutin'a α, 12,2 g. conglutin'a β, 4,2 g. альбумина и 60,5 g. белка, ближе неизученного, извлекаемого щелочным раствором).

Конглютин (α) в 10% растворе NaCl дает обильный осадок при разбавлении двойным объемом воды; при насыщении раствора NaCl, MgSO₄ или Na₂SO₄ не оседает.

При нагревании 10% раствора конглютина до 100° не наблюдается свертывания; но при более долгом нагревании образуется прозрачная пленка на поверхности; при долгом стоянии нагретого раствора на холоду он дает студень (Палладин, Осборн).

При диализе конглютин (α) легко выпадает, образуя массу, отчасти напоминающую клейковину; также при охлаждении насыщенных соляных растворов он способен оседать в виде спайной массы или густого сиропа.

Другой глобулин (конглютин β), слабее представленный, отличается большей растворимостью в разведенных соляных растворах, более высоким пределом осаждения (NH₄)₂SO₄ — от 0,7 до 1, а также элементарным составом (особенно — высоким содержанием серы):

	C	H	N	S	O
α . . .	50,91	6,88	17,93	0,52	23,76
β . . .	49,58	6,86	18,27	1,42	23,93

Приведенные наблюдения относятся преимущественно к семенам желтого люпина; почти те же соотношения наблюдаются и для синего люпина, хотя Осборн полагает, что полной тождественности белков того и другого вида все же нет.

3. Белковые вещества семян, богатых маслом.

Cannabis sativa. Наличие белка в семенах конопли констатировал в 1806 г. Buchholz (цит. у Осборна), но ближе его свойства долго не привлекали к себе внимания, пока Ritthausen (1881) не показал, что при обработке обезжиренных семян теплым раствором NaCl (5%) можно извлечь из них большие количества белка, который по охлаждении раствора выпадает в октаэдрических кристаллах. Риттгаузен считал этот белок тождественным с полученным из семян тыквы. Позднее Риттгаузен нашел, что кристаллический белок может быть легче получен, если извлечение вести 10% NaCl при комнатной температуре, затем экстракт разбавить теплой водой до начала появления мути; тогда слегка подогреть до исчезновения мути и затем медленно охлаждать; тогда большая часть белка осядет из раствора в правильных кристаллах.

Риттгаузен извлекал также белок из семян конопли щелочью и, осаждавая кислотой, получил препарат, близкий по составу и свойствам к предыдущим, из чего можно было заключить, что щелочь извлекает тот же (или, главным образом, тот же) белок, как и соляные растворы.

Осборн получал хорошие выходы кристаллического белка путем диализа соляного раствора, при этом он нашел, что полезно прибавить к соляному раствору немного баритовой воды, чтобы уменьшить кислую реакцию, получающейся затем вытяжки; с помощью соляных растворов удавалось извлечь в лучшем случае около 13% кристаллического белка (считая в % от навески обезжиренного материала); а так как по определению азота там должно быть около 24% белка (считая 18,5% N, как в эдестине), то отсюда Осборн заключает, что эдестин (или вообще глобулин) не есть единственный белок семян конопли.

Этот белок теперь известен под именем эдестина; этим именем нередко обозначают целую группу родственных глобулинов из семян масличных растений, но Осборн предлагает приурочить это название только к глобулину семян конопли.

Элементарный состав эдестина повторными анализами разных авторов установлен с достаточной определенностью, так, напр., в нем содержится:

	C	H	N	S	O
по Риттгаузену .	50,98	6,92	18,73	0,82	22,55%
» Осборну . . .	51,26	6,86	18,84	0,87	22,17%
» Абдергальдену.	51,21	6,87	18,64	0,91	22,37%

По содержанию азота и углерода здесь заметно сходство с ранее приведенным составом других глобулинов (злаковых и бобовых). Если некоторые авторы находили больше серы в эдестине, то это зависело, очевидно, от его способности давать соли с разными кислотами, в том числе и с серной кислотой. Соли эдестина близки к нему по многим свойствам, но в отношении растворимости могут проявлять заметные отличия, которые и привели к обнаружению причин расхождения в растворимости разных препаратов эдестина. Так, еще Риттгаузен наблюдал, что при промывании препаратов эдестина водой, часть вещества в ней растворяется, и этот раствор дает осадок при смешении с тем соляным раствором, из которого выпал эдестин. Осборн заметил, что растворимая в воде часть обнаруживала более кислую реакцию по отношению к фенол-фталенину, чем нерастворимая: 1,4 к. с. децинорм. раствора вместо 0,7 к. с.; взмучивая в воде препарат эдестина и приливая столько щелочи (KON), чтобы реакция была нейтральной на фенол-фталенин, Осборн получил, с одной стороны, совершенно нерастворимый в воде свободный эдестин, а в растворе калиеву соль той кислоты, которая была связана с эдестином (если последний осаждался из раствора NaCl, то это была HCl, если из раствора Na₂SO₄, то H₂SO₄ и т. д.); таким образом, растворимая в воде модификация представляет ту или иную соль эдестина, сам же он растворимостью в воде не обладает.

Если свободный эдестин в тонком порошке взбалтывать с водой, то нужно прибавить 1,4 к. с. децинорм. раствора кислоты (соляной,

уксусной, азотной, фосфорной) на грамм белка, чтобы перевести его в раствор¹⁾.

Если растворять эдестин с помощью едких щелочей, то на 1 г. белка требуется около 0,7 к. с. децинорм. раствора, аммиака же нужно гораздо больше для достижения того же эффекта. Вообще эдестин проявляет свойства довольно сильного основания по отношению к кислотам, и довольно слабой кислоты по отношению к основаниям (это можно поставить в связь с большим содержанием аргинина в его частице).

По Осборну эдестин образует с соляной кислотой два соединения, монохлорид и дихлорид (0,7 и 1,4 к. с. $\frac{1}{10}$ норм. HCl), и именно дихлорид отличается растворимостью в воде (и глицерине).

Вероятно возможны соединения и с большими количествами кислоты, но их трудно изучать, так как при введении избытка кислоты начинается частичное изменение эдестина, его денатурирование, что сказывается прежде всего на отношении к растворителям: измененная часть становится нерастворимой в растворах солей, следовательно, уже не представляет из себя глобулина, каковым является неизменный эдестин.

При нагревании раствора эдестина в 10% NaCl замечается помутнение при 89° и образование осадка от свертывания между 93° и 100°; но выпадение в нейтральном растворе весьма не полное; подкисление фильтрата дает вновь обильное выпадение. При нагревании нейтрального раствора эдестина замечается перемена реакции в сторону щелочности: 10 г. эдестина требуют через 3 часа нагревания раствора 52,6 к. с. децинормальной уксусной кислоты для нейтрализации (при чем происходит выпадение уже довольно полно). Причина возрастания щелочности по мере нагревания ближе не выяснена, но во всяком случае она лежит не в отщеплении аммиака от белковой молекулы, как это доказал Осборн (возможно, что щелочность зависит от более скорого отщепления оснований, чем аминокислот при начинающемся гидролизе; в особенности видную роль при этом может играть аргинин).

При окончательном гидролизе эдестин дает такое распределение азота по группам.

¹⁾ С серной кислотой дело обстоит несколько иначе, в виду меньшей растворимости ее соли с эдестином.

Всего N.	Азота NH ₃ .	N аминокислот.	N оснований.
18,64%	1,88%	10,78%	5,91%

Видимо $\frac{1}{10}$ атомов азота находится в положении ином, чем остальные, будучи источником аммиака (группы CONH₂).

Выходы отдельных аминокислот приведены в таблице; особенно характерным является высокий процент аргинина, впрочем составляющий общую черту с другими глобулинами масличных.

Продукты гидролиза глобулинов из семян, богатых маслом:

	Конопля.	Тыква.	Хлопчат- ник.	Bertholetia.	Миндаль.
Гликоколь	3,80	0,57	1,20	0,60	0,51
Аланин	3,60	1,92	4,50	2,33	1,40
Амино-валерианов. к-та.	6,20	0,26	—	1,51	0,16
Лейцин	14,50	7,32	15,50	8,70	4,45
Пролин	1,70	2,82	2,30	3,65	2,44
Фенил-аланин	2,40	3,32	3,90	3,55	2,53
Аспарагиновая	4,50	3,30	2,90	3,85	5,42
Глютаминовая	14,50	12,55	17,20	12,94	23,14
Серин	0,33	?	0,40	?	?
Тирозин	2,13	3,07	2,30	3,03	1,12
Цистин	1,00	0,23	?	?	?
Лизин	1,65	1,99	2,06	1,64	0,70
Гистидин	2,19	2,42	3,46	2,50	1,58
Аргинин	14,17	14,44	13,51	14,29	11,85
Триптофан	—	—	—	—	—
Аммиак	2,28	1,55	2,33	1,80	3,70

Осборном было более подробно, чем для других белков, исследовано денатурирование эдестина под влиянием различных факторов; так, при соприкосновении с кислотами обычно ожидают образования «кислотных альбуминатов», но оказалось, что если растворить эдестин с помощью HCl и осадить затем введением NaCl, то осадок не весь сохраняет способность растворяться в нейтральных растворах NaCl; если опыт повторить, то из растворимой порции опять часть сделается нерастворимой, но при этом измененный белок («эдестан») не есть «кислотный альбуминат», так как он не растворяется в разведенных щелочах. Не только сильные ки-

слоты, но и органические кислоты семян и даже углекислота (хотя и в меньшей мере) способствуют денатурированию; так, введение углекислоты в вытяжку повышало % «эдестана», образовавшегося за 6 часов с 4,35% до 6,75%; повышение температуры значительно усиливало процесс денатурирования (при 50° в 8 раз больше, чем при 20°). Элементарный состав эдестана не отличается заметно от состава эдестина, но его способность связывать кислоты возрастает в три раза по сравнению с эдестином (моноклоридом).

Щелочи не столь легко денатурируют эдестин, как кислоты; спирт также не оказывает того действия, какое сильно проявляется на некоторых белках животного происхождения (яичный альбумин). Выше уже указывалось, что и свертывание под влиянием нагревания у эдестина обычно происходит весьма неполно.

Наблюдения над эдестином сохраняют силу и по отношению ко многим другим глобулинам, заключающимся в семенах.

Тыква (*Cucurbita pepo*). Если измельченные и обезжиренные семена тыквы обработать слабым раствором КОН и затем осадить белки, нейтрализуя кислотой, то осадок почти нацело растворяется в 10% растворе NaCl; следовательно, здесь содержатся исключительно (или почти исключительно) глобулины (Bayeri). Осборн вел извлечение 2% раствором NaCl при 60°, охлаждая фильтрат до 10°, он получил кристаллический глобулин состава, близкого к эдестину.

C	H	N	S	O
51,42	6,83	18,64	0,90	22,21

Эти данные согласны с рядом анализов других исследователей.

Если не принять особых мер, то препараты, полученные с помощью соляных растворов глобулина, содержат около 0,47% хлора; Осборн полагает, что это указывает на наличие солеобразного соединения с хлористо-водородной кислотой, как и в случае эдестина (% хлора тот же самый). Поэтому требуют пересмотра те прежние указания относительно действия основания на глобулин тыквы, где это обстоятельство не принято во внимание¹⁾.

¹⁾ Так, Crübler, взмучивая в воде порошок глобулина и прибавляя магнезию до начала проявления щелочной реакции, затем, при охлаждении подогретой до 40° жидкости, наблюдал выпадение мелких кристалликов с несколько иными свойствами, чем исходный глобулин; они содержали 0,46% MgO, и Crübler

Osborne и Claff изучали продукты гидролиза кристаллического препарата глобулина тыквы (эти данные приведены в таблице на стр. 141); по высокому содержанию аргинина замечается сходство с эдестином, в остальном наблюдаются различия, хотя и нерезкого характера.

Лен (*Linum usitatissimum*). Семена льна богаты белками (известно, что льняные жмыхи представляют ценный корм для животных), но изучение их наталкивается на трудности двоякого рода; с одной стороны, обилие слизистых веществ затрудняет фильтрование вытяжек, заставляет брать малые навески и большие объемы растворителя; с другой же стороны, белковые вещества этих семян очень неустойчивы (или ферменты очень активны), и чрезвычайно легко наступает гидролиз во время операций по извлечению белков.

Осборн наблюдал, что при применении 10% раствора NaCl и затем 0,2% КОН в вытяжку переходило около 93% всех белков (считая по N), но затем удавалось выделить лишь около половины извлеченного количества. Затем им был поставлен такой опыт: 100 граммов обезжиренной муки были взмучены в 1½ литрах воды, и жидкость подвергнута диализу, при чем диализат исследовался через каждые 8 часов; содержание азота в последовательных порциях оказалось следующим:

1.	0,1808 g.	4.	0,3445 g.
2.	0,3077 "	5.	0,3417 "
3.	0,2577 "	6.	0,3042 "

В сумме через 48 часов было удалено диализом 1,7366 g. азота (что составляет около ¼ от всего азота навески).

Белки льняных семян носят несомненно характер глобулинов; однако и водная вытяжка извлекает значительное количество их, не удерживая впрочем надолго в растворе: при стоянии профильтрованной вытяжки замечается помутнение, и большая часть растворенного белка выпадает в октаэдрических кристаллах; то же самое быстрее достигается подкислением водной вытяжки или насыщением ее серно-кислым аммонием; осажденный белок, кристаллизующийся в октаэдрах, уже ведет себя как типичный глобулин,

принял их за магниезальное соединение; между тем возможно, что взмучиванию подвергалась соль глобулина, а после обработки магнезией (или известью) получался свободный глобулин.

растворяясь только в соляных растворах. Осборн объясняет все эти явления также, как в случае легумина — образование солеобразного соединения с небольшим количеством кислоты придает этому белку свойства обычного глобулина, в свободном же состоянии он растворим в воде.

Осборну удалось из теплой водной вытяжки осадить в кристаллах около 10% белка (в % от навески обезжиренной муки), а затем еще соляным раствором извлечь 6—7% кристаллического глобулина (извлечение же едкой щелочью и осаждение кислотой давало около 32% нерасчлененной смеси белков, в тех же процентах).

Выделенный разными методами глобулин семян явно обнаружил тот же состав: С—51,48, Н—6,99, N—18,60, S—0,81, O—22,17. Состав этот совпадает с составом эдестина конопли и глобулинов тыквы и клеверины, но по другим признакам тождественными их считать все же нельзя.

При гидролизе получается из всего азота (18,48%) в виде аммиака 2%, в основаниях — 4,77%, в аминокислотах—11,47%; есть ясная реакция на триптофан, углеводной группы и фосфора нет; ближе продукты гидролиза не изучены. Насыщение NaCl не дает полного выпадения; границы осаждения $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ лежит между 3,1—4,7 к. с. Если нейтрализовать (по фенол-фталейну) взмученный в воде глобулин, отнимая раствором щелочи связанную с ним кислоту, то он становится растворимым в воде, как и свободный легумин.

Кроме этого главного глобулина, льняные семена содержат в меньших количествах еще один глобулин (или альбумин), ближе не изученный (он легче выделяется избытком солей); также в вытяжках содержатся и альбумозы, которые, однако, могут образоваться на счет других белков во время приготовления и фильтрации вытяжек.

Подсолнечник (*Helianthus annuus*). Лишенные оболочек и измельченные семена подсолнечника по извлечении жира содержат около 54% белков (если исходит при расчете из 18,2% N).

Ritthausen'у удалось слабой щелочью и осаждением кислотой получить около 45% белка, при извлечении же раствором NaCl и осаждением CO_2 —лишь около 25%. Osborne и Campbell пользовались для выделения белков как диализом соляной вытяжки, так и насыщением ее NaCl, но заметили некоторое непостоянство состава разных препаратов, особенно по отношению к сере: Риттгаузен нашел

0,61%, у названных авторов получалось от 0,78 до 0,97% S. Одной из причин этого непостоянства Осборн считает содержание таннина, от которого не удается освободить препараты, полученные простым применением соляных растворов: только извлекая обезжиренную муку большим количеством спирта при 75°, Осборн мог избавиться от этого источника погрешности, при чем анализ препарата глобулина дал такие цифры:

С	Н	N	S	O
51,64	6,99	18,58	1,00	21,89

С водой (в отсутствии солей) этот глобулин образует, набухая, пластичную массу, но не растворяется в ней; раствор в 10% NaCl сполен осаждается насыщением MgSO_4 и лишь отчасти—NaCl; при нагревании раствор мутнеет, начиная с 90°, дает осадок с 93°, но белок не выпадает сполен и при 100°.

При гидролизе из 18,58% N получается 2,57% N аммиака, 4,27% азота оснований, 11,52% N аминокислот, что указывает на известное различие от эдестина конопли. Выход отдельных продуктов гидролиза приведен в таблице, но данные не полны и не сравнимы, так как получены разными авторами (Осборн получил другой выход глютаминовой кислоты, именно 21,79%).

Bertholletia excelsa (Американский орех). Плоды *Bertholletia* содержат белок в кристаллических образованиях, включенных в алеуиновые зерна; Maschke (1859) первый показал, что можно искусственно кристаллизовать этот белок после его извлечения, при чем предположил, что кристаллы представляют соединение белка с кислотой. Саксе нашел, что можно извлечь белок алеуиновых зерен («кристаллоиды») теплой водой (35° C) и осадить снова в кристаллах, пропуская в воду ток углекислоты.

Schmiedeberg наблюдал, что если этот осадок взболтать в теплой воде с MgO, то он растворяется, а при осторожном выпаривании при 35° большая часть белка выпадает в хорошо образованных кристаллах; он счел эти кристаллы за соединение белка с MgO, хотя не дал прямых доказательств этого. Дрексель нашел в них 1,47% MgO, и с тех пор многие авторы считали мнение Schmiedeberg'a подтвержденным.

Однако подобная кристаллизация может быть доступна и без введения MgO; именно, Осборн приготавливал вытяжку с помощью соляного раствора, осаждал белок $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, вновь растворял в сла-

бом растворе NaCl и затем, удаляя соль диализом, получал прекрасные кристаллические препараты белка, названного им *эксцельзином*; так как эти препараты содержали очень мало золы, то они не могли быть соединением белка с основаниями; Осборн скорее допускает соединение с небольшим количеством кислоты, потому что реакция по фенол-фталейну слабо-кислая, и если взмученный в воде белок нейтрализовать щелочью по фенол-фталейну, то эдестин весь переходит в водный раствор.

Поэтому Осборн полагает, что в ранее описанных опытах MgO отнимала кислоту, связанную с эксцельзином, и он становился растворимым в воде, не вступая в соединение с MgO. Точно также осаждение CO_2 из водного раствора напоминает опыт с эдестином (стр. 116); очевидно водная вытяжка содержит небольшие количества соли, минеральных или органических кислот, и углекислота осаждает соль белка с той или иной из кислот.

Элементарный состав эксцельзина хорошо установлен многими анализами, которые дают согласные цифры для препаратов, полученных разными методами; так, Осборн получил один препарат диализом белков соляной вытяжки после осаждения их $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, другой — прямым диализом соляной вытяжки, третий — охлаждением водной вытяжки (60°) до 5°C ; анализ дал следующее:

	C	H	N	S	O
№ 1-й (кристаллы):	52,18	6,92	18,30	1,06	21,54
№ 2-й (сфероиды):	52,35	6,96	18,16	1,12	21,41
№ 3-й (сфероиды):	52,16	6,98	18,32	1,07	21,46

Свертывание эксцельзина при нагревании идет неполно; при 70° появляется муть, при 80° начинают выпадать хлопья, количество которых медленно растет при нагревании до 100° .

Границы осаждения сернокислым аммонием Осборн определяет как 32 и 46% от полного насыщения этой солью.

При гидролизе получается 1,48% N в виде NH_3 , 5,76% N — в форме оснований и 10,97% — в виде аминокислот.

Учет отдельных продуктов дан Осборном и его сотрудниками (см. таблицу на стр. 141); богатство аргинином является общей чертой эксцельзина с другими глобулинами масличных, в остальном же имеются частичные различия.

Эксцельзин является главным, хотя повидимому не единственным белком семян *Bertholletia*, но сопутствующие ему белки (и альбумозы) пока не исследованы.

Клещевина (*Ricinus communis*). Семена этого растения богаты кристаллическим белком, а, кроме того, они содержат очень ядовитое вещество или очень трудно отделимое от белка (альбумина), или являющееся также белком.

Риттгаузен нашел, что часть белков клещевины извлекается водой (около 17% от обезжиренной муки), часть — соляным раствором (около 30%), часть же — лишь щелочами; однако элементарный состав для двух последних фракций оказался тождественным, для первой же характерно меньшее содержание азота, большее — углерода.

Осборн и его сотрудники точнее описали глобулин, альбумин и протеозы семян клещевины.

Для получения глобулина Осборн извлекал обезжиренную муку или 10% раствором NaCl при 20° и подвергал экстракт диализу, при чем выпадала смесь кристаллов и сфероидов; или же применял подогретый раствор (60°), выделявший глобулин при охлаждении, или осаждал глобулин избытком солей; во всех случаях получались препараты того же состава:

C — 51,31, H — 6,97, N — 18,75, S — 0,76, O — 22,21.

Так как не наблюдалось различий и в других отношениях, то Осборн заключает о наличии здесь одного лишь глобулина (частичные различия могут проистекать от образования солей с кислотами, что придает глобулину способность растворяться в воде, как и в случае эдестина).

При осаждении $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ границы осадений лежат между 3,1 — 4,5 к. с.; при нагревании свертывание неполное, как и во многих других случаях; при гидролизе получается азота: 1,96% в виде NH_3 , 5,64% в основаниях, 11,00 в аминокислотах.

Из продуктов гидролиза Осборном учтена глютаминовая кислота (14,5%), аргинин (13,2%), гистидин (2,74%) и лизин (1,54%).

Альбумин имеет другой состав: он, как обычно, беднее глобулина азотом и богаче серой:

C — 52,01, H — 7,02, N — 16,56, S — 1,29, O — 23,12%.

При гидролизе распределение азота получается такое: аммиак — 1,74%, основания — 4,29%, аминокислоты — 10,42%; более подробные данные отсутствуют.

С этим белком своеобразно связана ядовитость вытяжек из семян клещевины. Осборн наблюдал, что только те фракции были ядовиты, которые содержали растворимый в воде белок, свертывающийся при кипячении, и повидимому ядовитость возрастала с количеством альбумина.

Имеются, однако, данные другого рода; так, Воронцов (Юрьев, лаборатория проф. Лаврова) наблюдал, что вытяжки соляными растворами более ядовиты, чем водные, и что при диализе первых ядовитость уменьшается по мере продолжения опыта (и выпадения глобулина).

Кроме этого «токсальбумина», семена клещевины содержат значительные количества альбумозов, около 3,85% (считая на обезжиренную массу); Осборном получено несколько фракций, при разном насыщении сернистым аммонием; не входя в различие между ними, приведем лишь элементарный состав одного из препаратов, в котором отразились общие черты этой группы (очень много S, пониженный % C, повышенный — O):

C — 48,41, H — 6,26, N — 18,82, S — 2,63, O — 23,88%.

Хлопчатник (*Gossypium herbaceum*). Osborne и Voorhees нашли, что обезжиренные семена (без оболочек) отдают водной вытяжке 2% N, 10% раствору NaCl — 42,3% N и раствору едкой щелочи — 44,3% N, откуда следует, что эти семена бедны альбумином и альбумозами и богаты глобулином.

Как раньше Риттгаузену, так и названным авторам не удалось получить глобулин в кристаллах; при диализе или охлаждении соляного раствора он выпадает в сфероиды; 6 последовательных фракций не обнаружили заметных различий по свойствам и составу, который в среднем таков:

C — 51,71, H — 6,86, N — 18,64, S — 0,62, O — 22,17%.

При гидролизе, помимо распределения азота по трем родам соединений (1,92% в аммиаке, 5,71% в основаниях, 11,01% в аминокислотах), были учтены выходы отдельных продуктов; сопоставление этих данных (полученных разными авторами) указывает, с одной стороны, на высокое содержание аргинина и глютаминовой кислоты (см. таблицу на стр. 141), ~~общее с другими глобулинами этой группы,~~ а в то же время — на наличие индивидуальных черт у данного глобулина.

Характер остальной части белков семян хлопчатника ближе не изучен.

Миндаль, персик и слива (*Prunus amygdalus, persica* и *domestica*). В маслянистых семенах этих растений содержится глобулин, описанный Осборном под именем *амандина*; он характеризуется высоким содержанием азота, как показывает следующий анализ Осборна:

C — 51,41, H — 6,86, N — 19,47, S — 0,39, O — 21,87.

По выходу продуктов гидролиза он отличается от предшествующих глобулинов этой группы высоким % глютаминовой кислоты, значительно меньшим содержанием лейцина и несколько меньшим — аргинина.

Из соляного раствора амандин выпадает в виде мелких сфероидов, которые образуют на дне сосуда пластичную массу; но если их промыть холодной водой и обезводить спиртом и высушить, то получается амандин в виде белого тонкого порошка (нагретый с небольшим количеством воды до 98° такой препарат как бы сплавляется в прозрачную мягкую массу). Раствор в 10% NaCl мутнеет при 75° и дает сверток при 80°, постепенно увеличивающийся при дальнейшем нагревании. Сухой препарат амандина легко растворяется в концентрированном глицерине, давая прозрачную жидкость; обратно белок осаждается спиртом.

Смотря по приготовлению, амандин обнаруживает большую или меньшую растворимость в воде; при подкислении водных вытяжек получается осадок, сохраняющий свойства глобулина. Осборн полагает, что здесь замешано то же явление, что и в случае легумина, т.-е. образование солей или с той кислотой, щелочная соль которой употреблялась при извлечении (напр., NaCl), или с кислотами, содержавшимися в растении, или образовавшимися при стоянии вытяжки (брожение или энзиматические процессы); если нейтрализовать всю кислоту, связанную с амандином, титрованием по фенолфталеину, то свободный белок оказывается хорошо растворимым в воде, соединение же с кислотой ведет себя как типичный глобулин, т.-е. растворяется только в присутствии солей¹⁾.

1) Амандин описывался не раз до Осборна, иногда под другими названиями, давно привлекая к себе внимание исследователей; так, в 1802 г. Reust наблюдал, что «миндальное молоко» давало сгусток при кипячении при введении кислот и спирта, откуда он заключил о присутствии здесь белка, и первый назвал его амандином (хотя и находил в нем много сходства с казеином). Soube-

Лесной орех (*Corylus avellana*). Белком этих семян интересовались еще Dumas и Cahours (1842), а затем Риттгаузен (1881), показавший, что обезжиренная мука лесного ореха отдает воде значительное количество белков (около половины общей суммы белков, извлекаемой щелочами). Осборн пользовался осаждением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ соляных экстрактов и последующим диализом, получая так около 11% глобулина с 18,9% N (всех белков в обезжиренной массе около 30%); по учету же азота Осборн нашел, что водная вытяжка уносит 75% и соляная (10% NaCl)—86%. Почему не удается получить в осадках больше белка (принадлежит ли значительная часть азота небелковым соединениям, или белки легко подвергаются гидролизу при самом приготовлении вытяжек), осталось невыясненным.

Элементарный состав глобулина *Corylus* («корилина») по Осборну таков:

C — 51,40, H — 6,54, N — 19,03, S — 0,55, O — 22,48%.

Продукты гидролиза систематически не изучались, для глутаминовой кислоты Осборн дает выход в 17,94%.

Раствор корилина в 10% NaCl мутнеет при 80° и свертывается при 99°; насыщение NaCl его не осаждает, MgSO_4 лишь отчасти.

Грецкий орех (*Juglans regia*). Еще Ritthausen отметил, что оболочка семян этого ореха содержит много дубильных веществ, которые делают нерастворимым значительную часть белка и мешают получению чистых препаратов; если же удалить оболочки, то и водная и соляная (NaCl) вытяжка извлекают значительные количества белка, который был Риттгаузенем исследован.

Осборн нашел, что тот же белок («*Juglansin*») содержится также у *Juglans nigra* и *J. cinerea*, что он отличается от «корилина» меньшими выходами аммиака при гидролизе.

igap в 1826 г. счел этот белок за растительный альбумин, а Dumas и Cahours (1842), осаждавая водную вытяжку из миндаля кислотами, считали осадок за леугмин, полагая, что небольшие различия в составе с леугмином из гороха зависят от разной чистоты препаратов; они наблюдали, что фермент сычуга вызывает свертывание белка миндаля на подобие свертывания казеина, но отметили, что «леугмин» из миндаля отличается от казеина способностью свертываться при нагревании, Ritthausen (1868) высказался против отождествления этого белка с леугмином гороха и наклонен был его сближать с конглоутином люпина; наконец, Осборн (1896) отверг и здесь какую-либо возможность сближения и возвратил данному белку первоначальное самостоятельное название амандина.

Элементарный же состав очень близок, лишь содержание серы несколько выше:

C — 50,83, H — 6,79, N — 19,05, S — 0,89, O — 22,44%.

Отношение растворов этого глобулина к насыщению солями и к нагреванию близко к описанным выше.

Cocos nucifera. Белки кокосового ореха пытался исследовать Риттгаузен, встретивший затруднения в неполноте извлечения белков из трудно измельчаемого кокосового жмыха; соляная вытяжка давала лишь 3,2% белка, для которого Риттгаузен дал анализ; щелочи извлекали около 10% белков (от навески жмыха). Kirkwood и Gies, работавшие с свежими орехами, показали, что к глобулину здесь примешивается углевод, от которого они избавлялись с помощью диастаза; кроме глобулина, выделены были альбумозы.

Состав этих веществ по Chittenden'у таков:

	C	H	N	S	O
Глобулин	51,23	6,90	18,40	1,06	22,46%
Альбумоза	46,52	6,40	18,25		28,83%

Осборн установил следующее распределение азота при гидролизе: в аммиаке — 1,36% N, в основаниях — 6,06%, в аминокислотах — 10,92%.

Каштан (*Castanea vesca*) содержит белок, нерастворимый в воде, извлекаемый 10% NaCl, при диализе выпадающий преимущественно в сфероиды и лишь отчасти в неполно сформированных кристаллах. Этот глобулин весьма неполно свертывается при кипячении, границы осаждения 3 — 4,2 к. с; продукты гидролиза не изучены.

Кунжут (*Sesamum indicum*). Риттгаузен исследовал белок семян кунжута, воспользовавшись, как материалом, жмыхами, имеющими значение кормового средства; значительная часть белка извлекалась из обезжиренного материала теплым раствором NaCl, но остаток отдавал еще значительные количества разведенной щелочи. Из соляного раствора можно было получить препарат, состоящий из смеси кристаллов (октаэдров) с некристаллическим веществом; состав этого глобулина таков:

C — 50,97, H — 7,14, N — 18,25, S — 1,25, O — 22,39%.

Ранс (*Brassica napus oleifera*). Риттгаузен получал белок из обезжиренного материала извлечением щелочью и осаждением кислотой,

при чем получал препараты с 51,5 — 52,0% С, 6,9 — 7,0% Н, 0,82 — 1,40% S. При извлечении 10% раствором NaCl значительная часть белка переходила в вытяжку, но при разбавлении водой или пропускании CO₂ осадков не получалось; позднейших данных не имеется.

Белая горчица (*Brassica alba*). Dumas и Cahours в 1842 г. обрабатывали обезжиренную муку водой и осаждали белок из водной вытяжки уксусной кислотой; препарат содержал 50,83% С, 6,72% Н, 18,58% N. Кроме того, впоследствии Вейль извлекал из тех же семян с помощью 10% NaCl глобулин, в котором он различал, с одной стороны, часть, осаждаемую при насыщении NaCl («миозин»), и с другой — часть, остающуюся в растворе при насыщении его солью, но оседающую при разведении водой и свертывающуюся при 75° («вителлин»).

Редька (*Raphanus sativus*). Ritthausen извлекал с помощью 10% NaCl около 19% белка (в % от обезжиренной массы), который выпадал при разведении водой, давая препарат такого состава:

С — 50,97, Н — 7,07, N — 18,25, S — 0,98, O — 22,73%.

Ель (*Picea excelsa*). Семена отдают лишь немного белка (1,6% от обезжиренной массы) соляной вытяжке, при чем глобулин содержит 18,69% (Ronnger); значительно больше (около 10%) извлекает разведенная щелочь (18,5% N). Schulze и Winterstein нашли, что глобулины *Picea excelsa*, *Pinus silvestris* и *P. maritima* дают значительный выход аргинина (9 — 11%), но мало гистидина (0,6 — 0,8%) и лизина (0,2 — 0,8%). Abderhalden нашел, что глобулин *Picea excelsa* дает 0,6% гликоля, 1,8% аланина, 2,8% пролина, 6,2% лейцина, 7,8% глютаминовой, 1,8% аспарагиновой кислоты, 1,2% фенил-аланина, 1,7% тирозина (реакция на триптофан положительная).

Главные представители белковых веществ животного происхождения.

В животном царстве представлены следующие группы белковых веществ:

I. *Альбумины* растворимы в воде и в отсутствии солей, избытком солей осаждаются труднее, чем глобулины (чем пользуются для разделения этих групп); в главных альбуминах животного царства отсутствует гликоколь; при известных условиях могут быть

получены в кристаллической форме. Альбумин куриного яйца является преобладающей составной частью «белка»; именно он был прежде других белков получен в кристаллах (Hofmeister), но даже кристаллизацией трудно достигнуть очищения от примесей. Кроме отсутствия гликоля, особенностью альбумина считается содержание глюкозамина (что как бы сближает альбумин с муцинами). Температуру свертывания одни определяют в 56°C, другие несколько выше (результат зависит от присутствия солей и реакции среды); граница осаждения сернокислым аммонием лежит между 6,2—6,8. Кровяная сыворотка содержит свой альбумин (при воспалении почек он появляется вместе с глобулином в моче, температура свертывания 67°C). В молоке наряду с казеином также содержится немного альбумина, с *t*° свертывания 72°.

II. *Глобулины* характеризуются растворимостью в соляных растворах известной концентрации, из которых они выпадают при удалении солей диализом (или при насыщении солями) без изменения основных свойств; граница осаждения сернокислым аммонием лежит ниже, чем у альбуминов (2,9—4,6); насыщенный раствор сернокислого магния также вызывает осаждение глобулинов. Глобулин в отличие от альбумина содержит гликоколь. Из отдельных представителей группы глобулинов лучше изучены следующие: 1) Глобулин кровяной сыворотки с *t*° свертывания в 75°C; условия растворения и осаждения типичны для глобулинов; при гидролизе получается значительное количество гликоля (в отличие от альбумина); для получения этого глобулина кровь должна быть осаждена от другого количественно преобладающего глобулина, а именно: 2) Фибриногена, который способен свертываться под влиянием фермента, выпадать из раствора, превращаясь в фибрин. Соляной раствор фибриногена свертывается также при нагревании до 56°C. Фибриноген выпадает легко при введении угольной или уксусной кислоты или при удалении солей диализом; выпавший фибриноген легко склонен изменяться и терять растворимость. Фибрин, продукт свертывания под влиянием фермента, также теряет растворимость в соляных растворах, действие нагревания спирта, формальдегида вызывает еще более глубокое изменение свойств сгустка фибрина. По свойствам фибрин является объемистым, студнеобразным сгустком, который затем лишь постепенно сокращается в объеме, увлекая с собой форменные элементы крови, но освобождая большую часть кровяной сыворотки

3) Миозин является глобулином, характерным для мускульных волокон, обладающим низкой t° свертывания (47°C) и выпадающий из соляных вытяжек (10% раствор NaCl), при общих для глобулинов условиях; однако осажденный глобулин склонен скоро терять растворимость и, изменяясь, переходить в «миозинофибрин». Посмертное затверждение мускулов объясняется свертыванием миозина, вызываемым особым ферментом, в связи с накоплением молочной кислоты. Миозин вообще легко изменяется под влиянием кислот, давая «синтонин». Под влиянием ферментов (пепсина и трипсина) миозин легко подвергается гидролизу. Кроме мускулов, и другие органы содержат обычно тот или иной вид глобулина (были выделены глобулины из печени, щитовидной железы, хрусталика и т. д.)

III. *Гистоны* представляют такие белковые тела, в которых содержание оснований (особенно аргинина) выше обычного, что и придает основной характер всей молекуле; однако в отличие от протаминов все обычные для белков моноаминокислоты также присутствуют в гистонах. Основной характер гистонов настолько резко выражен, что они осаждаются из растворов аммиаком, а в кислотах легко растворяются, т. е. ведут себя обратно по сравнению с казеином и глобулинами. Реактивы на алкалоиды, осаждающие другие белки лишь в кислом растворе, осаждают гистоны уже в нейтральной среде (таковы пикрат натрия, фосфорновольфрамовый и фосфомолибденовокислый натрий и др.). Как основания, гистоны способны давать соединения с другими белками, напр., с казеином, альбумином и глобулинами кровяной сыворотки; соединения эти выпадают в виде осадков, растворимых в кислотах и щелочах (след., способность гистона осаждаться аммиаком при этом замаскирована).

Гистоны в соединении с нуклеиновой кислотой образуют главную составную часть ядер кровяных шариков и сперматозоидов некоторых (исследованных в этом отношении) рыб.

Из зобной железы получают гистоны, извлекая сначала водой нуклеопротеид (нуклеогистон) и осаждая его уксусной кислотой; при обработке соляной кислотой гистон переходит в раствор, из которого может быть осажден аммиаком; при гидролизе обнаруживается содержание аргинина в 25%, миозина — 8%, гистидина — 1,8%, затем идет обычный ряд аминокислот, при чем количество тирозина довольно велико (6%).

IV. *Протамины* образуют отдельную группу, обнаруживающую значительные отличия от основного типа белков; так, уже по элементарному составу они обнаруживают следующие отклонения: сера отсутствует, азота содержится больше (до 25%), углерода меньше, чем в других белках; как показал Коссель, причина этого лежит в преобладании оснований, особенно аргинина, над аминокислотами. Наиболее изучены протамины на определенном ряде объектов; именно, они наиболее представлены в сперматозоидах рыб; таковы клупеин (*Clupea harengus*, сельдь), который оказался состоящим на 89% из аргинина (лизин и гистидин отсутствуют) и лишь 11% аминокислот (при чем из последних отсутствуют лейцин, тирозин, фенилаланин, триптофан, аспарагиновая и глутаминовая кислоты и гликоколь; найдены аминокпропионовая и аминовалерьяновая кислоты и серин). Подобными по составу являются сальмин (*Salmosalar*), стурин (*Accipenser sturio*), скомбрин (*Scomber scombrus*) и другие протамины. Из спермы человека выделена также составная часть, близкая к протаминам.

Сравнительно с типичными белками молекула протаминов является просто построенной; напр., скомбрин содержит только три компонента: аргинин, аланин и пролин; поэтому здесь раньше удалось достигнуть полноты учета продуктов гидролиза, что и дало Косселю повод назвать протамины простейшими белками (хотя скорее их бы следовало считать неполными или несовершенными белками, так как они не дают реакции Миллона, благодаря отсутствию итрозина, не дают реакции на серу, так как не содержат цистеина и т. д.).

Протамины являются сильными основаниями, притягивающими углекислоту из воздуха и вызывающими посинение лакмуса; их количество можно учитывать титрованием, они дают стойкие соли с кислотами (с серной, пикриновой), двойные соли с хлорной платиной, также дают соединения, с медью и серебром и осаждаются $\text{Ba}(\text{OH})_2$ в присутствии солей серебра, на подобие аргинина; реактивы на алкалоиды осаждают их в нейтральной и даже щелочной среде (таким образом, мы имели постепенное нарастание основных свойств, переходя от типичных белков через гистоны к протаминам); с белками протамины дают соединения, выпадающие из растворов, и напоминающие по свойствам гистоны. При кипячении растворы протаминов не обнаруживают свертывания.

V. *Склеропротеиды* (также альбуминоиды или протеиноиды) являются белками механических тканей — покровов и остовов; они не входят в состав клеток, но образуют ту массу, в которую вкраплены клетки различных соединительно-тканых образований. Будучи по составу очень близкими к типичным белкам, они часто не дают коллоидальных растворов (как вещество рога, волос) и известны лишь в твердом состоянии: ни вода, ни соляные растворы на них не действуют, щелочи и кислоты действуют лишь при условиях, коренным образом изменяющих химическую природу и ведущих в конце концов к полному гидролизу; отсюда значительная неизвестность свойств первоначального вещества и крайняя трудность деления химических индивидуумов. При гидролизе получаются почти исключительно моноамино-кислоты, особенно много гликоколя. К этой группе относятся оссеин костей или коллаген (клей-дающее вещество), кератин рогов и волос, эластин связок, фиброин шелка и подобные им менее изученные тела.

Оссеин (коллаген) отличается от кератина способностью при кипячении с водой переходить в растворимое вещество — клей (или желатину; если эти термины различаются в технике, то только потому, что желатина отличается от клея большей чистотой); важнейшей особенностью этого продукта является способность давать студень при охлаждении горячего водного раствора. Образование клея идет в разных случаях с разной легкостью — одни органы достаточно прокипятить с водой; другие требуют нагревания под давлением; в чем состоит превращение это с химической стороны не выяснено, но предположительно принимают, что происходит гидролиз (в начальной стадии). Получение клеевого вещества в чистом виде не легко, так как, с одной стороны, при кипячении могут переходить в раствор другие вещества, а с другой — при длительном кипячении самый клей начинает изменяться дальше, расщепляясь (пептонизируясь) особенно легко в том случае, если реакция раствора не вполне нейтральна (от этого клей при долгом кипячении перестает клеть, застывает, вообще изменяет свойства). По элементарному составу клей характеризуется несколько повышенным содержанием азота (около 18%) и пониженным — углерода (49%). Со времени Braconnot (1820) известно, что при гидролизе клей дает много гликоколя; позднейшие учеты показали, что в этом отношении клей выделяется из ряда других белков, содержа 16,5 — 19,0% гликоколя (по разным авторам);

другое отличие состоит в полном отсутствии тирозина, почему клей и не дает реакции Миллона (но фенилаланин в нем содержится); серы мало, также мал выход аммиака при гидролизе, аргинина и лизина довольно много. Из ферментов трипсин слабо действует на клей, не подготовленный действием пепсина (но обычный комплекс ферментов в организме дает хорошее переваривание клея). Клей ведет себя отлично от других белков по отношению к осаждению кислотами и большей частью тяжелых металлов — осадков не получается и для некоторых из тяжелых металлов получают осадки, растворимые при нагревании. Таннин осаждает только при определенных количественных отношениях, избыток того или другого вещества вызывает частичное растворение осадка. Способность клея набухать в воде повышается в присутствии щелочей и кислот. Растворенный в горячей воде клей застывает при 18° — 25° и разжижается при 26° — 29°, смотря по концентрации раствора и присутствию посторонних веществ (одни соли повышают, другие понижают t° застывания).

Кератин представляет основное вещество ороговевающих эпидермических образований (волосы, перья, копыта, рога); он нерастворим не только в воде и солях, но и в разведенных щелочах и кислотах; 10%-ная щелочь действует только при нагревании, 20%-ная — и на холоду, но при этом происходит уже не растворение, а разложение; ферменты не оказывают заметного действия (даже тонкие волосы проходят через пищеварительный тракт неизменными). Поэтому для очищения кератина пользуются только этой стойкостью его, удаляя все примеси действием разведенных щелочей, кислот и ферментов. Элементарный анализ кератина обнаруживает высокое содержание серы, не свойственное другим видам белка; так, кератин волос человека содержит обычно 4,95 — 5,34% S (иногда 6,3%), перьев — 3,16% S, копыт 2,69 — 3,57% S.

Соответственно этому среди аминокислот, являющихся продуктами гидролиза кератина, видное место принадлежит цистину, на который приходится 12 — 14% (кератин волос). Оснований и аммиака получается немного. Из обычных аминокислот сильнее представлен лейцин (11 — 18%) и глютаминовая кислота (12 — 18%). Из реакций на белок особенно сильно выражены реакция на серу (образование сернистого свинца) и на тирозин (миллонов реактив).

Эластин составляет главное вещество волокон связок (напр., *Ligamentum nuchae*); он близок к кератину по стойкости по отно-

пению к разведенным щелочам и кислотам, но отличается от него известной степенью переваримости (поддается действию пепсина и трипсина); серы содержит мало (0,3%), из продуктов гидролиза сильно представлены гликоколь (25,7%) и лейцин (21,4%); мало глютаминовой кислоты, тирозина и аммиака, нет триптофана (так как нет уверенности в однородности препаратов эластина, то возможно, что тирозин входит в состав примесей; иначе такие величины, как 0,34% тирозина, означали бы невероятно высокий молекулярный вес для эластина).

Фиброин составляет основное вещество волокон шелка. В шелке содержится еще клеевое вещество (серицин), которое удаляется горячей водой; фиброин не растворим не только в воде, но и в разведенных кислотах и щелочах, противостоит также действию ферментов, и в этом отношении подобен кератину; однако соотношение продуктов гидролиза здесь совершенно иное: фиброин состоит на половину из гликоколя (33 — 37%) и аланина (18 — 24%), содержит также много тирозина (9 — 10%); мало лейцина, аспарагиновой и глютаминовой кислот, мало оснований, следы аммиака. К этой же группе относится спонгин, образующий скелет губок (содержит иод), конхиолин — органическое вещество раковин моллюсков (в котором отлагаются известковые соли) и некоторые другие вещества белкового типа.

VI. *Фосфопротеиды*. Сюда относится прежде всего казеин, (первичная форма носит название казеиногена), который является главным белком молока; по элементарному составу он характеризуется содержанием фосфора, который отщепляется под влиянием пепсина в кислом растворе; вот, например, данные состава казеина по Hammarsten'у (согласные с рядом других): C — 52,96%, H — 7,05%, N — 15,65%, S — 0,76%, P — 0,85%. При гидролизе обнаруживается отсутствие гликоколя, высокое (сравнительно с другими белками) содержание тирозина (4,5%) и триптофана — 2%; лейцина меньше, чем во многих других случаях (7,9%), глютаминовой кислоты не мало (10,7%), основания все присутствуют (в сумме около 1,3%). Хотя казеин способен, как и другие белки, давать соли как с основаниями, так и кислотами, однако кислотный характер в нем ясно преобладает. Казеин нерастворим в воде, но нейтральные соли щелочей легко растворимы; казеиновокислый кальций хуже растворим, раствор имеет вид молочно-белой жидкости. Эта соль и содержится в молоке, вместе с фосфорнокислым кальцием, который

удерживается от выпадения благодаря влиянию казеина, как гидрофильного коллоида.

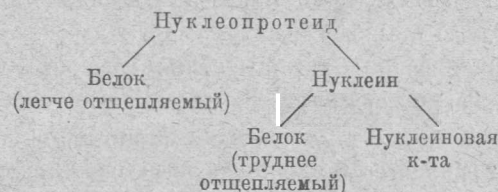
При кипячении молока казеин не претерпевает видимых изменений. Минеральные кислоты в слабых дозах осаждают казеин, уксусная — при большой концентрации; для получения казеина лучше исходить из обезжиренного молока, осажженный казеин очищать повторным растворением в щелочи и осаждением кислотой, остатки жира удалять эфиром. Граница осаждения казеина сернокислым аммонием лежит между 2,2 — 3,6; при NaCl, Na₂SO₄ и MgSO₄ требуется полное насыщение.

Казеин легко поддается действию ферментов, при чем трипсин быстро производит расщепление до аминокислот (остается лишь небольшой остаток). При действии пепсина сначала происходит растворение и одновременно образуются альбумозы, но затем наблюдается временное выделение содержащего фосфор осадка (парануклеин или псевдонуклеин), который затем снова растворяется и пептонизация продолжается. Псевдонуклеин богаче фосфором, чем казеин (3 — 4%), обладает ясно кислыми свойствами, разлагается баритом на фосфорную кислоту, альбумозы и подобные им вещества. Давно известна способность казеина молока выпадать из раствора под влиянием вытяжки сыгуга (дейтельное начало содержится в слизистой оболочке желудка); при этом, как и при выпадении кислот, сгусток казеина «параказеин» увлекает с собою жир (и фосфат кальция). Эта способность сычужного фермента издавна используется при приготовлении сыра.

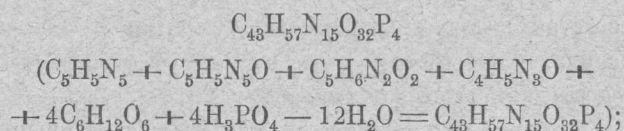
Павловым высказано мнение, что сычужный фермент тождествен с пепсином и что выпадение осадка параказеина есть первая стадия действия пепсина (см. сказанное выше о парануклеине), в разных случаях разная выраженная, смотря по количеству наличной соляной кислоты и другим условиям действия фермента. К одной группе с казеином относятся вителлин и ихтулин, встречающиеся в желтке куриного яйца (первый) и в икре рыб (второй).

VII. *Нуклеопротеиды*, являющиеся характерной составной частью клеточных ядер, представляют соединения белка с нуклеиновой кислотой; характерным признаком (кроме состава) является отношение их к желудочному соку: одновременно с образованием альбумоз и пептонов происходит выпадение осадка нуклеина, богатого фосфором; кроме нуклеиновой кислоты, осадок этот содержит часть белка, неподдающегося действию пепсина (но трипсин пере-

водит все в раствор, давая нуклеиновую кислоту и аминокислоты). По схеме *Lilienfeld*'а эти соотношения изображаются такой схемой:



Эти явления затем истолкованы были так, что белок способен давать с нуклеиновой кислотой ряд солей и что соли эти обладают разной степенью стойкости — последняя возрастает в сторону кислых солей. Нуклеиновые кислоты представляют из себя богатые азотом и фосфором небелковые органические тела, распающиеся при гидролизе (под влиянием кислот и ферментов) на 1) фосфорную кислоту, 2) ксантиновые основания, 3) углеводы типа гексозы или пентозы. Повидимому, в сложную молекулу типичной нуклеиновой кислоты (напр., из зобной железы) входит четыре частицы P_2O_5 , по одной молекуле четырех оснований пуриновой группы или близких к ним (аденин, гуанин, тимин, цитозин) и четыре частицы углевода, что приводит к формуле



но окончательно установленное строение нуклеиновой кислоты еще не считается; молекулярный вес ее около 1300. По внешним свойствам препарат нуклеиновой кислоты является белым, пылящим, не гигроскопическим порошком (кристаллы не получены); анализ дает обычно около 36% C, 45% H, 15% N, 9,5% P, 34% O. Растворимость в холодной воде очень мала, в горячей больше, еще больше в щелочах; соли нуклеиновой кислоты со щелочами способны придать охлажденным до 40° растворам студнеобразную консистенцию¹⁾.

1) Кроме типичных нуклеиновых кислот в образовании нуклеопротеидов могут принимать участие и более простые комплексы, содержащие всего по одной молекуле каждой из трех вышеуказанных групп, напр.: гуанин, пентозы и фосфорная кислота; вместо гуанина может занимать гипоксантин.

С белками нуклеиновая кислота дает нерастворимые соли, если, однако, налицо имеется избыток кислоты (иначе происходит гидролитическая диссоциация). Что касается другой части нуклеопротеидов (белковой), то она может быть представлена белками разных типов (нередко наиболее богатыми основаниями, как гистоны и протамины).

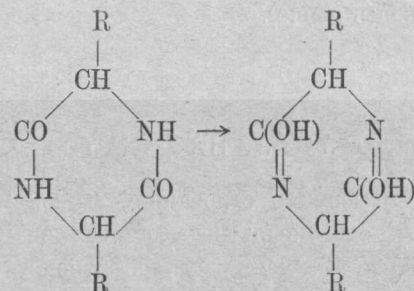
Нуклеопротеиды удобнее всего добывать из таких органов клетки, которые богаты ядрами, таковы testiculi, зобная железа и др. железы. Особенно много содержат нуклеопротеидов сперматозоиды некоторых рыб, напр., в известных случаях (когда удастся отделить действием воды «головки» от хвостиков) получают материал на 96% состоящий из нуклеопротеида (в данном случае нуклеоновокислого протамина). Лейкоциты зобной железы на $\frac{3}{4}$ из нуклеопротеида (нуклеогистона); один из препаратов такого нуклеогистона содержал 9% C, 7% H, 18% N, 0,5% S и 3,7% P; при действии пепсина (+ HCl) он расщепляется на гистон и нуклеин. Также выделены нуклеопротеиды из лимфатических желез, селезенки, печени, из щитовидной железы и др.

VIII. *Глюкопротеидами* называются такие белки, при гидролизе которых отщепляются производные углеводов (глюкозамин, или галактозамин). Сюда относящиеся белки животного организма представляют муцины и мукоиды. Муцины обуславливают собою слизистый характер выделений слюнной железы, желчного протока, дыхательных путей, мочеточников; они же выделяются покровами некоторых беспозвоночных (улитки). Наиболее изучен муцин слюны; он содержит, как и др. муцины, меньше азота, чем другие белки (12%, 15—17%), дает при гидролизе 24% глюкозамина (муцин слизистой оболочки дыхательных путей дает даже 37% глюкозамина, в связи с чем содержит лишь около 11% N); кроме того, содержатся обычные для белков аминокислоты. В сухом состоянии муцин представляет белый рыхлый порошок, трудно растворимый в воде (хотя бы и в присутствии нейтральных солей), но легко растворяется в разведенных щелочах, давая нейтральный раствор (что указывает на кислотный характер муцина): при содержании 0,25% муцина раствор является уже клейким и тягучим. Уксусная кислота осаждает муцин, но не в виде хлопьев, а в виде клейкого сгустка, который при помешивании намазывается на стеклянную палочку (в присутствии избытка солей осаждения не происходит). При кипячении раствора муцина свертывания не происходит; избыток

УЧЕБНИК
ПЕЧАТНИЙ (.-1. 1920-1921)

ирубин).

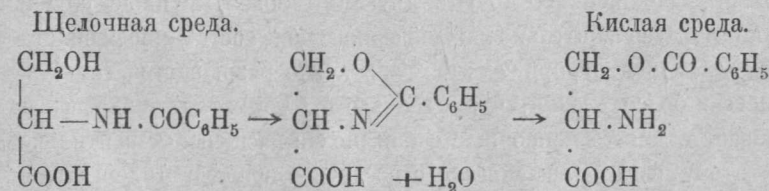
вопрос о способе связи дикетопиперазинов в белковой молекуле, Abderhalden делает различные допущения, считая, с одной стороны, что, напр., двухосновные кислоты, как аспарагиновая, могут связать две молекулы дикетопиперазина через взаимодействие групп NH и COOH (в то же время аспарагиновая кислота может быть связанной с остальным комплексом через свою группу $-\text{NH}_2$); с другой стороны, А. указывает на возможность перехода дикетопиперазинов в таутомерную форму:



которая может вступать в соединение с оксиаминокислотами (напр., серином) при выделении воды. Абдергальден полагает даже, что ему удалось доказать «предсуществование» дикетопиперазинов в неразрушенной белковой молекуле с помощью определенных цветных реакций, но Bergmann относится скептически к этому, указывая, что использованные Абдергальденом реакции не являются специфическими для дикетопиперазинов. Bergmann обращает внимание на широкие возможности иных связей, кроме обычной в пептидах, вытекающих из следующего обстоятельства: число простых аминокислот, включающих лишь по одной группе $-\text{NH}_2$ и $-\text{COOH}$, сравнительно невелико (гликоколь, аланин, валин, лейцины и фенилаланин), значительное большее число аминокислот обладает повышенным числом групп, склонных вступать в соединение, как дикарбоновые аминокислоты, диаминокислоты, оксиаминокислоты и пр. (сюда относятся аспарагиновая и глутаминовая кислоты, аргинин, лизин, пролин, гистидин, триптофан, серин, оксиглутаминовая кислота, оксипролин, окситриптофан, тирозин, цистеин и цистин); избыточные гидроксильные, карбоксильные или аминные группы в этих аминокислотах открывают новые перспективы нахождения разнообразнейших группировок помимо пептидной связи («а природа обычно использует все структурные возможности, какие ей предоставляются свойствами вещества», замечает Berg-

mann). Далее, Bergmann подчеркивает склонность к перегруппировкам в комплексах, входящих в состав белковой молекулы; можно ожидать, говорит он, «что гидроксильные и аминные группы находятся в оживленной борьбе друг с другом из-за обладания карбоксилатами»... «Таким образом, пептид и белок перестают быть в нашем представлении устойчивым и просто зафиксированным образованием», они являются скорее «субстратом для различных временных комбинаций, стоящих в оживленной взаимной конкуренции и способных к перегруппировкам в том или другом направлении, сообразно физико-химическим условиям. И если даже при допущении только пептидной связи, число изомеров может быть достаточно велико (как показал Фишер), чтобы возможно было представить бесконечное разнообразие белков, свойственных отдельным видам растений и животных, то вряд ли пептидной связи достаточно, чтобы объяснить явления денатурирования известных белков или желатинирования — других; но мы должны ясно представлять, добавляет Bergmann, что и явления из области коллоидной химии должны также сводиться к структурно-химическим изменениям».

Чтобы хотя отчасти подойти на упрощенной модели к пониманию возможных перегруппировок в неустойчивой молекуле пептида, Bergmann предпринял экспериментальную работу с оксиаминокислотами, поставив сначала задачей изучить превращения такого относительно простого соединения как дипептид, включающий гликоколь и серин (глицил серин); чтобы еще более упростить задачу и исключить усложняющее влияние аминной группы гликоколя, сосредоточив внимание на роли оксикислоты (серины), он заменил гликоколь бензойной кислотой и наблюдал перегруппировки в молекуле бензоил-серины; при этом, в зависимости от реакции среды, наблюдались такие переходы:



Эти переходы служат примером той борьбы между гидроксильными и аминными группами из-за обладания карбоксилатом, которой придает значение Bergmann.

Кроме вопроса о характере непосредственных связей между отдельными более простыми молекулами в последнее время выдвинут еще вопрос о связях другого порядка, соединяющих повторяющиеся комплексы молекул в белке.

Исходным пунктом послужило наблюдение, что фиброин шелка дает при рентгенографическом исследовании хорошо развитый спектр, что указывает на правильное расположение в пространстве повторяющихся компонентов сложной молекулы фиброина, при чем эти компоненты повидимому представляют сравнительно простые комплексы, состоящие из небольшого числа аминокислот. Отсюда является вопрос, не следует ли вместо очень длинной пептидной цепочки представлять белок как полимер, построенный из сравнительно простых, может быть, циклических основных комплексов, многократно повторяющихся и потому обнаруживающих решетку при рентгенографическом исследовании.

Но при этом потребовалось из общего понятия о *полимеризации* выделить известную категорию случаев, к которым стали прилагать термин *ассоциация*.

Дело в том, что под словом полимеризации до сих пор объединялись явления довольно разнообразные; с одной стороны, мы имеем, напр., процесс перехода формальдегида в глюкозу, связанный с глубокой внутренней перестройкой и не наклонный, вообще говоря, к обратимости, с другой же стороны, мы имеем случаи увеличения молекулярного веса при сохранении не только того же элементарного состава, но всех деталей строения внутри отдельных компонентов, которые вступают в связь друг с другом за счет дополнительных валентностей. Если последнее предположение отнести к белку, то неизвестной величины молекула последнего должна бы состоять из меньших комплексов (которые могут быть, однако, полимерами), соединенных друг с другом в более крупные группы («ассоциаты») сравнительно рыхлой связью через остаточное сродство некоторых элементов, при чем эта связь легко разрывается, самые же комплексы более стойки, что отвечало бы тому факту, что пепсин разрывает какие-то непрочные связи, но не расщепляет пептиды.

К этому взгляду склоняется в последнее время и Абдергальден, однако, с оговоркой, что, может быть, повторяется не какой-то единственный комплекс, но несколько различных комбинаций; это могут быть смешанные ангидриды, комбинированные, может быть, с аминокислотами, с полипептидами.

Если эта оговорка как бы разочаровывает возвращением к прежней сложности представлений о белковой молекуле, то все же Абдергальден признает существенный сдвиг в недавних представлениях о белке и необходимость иного подхода к вопросу синтеза («Das ganze Problem der Eiweissynthese wird neu aufgerollt»).

Абдергальден отмечает, что теперь становятся возможными иные объяснения физических свойств белков и их изменчивости, которая, может быть, вызывается склонностью к перегруппировкам (напр., переход от энольной структуры к кетонной). «Для меня нет никакого сомнения, говорит А., что многочисленные явления в области физической химии белков найдут свое объяснение, когда получатся более точные сведения о предполагаемых элементарных комплексах и их взаимной связи. Тогда на пептизацию и агглютинацию не будут смотреть как на исключительно коллоидно-химическую проблему, скорее будут иметь в виду возможность разрыва и связывания элементарных комплексов и явления ассоциации».

Точно так же намечаются иные возможности для разрешения вопросов физиологических; так, раньше Абдергальден считал необходимым для перехода от одного белка к другому в организме полный гидролиз до аминокислот; теперь можно допустить частичные изменения без столь глубокого расщепления.

Таким образом, если полученные за последнее время факты еще не принесли чего-либо решительного в деле выяснения сложной картины строения белковой молекулы, то все же они определенно обнаружили ряд новых путей, способных вывести исследователя из того тесного круга, в который оно замкнулось на некоторое время после смерти Э. Фишера и вращение в пределах которого начало быть утомительным по своей кажущейся безвыходности ¹⁾.

1) Мы не входим в рассмотрение некоторых смелых построений, недостаточно увязанных с хорошо известными фактами в области химии белков; сюда относится, напр., гипотеза Troensegaard'a, по которому белок построен из кольцеобразных систем, в которых преобладают пиррольные, пиридиновые и имидазольные ядра и поэтому имеется гораздо большая связь строения белка с алкалоидами, чем до сих пор принималось.

Однако преобладание пиррольных ядер не согласуется с фактом легкого расщепления белка на аминокислоты при действии ферментов.

Главнейшие пособия.

- Шульц, Общая химия белков, 1908.
Cohnheim, Chemie der Eiweisskörper, 1911.
Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1920.
E. Fischer, Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine, 1906.
Plimmer, Die chemische Konstitution der Eiweisskörper, 1914.
Robertson, Physikalische Chemie der Proteine, 1912.
J. Loeb, Die Eiweisskörper und die Theorie der kolloidalen Erscheinungen, 1924 (Berlin).
Abderhalden, Biologische Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 8 (Die Eiweissstoffe), 1922.
Abderhalden, Biochemisches Handlexicon.
Czapek, Biochemie der Pflanzen.
В. С. Гулевич, Курс лекций биологич. химии, сост. Макеевым (3-е изд.).
Ritthausen, Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen, 1872.
Osborne, The vegetable proteins (Monographs on Biochemistry), 1909.
Osborne, Die Pflanzenproteine, 1910 (Ergebnisse der Physiologie, Bd. 10).
Прянишников, Единство строения белковых веществ и их основных превращений в растительном и животном организме, 1913 ¹⁾.
Н. Н. Иванов, О циклических соединениях в белковой молекуле (Успехи биологической химии, под редакцией акад. Омелянского, вып. II, 1925).

¹⁾ Эта брошюра указывается как самое краткое введение для начинающих к обширной литературе по превращению белковых веществ в растениях (см. также Журнал Опытной Агрономии за 1912 год).

