

Ю. В. Ковеза, И. В. Нога, В. М. Шаталов
ИЗМЕНЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ И ДЕГАЗАЦИЯ СРЕДЫ КАК ФАКТОРЫ,
ВЛИЯЮЩИЕ НА ГИДРОФОБНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ И АКТИВНОСТЬ
РАСТИТЕЛЬНОЙ КАТАЛАЗЫ

Донецкий национальный университет; 83050, г. Донецк, ул. Щорса, 46
e-mail: barrogra@mail.ru

Ковеза Ю. В., Нога И. В., Шаталов В. М. Изменение кислотности и дегазация среды как факторы, влияющие на гидрофобное взаимодействие и активность растительной каталазы. – Путем измерения поверхностного натяжения в средах с различной кислотностью и дегазацией показано, что эти факторы могут влиять на функционирование белков через изменения гидрофобных сил. Поверхностное натяжение воды меняется: падает примерно на 10% при изменении рН от 7 до 2 или до 11 и возрастает на 5% при дегазации.

Ключевые слова: поверхностное натяжение, кислотность, дегазация, гидрофобное взаимодействие, каталаза, фитоиндикация.

Активность растительной каталазы часто рассматривается как показатель загрязнения среды, в которой развивается данное растение. Поэтому измерение активности каталазы является одним из приемов выявления загрязнений в методе фитоиндикации. Так, например, в работах [1, 2] авторы связывают изменение активности каталазы с различными условиями произрастания растений: наличием в почве солей тяжёлых металлов и т.д. При этом неясно, на что именно действуют компоненты загрязнения, меняют ли они структуру белка или условия его функционирования? Почему иногда активность каталазы бывает различной у разных экземпляров растений в пределах одного вида (даже выращенных на одном участке)?

В работах [3, 4], в которых исследовалось действие высокого давления на микроорганизмы, было показано, что изменение рН отражает изменение структурных свойств воды, необходимых для нормального функционирования белков [5]. Как известно, для любого фермента существует определенный температурный и кислотный оптимум, выход за пределы которого приводит к уменьшению наблюдаемой активности.

В работе [6] разброс значений активности каталазы в разных растениях объяснялся изменением гидрофобных сил в водной среде в процессе измерения, поскольку различные фрагменты растения могут обладать различной кислотностью, а центрифугирование перетертой смеси связано с неконтролируемой дегазацией. Растворенные газы обычно присутствуют даже в дистиллированной и деионизированной воде, что может давать различные эффекты [7]. Некоторые газы образуют неполярные кластеры в воде (например, O₂, N₂, Ar), тогда как другие – нет (например, CO₂). Первые, даже при низкой растворимости, могут накапливаться на гидрофобных поверхностях, формируя микропузырьки [8]. Такой растворенный газ влияет на стабилизацию эмульсии и диспергирование [7]. Они могут также быть ответственными за другие странные эффекты, типа образования свободных радикалов под действием электромагнитных полей.

Согласно существующим представлениям [9], при изменении кислотности среды меняется степень ионизации активного центра фермента. Однако концентрация протонов в актуальном интервале рН пренебрежимо мала по сравнению с обычными концентрациями каталазы в опытах по измерению активности, что ставит под сомнение идею о каком-либо электростатическом эффекте.

Чтобы выяснить, каким путем изменение рН может влиять на функционирование каталазы, было исследовано влияние кислотности среды на гидрофобные силы. В качестве меры последних, было выбрано поверхностное натяжение на границе раздела вода-воздух. Поверхностное натяжение растворов с разными рН определялось методом взвешивания капель. На рис. 1 представлены активность каталазы A и коэффициент поверхностного натяжения σ в зависимости от рН среды. Видно, что на интервале рН от 4 до 9 эти зависимости подобны. Как максимум гидрофобного взаимодействия, так и максимальная активность каталазы наблюдаются в нейтральной среде.

Поскольку другим фактором, влияющим на структурные свойства воды, может быть наличие в ней микропузырьков растворенного воздуха, нами также было исследовано влияние дегазации на поверхностное натяжение. Дегазация воды достигалась путем последовательных циклов нагрева и охлаждения воды. В каждом цикле дистиллированная вода (50 мл в стакане объемом 100 мл) нагревалась в течение 5 минут до 100°C, а затем быстро охлаждалась в емкости со льдом. Как известно, за один цикл содержание кислорода в такой воде уменьшается примерно в два раза, что приводит к изменению ее физико-химических свойств: поверхностного натяжения, плотности, вязкости, электропроводности.

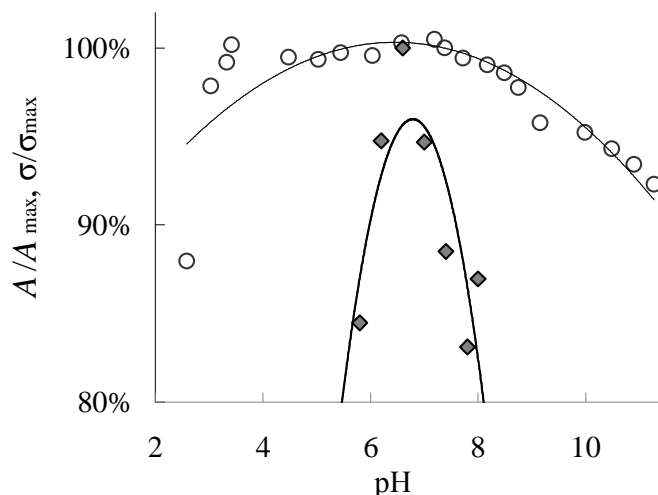


Рис. 1. Активность каталазы A (ромбы) и коэффициент поверхностного натяжения σ (кружки) зависимости от pH среды (сплошные линии – квадратичные тренды)

Изменение поверхностного натяжения в результате дегазации представлено на рис. 2(а). Видно, что с увеличением степени дегазации поверхностное натяжение растет и выходит на насыщение, что свидетельствует о выравнивании скоростей дегазации и растворения за один цикл, либо о выходе эффекта дегазации на максимум. Мы проследили, как скоро данная дегазированная вода насыщается газами из атмосферы. Возвращение показателя поверхностного натяжения со временем к равновесному значению представлено на рис. 2(б). Разумеется, этот график отражает какие-то конкретные для данного опыта параметры – форму сосуда и пр.

(а)

(б)

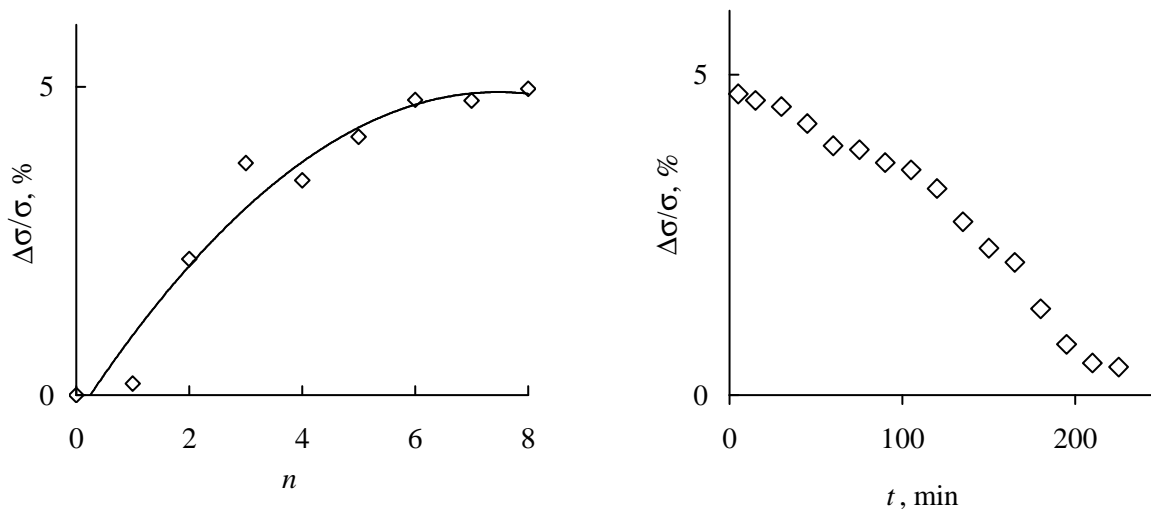


Рис. 2. Изменение поверхностного натяжения после n циклов дегазации – (а) и возвращение со временем t к равновесному значению – (б)

За 8 циклов дегазации поверхностное натяжение σ , согласно рис. 2(а), увеличивается на 5%. При этом величина рН меняется от 6,79 до 7,09. Такое изменение кислотности, связанное с выходом CO_2 из раствора, само по себе давало бы, согласно рис. 1, лишь небольшое уменьшение коэффициента поверхностного натяжения на $-0,6\%$ или $-0,43 \text{ мДж/м}^2$. Следовательно, растворение или выход углекислого газа не может быть причиной наблюдаемого изменения гидрофобных сил. Спаду активности каталазы при выходе за пределы кислотного оптимума сопутствует уменьшение σ на 5% (см. рис. 1), что может означать высокую чувствительность фермента к изменению этого параметра.

Таким образом, изменение кислотности и дегазация могут влиять на функционирование белков через изменения гидрофобных сил. Эти процессы не всегда поддаются контролю и поэтому могут непредсказуемо повлиять на результаты измерений активности каталазы.

Список литературы

1. Федоров А. С., Шахов С. М. Влияние тяжелых металлов на показатели биологической активности почв // Тез. докл. II съезда общ-ва почвоведов (г. Санкт-Петербург, 27-30 июня 1996 г.). – М., 1996. – Кн. 1. – С. 300-301.

2. Зайцева И. И. Экспериментальное изучение влияния тяжелых металлов на планктонные водоросли // Ботан. журн. –1999. – № 8. – С. 33-39.

3. Нога И. В., Шаталов В. М. Рост кислотности среды под давлением как фактор инактивации микроорганизмов // Физика и техника высоких давлений. – 2007. – Т. 17, № 2. – С. 131-137.

4. Нога И. В., Шаталов В. М. Моделирование кинетики инактивации спор *Bacillus subtilis* и *Bacillus stearothermophilus* // Біофізичний вісник. – 2007. – Вип. 19 (2). – С. 116-121.

5. Финкельштейн А. В., Птицин О. Б. Физика белка. – М.: КДУ, 2005. – 456 с.

6. Shatalov V. M., Noga I. V., Koveza J. V. Temperature, degasation and acidity of media control of hydrophobic forces and protein stability // 36. тез міжн. наук. конф. "Біофізичні механізми функціонування живих систем" (м. Львів, 16-18 жовтня 2008 р.). – Львів: Вид-во ЛНУ, 2008. – С. 15-16.

7. Pashley R. M., Rzechowicz M., Pashley L. R., Francis M. J. De-gassed water is a better cleaning agent // J. Phys. Chem. B. – 2005. – V.109. – P. 1231-1238.

8. Pashley R. M. Effect of degassing on the formation and stability of surfactant-free emulsions and fine teflon dispersions // J. Phys. Chem. B. – 2003. – V. 107. – P. 1714-1720.

9. Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия: Учебник. – М.: Медицина, 1990.

Ковеза Ю. В., Нога І. В., Шаталов В. М. Зміна кислотності й дегазація середовища як фактори, що впливають на гідрофобну взаємодію й активність рослинної каталази. – Шляхом виміру поверхневого натягу в середовищах з різною кислотністю й дегазацією показано, що ці фактори можуть впливати на функціонування білків через зміни гідрофобних сил. Поверхневий натяг води змінюється: падає приблизно на 10% при зміні рН від 7 до 2 або до 11 і зростає на 5% при дегазації.

Ключові слова: поверхневий натяг, кислотність, дегазація, гідрофобна взаємодія, каталаза, фітоіндикація.

Koveza J. V., Noga I. V., Shatalov V. M. Effect of the acidity changes and degassing on the hydrophobic interaction and the activity of vegetative catalase. – By measurement of a surface tension in environments with various acidity and degassing it is shown, that these factors can influence functioning of proteins through changes of hydrophobic forces. The surface tension of water decreases approximately on 10 % along pH changes from 7 up to 2 or up to 11 and increases on 5 % in de-gassed water.

Key words: a superficial tension, acidity, degasation, hydrophobic effect, catalase, phyto-indication.