

ТЕСТИРОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЯН СОИ ПО ИЗМЕНЕНИЮ БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА

Л.А. САМОФАЛОВА, О.В. САФРОНОВА
ФГБОУ ВПО «Госуниверситет – УНПК» г. Орёл

Исследована динамика полипептидного состава семян сои в стадиях набухания и раннего прорастания. Выявлены физиологические фазы функционализации глобулинов.

Ключевые слова: прорастание, пептидный состав, метод электрофореза, биоактивация глобулинов.

Функционализация белков семян путём проращивания является перспективным направлением обработки, имеющим ряд преимуществ по сравнению с химическими методами воздействия и искусственной ферментацией, среди которых можно выделить следующие:

- 1) сохранение нативности белкового комплекса семян, повышение питательности, усвояемости, прирост витаминов и биологически активных веществ, отсутствие нежелательных побочных продуктов гидролиза неизбежных в искусственных условиях;
- 2) возможность регулирования скорости процесса и степени гидролиза и, тем самым, функциональных свойств, биологической ценности получаемых продуктов;
- 3) не токсичность технологических процессов, экологическая безопасность;
- 4) отсутствие затрат на сложную аппаратуру и реактивы.

Выявление изменения фазового состояния семян, скорости протекания и глубины метаболических процессов важно для решения технологических задач. При проращивании для пищевых целей необходимо найти компромисс между функционализацией компонентов, прежде всего белков, и сохранением запасных питательных веществ.

Известно, что партии прорастающих семян характеризуются разнокачественностью отдельных экземпляров, находящихся на разных стадиях физиологического процесса, что проявляется особенно на более поздних стадиях инкубации – семена набухшие, наклюнувшиеся, ростки разных размеров. Правомерно полагать, что, поскольку они различаются по биопотенциалу, следовательно, разнокачественные и по технофункциональным свойствам белкового комплекса.

Целью исследований было: по изменению полипептидного состава оценить качественное состояние белкового комплекса семян сои в разных физиологических фазах, выявить период активизации глобулинов.

В наших исследованиях анализировались ранние фазы прорастания, когда запасные белки ещё не подвергаются глубокому распаду, а лишь становятся физиологически активными, и претерпевают конформационные изменения, подготавливаются к клеточному обмену [1-3].

Исследования проводились на семенах сои сорта Свапа, выращенных во ВНИИЗБК в 2013 году. Семена замачивались в течение 6-8 часов при температуре $20\pm 2^\circ\text{C}$, инкубировались при температуре $12\pm 2^\circ\text{C}$.

Методика постановки опыта заключалась в следующем: на разных сроках набухания и инкубации (12, 24, 36, 48, 60 часов) отбирали семена – набухшие; наклюнувшиеся до 1 мм; с ростками ≤ 1 см.

Таким образом, сортируя их по физиологическому состоянию, охватывали все обозначенные стадии прорастания. Процесс останавливали после 60 часов инкубации, т.к. на поздних стадиях семена с ростками более 1 см переходили в фазу формирования растения. Методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле отслеживали глубину деструкции белкового комплекса.

Электрофорез запасных белков семян используется в международной и российской практике для определения сортовой принадлежности и сортовой чистоты семян. Нами применена методика, разработанная специалистами ВИР им. Н.И. Вавилова под руководством академика Конарева В.Г. [4]. В данной работе анализ электрофоретического разделения зон белков, прорастающих семян сои в различные физиологические фазы позволяет оценить изменчивость их полипептидного состава и определить моменты запуска процессов прорастания и, что особенно важно, временные параметры функционализации глобулинов. Вместе с тем электрофорез определённо указывает на состояние полипептидного комплекса, но не позволяет оценить субъединичный состав, т.к. он применяется после расчленения макромолекул с помощью соответствующих детергентов или редуцирующих агентов, ослабляющих водородные и гидрофобные взаимодействия между субъединицами и разрывающих ковалентные дисульфидные связи между полипептидами в субъединицах.

Полученные нами ранее данные об изменении биохимических показателей вытяжек из прорастающих семян, позволили предположить, что метаболические процессы в клетках приводят к изменению солевого состава и ионизации раствора ещё на этапе набухания, начиная от 12 ч с момента соприкосновения с водой [5]. Анализируя теоретические источники приходим к выводу, что у семян сои в ранних фазах до гидролиза запасных белков изменение показателей может быть результатом диссоциации агрегированной формы глицинина на промежуточные формы и далее на субъединицы [3]. Гель-электрофорез белкового комплекса прорастающих семян сои приведен на рисунке 1.

Как показал анализ, суммарный электрофоретический спектр белкового комплекса сои в состоянии физиологического покоя имеет гетерогенный полипептидный состав и содержит 17 главных и минорных компонентов, условно разделённых нами на 10 зон. По ММ выделены три основные группы пептидов с ММ 20-25, 40-45 и 65 КДа, в диапазоне которых расположены глобулины.

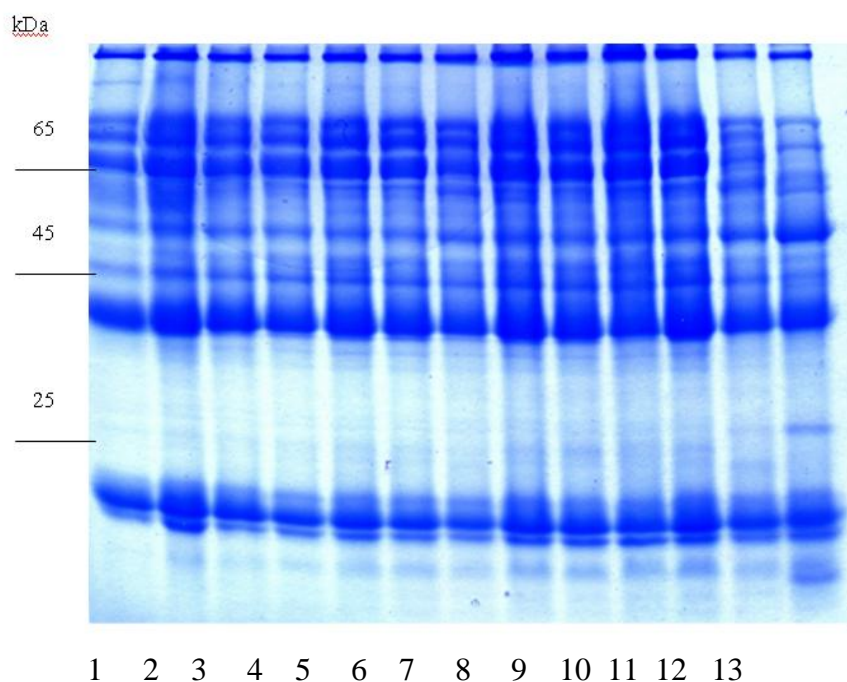


Рис. 1. Полипептидный состав белкового комплекса семян сои в разных физиологических фазах:

1 – сухие; 2 – набухшие (12 ч); 3 – набухшие (24 ч); 4 – проклюнувшиеся (24 ч);
5 – набухшие (36 ч); 6 – проклюнувшиеся (36 ч); 7 – ростки (36 ч); 8 – набухшие (48 ч);
9 – проклюнувшиеся (48 ч); 10 – ростки (48 ч); 11 – набухшие (60 ч);
12 – проклюнувшиеся (60 ч); 13 – ростки (60 ч)

Анализируя общую картину электрофоретических профилей разных фазовых состояний можно выделить следующие моменты:

- изменения в пептидном составе наблюдаются, начиная от 12 ч в стадии набухания;
- по всему спектру выявлены: признаки гидролиза - по исчезновению пептидных зон, и синтеза - появление новых полипептидов, наиболее выраженные в состоянии прорастания и роста;
- заметно нарастание синтетических процессов по увеличению количества зон при переходе от покоя к набуханию и далее прорастанию от 17 до 26;
- наибольшие изменения наблюдаются в зонах тяжёлых и лёгких альбуминов, вицилинов и кислых легуминов (позиции с 6 по 21 и с 43 по 70); в зоне основных легуминов уже на стадии набухания разных сроков инкубации появляются устойчивые полипептиды (74, 77, 83);
- не подвергаются гидролизу и сохраняются во всех фазах позиции 1, 25 и 38; практически во всех фазах сохраняются пептиды в тяжёлой зоне 13, 16, 21, 28;
- наиболее устойчивы пептиды, появляющиеся со второй фазы в позициях 50, 74, 77 (кислые и основные легумины); довольно устойчивы позиции 2, 3, 16, 31, 50, 53, 74, 77, 83.

Таким образом, мы можем констатировать, что процессы прорастания, независимо от времени инкубации семян сои приводят к гидролизу-синтезу запасных глобулинов в физиологической фазе набухания и прорастания. Состояние пептидов на стадии набухания (12, 24 ч) претерпевает незначительные изменения, в основном, в альбуминовой зоне и, по видимому, имеет место только диссоциация субъединиц, возможно появление конформационных изме-

ров субъединиц, которые могут появляться под действием диссоциирующих агентов и отличаться по своей электрофоретической подвижности [5].

В стадии поздних сроков инкубации 48 и 60 ч у набухших семян нами отмечены изменения не только в альбуминовой зоне, но и в зонах глобулинов, свидетельствующие о запуске прорастания, тогда как внешние признаки появления ростка отсутствовали. Запаздывание развития фаз связано с различием в генетическом потенциале отдельных организмов в популяции.

Таким образом, с помощью электрофореза белков прорастающих семян сои имеется возможность выявить смену физиологических фаз без проявления внешних признаков прорастания, а перестройки в белковом комплексе и, особенно, в глобулиновых зонах свидетельствуют о возможности изменения функционально-технологических свойств уже на стадиях набухания.

На основании полученных результатов можно заключить, что на ранних фазах набухания и прорастания имеют место, как конформационные изменения белкового комплекса в целом, связанные с активизацией предсуществующих ферментов и распадом надмолекулярных структур, так и более глубокие - гидролиз запасных белков и синтез новых. Результаты исследований в дальнейшем применены при разработке технологии соевой основы, с повышенным содержанием биологически активных веществ.

Литература

1. Вайнтрауб А.П., Шутов А.Д. Молекулярный вес субъединиц 11S - белка семян сои // Биохимия. 1971. – Т. 36. – Вып. 5. – С. 1986 – 1988.
2. Вайнтрауб И.А., Белозерский М.А., Гумилевская Н.А. и др. Растительные белки и их биосинтез / М.: Наука, 1978. – 289 с.
3. Вайнтрауб И.А. Четвертичная структура запасных белков семян бобовых / В книге «Растительные белки и их биосинтез». М.: Наука, 1978. – С.142-151.
4. Конарев В.Г. Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений / СПб.: ВИР, – 1998. – 130 с.
5. Самофалова Л.А. Биоактивация белкового комплекса двудольных семян при прорастании и перспективы использования в технологии растительных аналогов молока // Хранение и переработка с/х сырья. – 2008. – №11. – С. 16-18.

TESTING OF PHYSIOLOGICAL STATE OF SPROUTING SEEDS OF SOYA BY CHANGE OF ALBUMINOUS COMPLEX

L.A. Samofalova, O.V. Safronova

FGBOU VPO «STATE UNIVERSITY – UNPK»

Abstract: Dynamics of polypeptide structure of seeds of soy in stages of swelling and early germination is investigated. Physiological phases of a funktionalization of globulins are revealed.

Keywords: germination, peptide structure, electrophoresis method, bioactivation of globulins.